

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA
INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

Marlon Akio da Silva Issobe

**REVISÃO SISTEMÁTICA DA ACURÁCIA DOS TESTES RÁPIDOS EMPREGADOS
NO DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO POR DENGUE ATRAVÉS DA DETECÇÃO DE
NS1, IgM/IgG**

Rio de Janeiro

2019

Marlon Akio da Silva Issobe

**REVISÃO SISTEMÁTICA DA ACURÁCIA DOS TESTES RÁPIDOS EMPREGADOS
NO DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO POR DENGUE ATRAVÉS DA DETECÇÃO DE
NS1, IgM/IgG**

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado Acadêmico do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientadora: Dra. Helena Pereira da Silva Zamith

Rio de Janeiro

2019

Catálogo na Fonte

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Biblioteca

Issobe, Marlon Akio da Silva

Revisão sistemática da acurácia dos testes rápidos empregados no diagnóstico da infecção por dengue através da detecção de NS1, IgM/IgG. / Marlon Akio da Silva Issobe. - Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2019. 161 f. : il. ; fig. ; graf.

Dissertação (Mestrado Acadêmico em Vigilância Sanitária) – Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2019.

Orientador: Helena Pereira da Silva Zamith.

1. Teste rápido. 2. Dengue. 3. Acurácia diagnóstica. 4. Sensibilidade. 5. Especificidade. I. Título.

Systematic review of rapid tests accuracy used for diagnosing dengue infection through the detection of NS1, IgM/IgG.

Marlon Akio da Silva Issobe

**REVISÃO SISTEMÁTICA DA ACURÁCIA DOS TESTES RÁPIDOS EMPREGADOS
NO DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO POR DENGUE ATRAVÉS DA DETECÇÃO DE
NS1, IgM/IgG**

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado Acadêmico do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Aprovado em ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Antonio Eugenio Castro Cardoso Almeida (Doutor)
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Maria Helena Wohlers Morelli Cardoso (Doutora)
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Maritse Gerth Silveira (Doutora)
Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ORIENTADOR (A)

Helena Pereira da Silva Zamith (Doutora) - Orientadora
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Dedico este trabalho a toda minha família, pelo imenso amor, carinho, apoio, suporte, compreensão e torcida, durante toda minha trajetória até aqui.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as bênçãos proporcionadas, por sempre guiar meus passos e pela proteção em todos os dias de minha vida.

Aos meus pais, Takeshi e Edith, pelo amor, carinho, dedicação, base e valores que sempre me deram e por todos os sacrifícios e esforços feitos, mesmo diante de todas as dificuldades enfrentadas em suas vidas, para que eu pudesse realizar meus sonhos e atingir meus objetivos.

À minha irmã Michele, por todo amor, amizade, apoio e por sempre estar ao meu lado e presente em todos os momentos da minha vida. Te amo irmã!

À minha orientadora, Dr^a. Helena P. S. Zamith, por sua gentileza em ter aceitado esta orientação, por estar sempre disponível, por toda dedicação e ajuda na realização desta dissertação e por todo conhecimento compartilhado durante estes dois anos. Minha eterna e imensa gratidão.

À Dra. Marisa Coelho Adati, Chefe do Laboratório de Sangue e Hemoderivados (LSH/INCQS), por mais uma vez ter me aceitado e acolhido após os dois anos que passei pela residência, dando mais uma oportunidade de crescer acadêmica e profissionalmente. Obrigado pelo incentivo, pelas broncas e puxões de orelha que sempre servem de estímulo para seguir adiante. Obrigado também a todos os profissionais e residentes do LSH, cada um à sua maneira contribuíram de alguma forma para meu crescimento profissional e pessoal.

À querida amiga Nathalia Machado, pelo incentivo para realização do processo seletivo do mestrado, pelo companheirismo durante toda esta árdua jornada e pelo apoio nos momentos difíceis. E as novas amigas feitas, Gabriella e Yasmin, pela parceria, por todos os momentos engraçados, e por deixaram os dias mais leves e divertidos. Obrigado meninas!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Uma grande jornada começa com o primeiro passo.

Lao-Tsé

Eu não sou quem eu gostaria de ser; eu não sou quem eu poderia ser, ainda, eu não sou quem eu deveria ser. Mas graças a Deus eu não sou mais quem eu era.

Martin Luther King

RESUMO

A dengue é uma infecção sistêmica aguda, causada por um dos quatro sorotipos do vírus da dengue (DENV-1, 2, 3 e 4). Testes diagnósticos precisos, eficientes, sensíveis e específicos, e de baixo custo são necessários para auxiliar no controle da doença. O objetivo deste estudo foi realizar uma revisão sistemática (RS) e metanálise referente à acurácia (sensibilidade e especificidade) dos testes rápidos (TRs) comerciais empregados no diagnóstico laboratorial da dengue através da detecção de NS1, IgM/IgG. Estudos foram extraídos das bases de dados *Cochrane Library*, *MEDLINE/PubMed*, *LILACS*, *SCOPUS*, *ISI Web of Science*, e selecionados a partir de critérios definidos de inclusão e exclusão. A ferramenta QUADAS-2 foi utilizada para avaliação da qualidade metodológica dos estudos. Valores de sensibilidade e especificidade foram calculados a partir de tabelas de contingência 2x2. Resultados individuais de cada estudo foram agrupados para gerar estimativas globais de sensibilidade e especificidade por TR, expressas como valores médios com seus intervalos de confiança de 95%, e apresentados sob a forma de gráficos floresta. Os modelos de efeitos fixos Mantel e Haenszel e de efeitos aleatórios DerSimonian e Laird foram empregados, respectivamente, na ausência e presença de heterogeneidade significativa, para calcular os resultados agrupados de sensibilidade e especificidade dos TRs. As buscas identificaram 1.357 artigos, que após aplicação dos critérios de elegibilidade foram reduzidos a 20, nos quais foram avaliados 4 TRs para detecção de IgM, 9 TRs para detecção de NS1 e nenhum estudo de TR para detecção de IgG. Apenas 2 estudos cumpriram todos os critérios do QUADAS-2. O domínio fluxo e tempo foi o que apresentou maior proporção de risco de viés alto (20%), seguido da seleção dos pacientes (15%) e padrão de referência (5%). Nesta RS, os TRs para NS1 apresentaram: sensibilidade média de 79%, com valores variando de 61 a 94% e especificidade média de 94%, variando de 67 a 100%. Os TRs para IgM apresentaram sensibilidade média de 70%, variando de 43 a 94% e especificidade média de 90%, variando de 76% a 100%. Valores de sensibilidade estavam abaixo do declarado pelo fabricante para 78% dos TRs para NS1 e para 75% dos TRs para IgM. Uma proporção menor de 11% dos TRs para NS1 e igualmente de 75% dos TRs para IgM apresentaram valores de especificidade abaixo do declarado pelo fabricante. Valores de sensibilidade dos TRs para detecção de NS1 e IgM foram inferiores e mais discordantes do que os valores de especificidade quando comparados aos mesmos dados declarados pelo fabricante do produto.

Palavras-chave: Teste rápido. Dengue. Acurácia diagnóstica. Sensibilidade. Especificidade.

ABSTRACT

Dengue is an acute systemic infection caused by one of the four serotypes of dengue virus (DENV-1, 2, 3 and 4). Accurate, efficient, sensitive, specific, and low cost diagnostic tests are needed to assist in disease control. The objective of this study was to perform a systematic review (SR) and meta-analysis regarding the accuracy (sensitivity and specificity) of commercial rapid tests (RTs) used in the laboratory diagnosis of dengue through the detection of NS1, IgM/IgG. Studies were extracted from the Cochrane Library, MEDLINE/PubMed, LILACS, SCOPUS, ISI Web of Science databases, and selected from predefined criteria of inclusion and exclusion. The QUADAS-2 tool was used for the evaluation of methodological quality of the studies. Sensitivity and specificity values were calculated from 2x2 contingency tables. Individual results from each study were pooled to generate global estimates of sensitivity and specificity for RT, expressed as mean values with 95% confidence interval, and presented as forest plots. The Mantel and Haenszel fixed effects model and DerSimonian and Laird random effects model were used, respectively, without or with significant heterogeneity, to calculate the pooled results of sensitivity and specificity of RT. The research identified 1,357 articles, which after application of the eligibility criteria were reduced to 20 studies, in which 4 RTs for IgM detection, 9 RTs for NS1 detection and no study of RT for IgG detection were evaluated. Only two studies met all the QUADAS-2 criteria, and other studies presented at least one criteria as "uncertain". Flow and time domain had the highest proportion of high bias risk (20%), followed by the patient selection domain (15%) and the reference standard (5%). In this SR, NS1 RTs presented: mean sensitivity of 79%, with values ranging from 61 to 94% and mean specificity of 94% ranging from 67 to 100%. IgM RTs presented mean sensitivity of 70%, ranging from 43 to 94% and mean specificity of 90% ranging from 76% to 100%. Sensitivity values were lower than 78%, which was declared by the manufacturer of NS1 RTs and for 75% of IgM RTs. Less than 11% of NS1 RTs and also 75% of IgM RTs had specificity values lower than the one declared by the manufacturer. Sensitivity values of RTs for NS1 and IgM detection were lower and more discordant than the specificity values of those declared by manufacturers of the diagnostic *in vitro* tests.

Keywords: Rapid test. Dengue. Diagnostic accuracy. Sensitivity. Specificity.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Diagrama do processo de revisão sistemática.....	20
Figura 2	Evolução da distribuição do <i>Aedes aegypti</i> nas Américas durante a década de 30 e nos anos de 1970 e 2001.....	30
Figura 3	Potencial de risco global quanto à transmissão do vírus da dengue.....	32
Figura 4	Número de casos de dengue nas Américas, Sudeste Asiático e Pacífico Ocidental notificados à Organização Mundial da Saúde no período de 1990 a 2015.....	34
Figura 5	Distribuição mundial do número médio de casos de dengue suspeitos ou confirmados relatados à Organização Mundial de Saúde no período de 2010 a 2016.....	36
Gráfico 1	Casos de dengue no Brasil (1990 a 2018).....	38
Gráfico 2	Óbitos por dengue no Brasil (1990 a 2018).....	39
Figura 6	Representação do ciclo do vírus da dengue em humanos e mosquitos.....	42
Figura 7	Estrutura, organização e expressão do genoma do vírus da dengue.....	44
Figura 8	Fases do curso clínico da dengue: fases febril, crítica e de recuperação com os parâmetros clínicos e sorológicos associados.....	46
Figura 9	Critérios para classificação da dengue (com e sem sinais de alerta) e dengue grave.....	49
Figura 10	Méritos comparativos de métodos laboratoriais diretos e indiretos para o diagnóstico de infecções por dengue.....	54
Figura 11	Perfis e cinética do aparecimento do antígeno (NS1) e anticorpos (IgM e IgG) em infecções primárias e secundárias por DENV.....	55
Figura 12	Configuração típica de uma tira de teste rápido imunocromatográfico de fluxo lateral.....	61
Figura 13	Representação esquemática de testes rápidos imunocromatográficos para detecção de anticorpos e antígenos da dengue.....	63
Figura 14	Combinação binária entre os prováveis resultados obtidos em um determinado teste e o diagnóstico verdadeiro da doença.....	65
Figura 15	Fluxograma das etapas realizadas durante a RS.....	86

Gráfico 3	Resultado da avaliação da qualidade (QUADAS-2) de estudos selecionados na revisão sistemática da acurácia de testes rápidos para diagnóstico da dengue.....	94
Figura 16	Sensibilidade e especificidade diagnóstica de testes rápidos para detecção de IgM contra o vírus da dengue e respectiva representação em forma de gráficos floresta.....	97
Figura 17	Curva receptor operador (ROC) de valores de sensibilidade e especificidade de estudos individuais por teste rápido imunocromatográfico analisado para detecção de IgM contra o vírus da dengue.....	98
Figura 18	Valores de sensibilidade e especificidade individuais e agrupados do teste rápido imunocromatográfico SD Bioline Dengue Duo NS1 and IgG/IgM.....	102
Figura 19	Sensibilidade, especificidade diagnóstica de testes rápidos (TRs) para detecção de NS1 do vírus da dengue e respectiva representação em forma de gráficos floresta.....	105
Figura 20	Curva receptor operador (ROC) de valores de sensibilidade e especificidade de estudos individuais por teste rápido imunocromatográfico analisado para detecção do antígeno NSI do vírus da dengue.....	106
Figura 21	Valores de sensibilidade e especificidade individuais e agrupados do teste rápido imunocromatográfico Dengue Day 1 Test.....	110
Figura 22	Valores de sensibilidade e especificidade individuais e agrupados do teste rápido imunocromatográfico Dengue Eden Test Bioeasy.....	113
Figura 23	Valores de sensibilidade e especificidade individuais e agrupados do teste rápido imunocromatográfico SD Bioline Dengue NS1 Ag.....	115
Figura 24	Valores de sensibilidade e especificidade individuais e agrupados do teste rápido imunocromatográfico SD Bioline Dengue Duo NS1 and IgG/IgM.....	117
Figura 25	Valores de sensibilidade e especificidade individuais e agrupados do teste rápido imunocromatográfico Dengue NS1 Ag STRIP.....	119

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1	Passos para uma revisão sistemática e metanálise.....	25
Quadro 2	Classificação dos produtos de diagnóstico de uso <i>in vitro</i> , segundo RDC nº 36/2015.....	72
Tabela 1	Resultados das buscas eletrônicas nas diferentes bases de dados. Período de 2000 a junho de 2018.....	85
Tabela 2	Revisão sistemática da sensibilidade (sen.) e especificidade (esp.) de testes rápidos (TRs) para diagnóstico da dengue através da detecção de NS1, IgM e IgG: relação dos estudos excluídos quanto à elegibilidade com as causas que ocasionaram a exclusão (n=81).....	87
Tabela 3	Características dos estudos incluídos na revisão sistemática da acurácia de testes rápidos (TRs) para diagnóstico da dengue através da detecção de NS1, IgM e IgG.....	90
Tabela 4	Características dos estudos que avaliaram testes rápidos (TRs) para detecção do antígeno NS1 na revisão sistemática da acurácia de TRs para diagnóstico da dengue.....	92
Tabela 5	Características dos estudos que avaliaram testes rápidos (TRs) para detecção do anticorpo IgM na revisão sistemática da acurácia de TRs para diagnóstico da dengue.....	93
Tabela 6	Resultados da aplicação dos critérios QUADAS-2 por estudo selecionado na revisão sistemática da acurácia de testes rápidos para diagnóstico da dengue.....	95

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ac	Anticorpo
Ag	Antígeno
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
art.	Artigo
BPF	Boas Práticas de Fabricação
C	Proteína do capsídeo ou core
cDNA	Ácido desoxirribonucleico complementar
CYD-TDV	Dengvaxia® – vacina tetravalente de dengue
d.C.	Depois de Cristo
DENV	Vírus da dengue (<i>Dengue virus</i>)
DNA	Ácido desoxirribonucleico
E	Proteínas do envelope
ELISA	Ensaio imunoenzimático (<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>)
EUA	Estados Unidos da América
FHD	Febre hemorrágica da dengue
FN	Falso Negativo
FP	Falso Positivo
gl	Graus de liberdade
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana (<i>Human Immunodeficiency Virus</i>)
HTLV	Vírus Linfotrópico de Células T Humanas (<i>Human T Lymphotropic Virus</i>)
ID	Identificação
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IH	Inibição da hemaglutinação
INCQS	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
LILACS	Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde
M	Proteína de membrana
MAC-ELISA	Ensaio imunoenzimático de captura de anticorpos IgM (<i>IgM antibody-capture enzyme-linked immunosorbent assay</i>)
mg	Miligrama
mL	Mililitro

NAAT	Teste de amplificação de ácidos nucleicos
NASBA	Amplificação baseada na sequência de ácidos nucleicos (<i>Nucleic Acid Sequence Based Amplification</i>)
ng	Nanograma
nm	Nanômetro
n°	Número
NS	Proteína não estrutural
°C	Grau Celsius
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde
PCR	Reação em cadeia da polimerase (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)
PRISMA	Principais Itens para Relatar Revisões sistemáticas e Metanálises (<i>Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analysis</i>)
prM	Proteína pré-membrana
QUADAS	Avaliação da Qualidade de Estudos de Precisão Diagnóstica (<i>Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies</i>)
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
Rh	<i>Rhesus</i>
RNA	Ácido ribonucleico
ROC	Características de Operação do Receptor (<i>Receiver Operating Characteristic</i>)
RS	Revisão Sistemática
RT-PCR	Reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa (<i>Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction</i>)
SCD	Síndrome do Choque da Dengue
TR	Teste Rápido
US\$	Dólar americano
VISA	Vigilância Sanitária
VN	Verdadeiro Negativo
VP	Verdadeiro Positivo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
1.1	Revisão sistemática	18
1.1.1	Revisões sistemáticas de estudos de acurácia diagnóstica.....	23
1.2	Histórico da dengue	28
1.3	Epidemiologia e a carga global da dengue	31
1.3.1	Dengue no Brasil.....	36
1.4	Vetor e ciclo de transmissão da dengue	40
1.5	O vírus da dengue	43
1.6	Manifestações clínicas da infecção pelo vírus da dengue	45
1.7	Gestão, controle e prevenção da dengue	49
1.8	Diagnóstico laboratorial da dengue	52
1.8.1	Isolamento viral.....	55
1.8.2	Detecção do genoma viral.....	56
1.8.3	Detecção de antígenos.....	57
1.8.4	Ensaio sorológicos baseados na detecção de anticorpos IgM e IgG.....	58
1.9	Testes rápidos imunocromatográficos	60
1.10	Sensibilidade e especificidade diagnóstica	64
1.11	Vigilância sanitária	67
1.11.1	A vigilância sanitária de produtos no Brasil.....	69
1.11.2	Registro, análise e desempenho dos produtos para diagnóstico de uso <i>in vitro</i>	71
1.11.3	Análise Prévia no INCQS.....	74
1.12	Justificativa	75
2	OBJETIVOS	77
2.1	Objetivo geral	77
2.2	Objetivos específicos	77
3	METODOLOGIA	78

3.1	Registro da revisão sistemática.....	78
3.2	Estratégia de pesquisa.....	79
3.3	Elegibilidade e seleção dos estudos.....	80
3.4	Extração dos dados.....	81
3.5	Avaliação da qualidade dos estudos.....	82
3.6	Análise estatística e síntese dos resultados.....	83
3.7	Comparação com sensibilidade e especificidade declaradas.....	84
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	85
4.1	Resultados da estratégia de busca.....	85
4.2	Características dos estudos incluídos.....	89
4.3	Avaliação da qualidade dos estudos.....	94
4.4	Síntese e sumarização dos estudos que avaliaram testes rápidos para detecção de anticorpos IgM.....	97
4.4.1	Dengue Day 1 test (J Mitra and Co.)	99
4.4.2	SD Dengue IgG/IgM (Standard Diagnostics)	99
4.4.3	Dengue Duo cassette IgM/IgG (Panbio Diagnostics)	100
4.4.4	SD Bioline Dengue Duo NS1 and IgG/IgM (Standard Diagnostic Inc.).....	101
4.5	Síntese e sumarização dos estudos que avaliaram testes rápidos para detecção do antígeno NS1.....	103
4.5.1	OneStep Dengue NS1 RapiDip™ InstaTest (Diagnostic Automation Cortez Diagnostics, Inc.)	106
4.5.2	ProDetect Dengue Duo NS1 Ag IgG/IgM Rapid Test (Mediven).....	107
4.5.3	Dengue NS1 Antigen Card Test (Bhat Bio-Scan).....	108
4.5.4	PANBIO® Dengue Early Rapid (Inverness Medical).....	108
4.5.5	Dengue Day 1 Test (J Mitra and Co.).....	109
4.5.6	Dengue Eden Test Bioeasy (Standard Diagnostic Inc.).....	111
4.5.7	SD Bioline Dengue NS1 Ag (Standard Diagnostic Inc.).....	113
4.5.8	SD Bioline Dengue Duo NS1 and IgG/IgM (Standard Diagnostic Inc.).....	115
4.5.9	Dengue NS1 Ag STRIP (Bio-Rad).....	118

4.6	Limitações.....	120
5	CONCLUSÕES.....	122
6	PERSPECTIVAS.....	124
	REFERÊNCIAS.....	125
	APÊNDICE A – ESTRATÉGIAS DE BUSCAS UTILIZADAS EM CADA BASE DE DADOS.....	141
	APÊNDICE B – FORMULÁRIO PARA EXTRAÇÃO DE DADOS.....	142
	APÊNDICE C – FORMULÁRIO PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE	148
	APÊNDICE D – LISTA DE REFERÊNCIAS DOS ESTUDOS EXCLUÍDOS.....	151
	APÊNDICE E – LISTA DE REFERÊNCIAS DOS ESTUDOS INCLUÍDOS.....	156
	ANEXO A – ITENS DO <i>CHECKLIST</i> PRISMA-DTA A SEREM INCLUÍDOS NO RELATO DA REVISÃO SISTEMÁTICA OU METANÁLISE.....	157
	ANEXO B – PROTOCOLO PROSPERO.....	158

1 INTRODUÇÃO

A dengue é atualmente uma das principais doenças negligenciadas do mundo (GUZMÁN et al., 2016). É uma infecção sistêmica aguda, causada pelo vírus da dengue (DENV), e provoca um amplo espectro de manifestações clínicas, transmitida entre seres humanos por mosquitos do gênero *Aedes*, sendo o principal vetor o *Aedes aegypti* (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009; LAMBRECHTS et al., 2012).

A dengue evoluiu de uma doença esporádica para um importante problema de saúde pública global, com substancial efeito social e econômico – as epidemias de dengue impõem altos custos aos indivíduos, aos serviços de saúde e aos sistemas econômicos dos países afetados – devido ao aumento da extensão geográfica, o crescente número de casos e à gravidade da doença (GUZMÁN; HARRIS, 2015; GUZMÁN et al., 2016).

É sem dúvida a mais importante e mais comum doença viral transmitida por mosquito e que se espalha mais rapidamente no mundo; nos últimos 50 anos sua incidência aumentou 30 vezes (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009.). Entre 50 a 100 milhões de infecções são estimadas ocorrer anualmente em pelo menos 128 países, das regiões tropicais e subtropicais, colocando quase metade da população do mundo em risco (BRADY et al., 2012).

A dengue é causada por uma infecção com um dos quatro sorotipos do DENV (DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4), antigenicamente distintos, mas estreitamente relacionados. A infecção com um sorotipo de DENV leva à imunidade protetora homóloga, e a infecção subsequente com um sorotipo diferente é um importante fator de risco para doença grave. Os resultados da infecção por qualquer um dos sorotipos do DENV variam de infecções assintomáticas ou subclínicas a sintomáticas, com sintomas que incluem febre, dor de cabeça, artralgia, mialgia, dor retro-orbital, erupção cutânea, sangramento, trombocitopenia ou leucopenia, podendo levar a morte (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009).

Até o momento, não há terapia antiviral específica para a dengue, o tratamento é limitado aos cuidados de suporte e o principal meio de prevenção é através da vigilância e do controle vetorial. Outra estratégia disponível recentemente para a prevenção é a vacina contra a dengue, com segurança e eficácia comprovadas para indivíduos entre 9-45 anos. O diagnóstico precoce e o manejo adequado da dengue previnem fatalidades, considerando a ocorrência de milhões de casos e milhares de mortes por ano (GUZMÁN; KOURI, 2004; GUZMÁN et al., 2010; 2016). Portanto, ferramentas de diagnóstico que sejam precisas,

eficientes, sensíveis e específicas, e de baixo custo são necessárias urgentemente para auxiliar no controle da doença (PEELING et al., 2010).

Encontrar boas evidências quanto ao desempenho dos testes diagnósticos e interpretar seu valor para a prática é um grande desafio. A maioria dos estudos de diagnóstico centra-se na precisão do teste diagnóstico, que expressa a habilidade de um teste de discriminar entre pessoas com a doença (ou condição alvo) e aquelas sem ela. No entanto, as estimativas de exatidão do teste geralmente variam acentuadamente entre os estudos. Essa heterogeneidade pode refletir diferenças entre estudos no critério utilizado para definir a positividade do teste, no *design* do estudo e as características do paciente, bem como o local de realização do teste diagnóstico (LEEFLANG et al., 2013).

Revisões sistemáticas (RS's) da acurácia de testes de diagnóstico resumem a evidência sobre a precisão de um teste com uma generalização maior do que as estimativas de um único estudo e podem ser usadas para obter estimativas mais precisas quando pequenos estudos abordando o mesmo teste diagnóstico e pacientes na mesma configuração estão disponíveis. Idealmente, RS's também investigam por que os resultados podem variar entre os estudos, identificam o risco de viés que podem estar presentes nos estudos originais, comparam o desempenho de testes alternativos e ajudam o leitor a colocar as evidências em um contexto clínico (LEEFLANG et al., 2008, 2013).

1.1 Revisão sistemática

A RS, assim como outros tipos de estudos de revisão, é uma forma de pesquisa e constitui um método moderno para a avaliação de um conjunto de dados simultâneos sobre determinado tema. É um estudo retrospectivo secundário, que tem por objetivo reunir estudos primários, publicados ou não, avaliando-os criticamente em sua metodologia, dessa forma, uma RS depende da qualidade da fonte primária (ATALLAH; CASTRO, 1998; MULROW, 1994; SAMPAIO; MANCINI, 2007). Os estudos primários (unidades de análise) podem ser ensaios clínicos aleatórios, estudos de acurácia, estudos de coortes ou qualquer outro tipo de estudo, sendo a sua escolha dependente da pergunta que se pretende responder (GONÇALVES; NASCIMENTO; NASCIMENTO, 2015). É considerada na atualidade o melhor meio de representação e o padrão de referência para a síntese de evidências científicas sendo o estudo mais alto na hierarquia da pesquisa baseada em evidência ao sintetizar estudos primários semelhantes e de boa qualidade (EVANS, 2003; MOHER et al., 2015). A Colaboração *Cochrane*, iniciativa internacional do Reino Unido que desde 1992 prepara,

mantém e dissemina RS's, define uma RS como “uma revisão das evidências sobre uma questão claramente formulada que usa métodos sistemáticos e explícitos para identificar, selecionar e avaliar criticamente pesquisas primárias relevantes, extrair e analisar dados dos estudos incluídos na revisão” (ATALLAH; CASTRO, 1998; HIGGINS; GREEN, 2008).

Uma RS é uma estratégia científica rigorosa, abrangente, imparcial e reproduzível, que utiliza uma metodologia padrão para tentar encontrar, reunir, avaliar e interpretar todas as evidências empíricas relevantes disponíveis que se enquadram nos critérios de elegibilidade pré-especificados conforme descrito em um protocolo associado, para responder a uma pergunta de pesquisa específica de forma precisa e confiável. É proposta para identificar os estudos sobre um tema em questão, aplicando métodos explícitos e sistemáticos de busca que são selecionados com o objetivo de minimizar o viés (erro sistemático ou desvio da verdade, seja nos resultados ou em suas inferências), fornecendo resultados mais confiáveis a partir dos quais as conclusões podem ser elaboradas e as decisões tomadas. As RS's também nos permitem determinar se os resultados são consistentes e podem ser generalizados em diferentes situações (BRASIL, 2012, 2014; DE-LA-TORRE-UGARTE-GUANILO; TAKAHASHI; BERTOLOZZI, 2011; HIGGINS; GREEN, 2011; LEEFLANG, 2014; LIBERATI et al., 2009; MOHER et al., 2015; REITSMA et al., 2009).

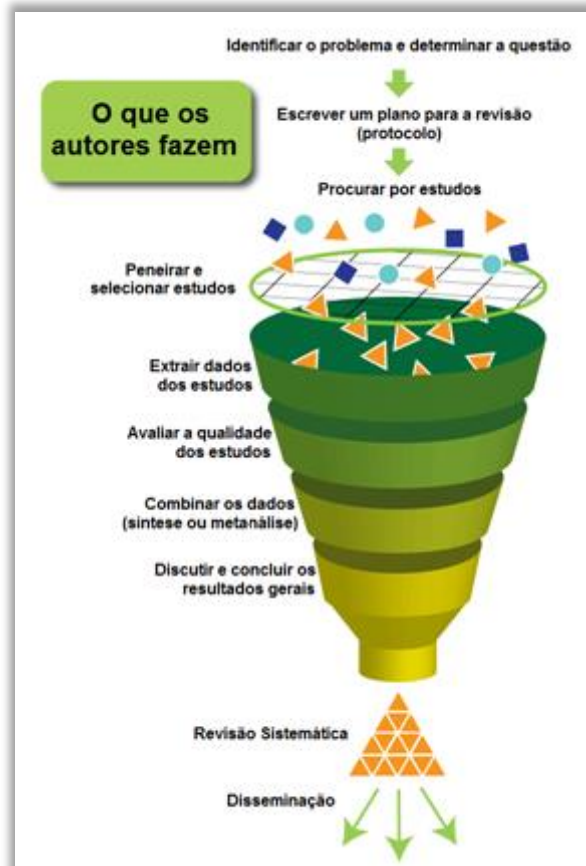
Entre as vantagens das RS's, temos as seguintes: **(i)** aumentam a precisão dos resultados, estreitando os intervalos de confiança; **(ii)** podem antecipar em anos ou até décadas os resultados de grandes estudos, muitas vezes dispendiosos e demorados; **(iii)** evitam a duplicação desnecessária de esforços; **(iv)** previnem controvérsias na literatura; **(v)** economizam recursos em pesquisas; **(vi)** definem áreas em que mais estudos são necessários; **(vii)** auxiliam decisões para políticas de saúde (IARED; VALENTE, 2009).

As principais características de uma RS são:

- a) Um conjunto claramente definido de objetivos com critérios de elegibilidade pré-definidos para estudos;
- b) Uma metodologia explícita e reproduzível;
- c) Uma pesquisa sistemática que tenta identificar todos os estudos que atendam aos critérios de elegibilidade;
- d) Uma avaliação da validade dos resultados dos estudos incluídos, por exemplo através da avaliação do risco de viés; e
- e) Uma apresentação sistemática e síntese, das características e achados dos estudos incluídos (HIGGINS; GREEN, 2011).

A Figura 1 ilustra todas as etapas que os autores de revisões realizam no processo de elaboração de uma RS.

Figura 1 – Diagrama do processo de revisão sistemática



Fonte: (Adaptado de CENTRE FOR HEALTH COMMUNICATION AND PARTICIPATION, 2012).

A preparação de um protocolo é um componente essencial do processo de RS; assegura que uma RS seja cuidadosamente planejada e que o planejado seja explicitamente documentado antes da revisão, promovendo a conduta consistente pela equipe de revisão (composta por pelo menos dois pesquisadores), a responsabilidade, a integridade da pesquisa e a transparência da eventual revisão completa. Um protocolo também pode reduzir a arbitrariedade na tomada de decisões ao extrair e usar dados da pesquisa primária, uma vez que o planejamento oferece uma oportunidade para a equipe de revisão antecipar problemas potenciais e evitar vieses de análise na RS, uma vez que os métodos de seleção e análise dos dados são estabelecidos antes de a revisão ser conduzida no protocolo, num processo rigoroso e bem definido (MOHER et al., 2015). Os componentes do protocolo são: a pergunta da revisão, as estratégias para a busca das pesquisas, determinando os termos técnicos e palavras-

chave, os critérios de inclusão e exclusão, como as pesquisas serão avaliadas criticamente, a coleta e síntese dos dados (GALVÃO; SAWADA; TREVIZAN, 2004).

A RS inicia-se com a elaboração da questão de pesquisa, ou seja, o objetivo principal e de um projeto de revisão, assim como avaliação da necessidade de proceder a revisão. A questão de revisão orienta o restante da revisão: ela determina o desenho e as características do estudo, os possíveis vieses esperados, a técnica apropriada de metanálise e a interpretação dos resultados. A questão de revisão inclui alguns elementos básicos: os pacientes ou a população que será submetida ao teste na prática, o(s) teste(s) de interesse e o(s) teste(s) comparador(es) e a condição alvo ou doença de interesse, conforme definido pelo padrão de referência (LEEFLANG, 2014).

A seguir é realizada uma ampla busca da literatura com o objetivo de se identificar o maior número possível de estudos relacionados à questão. Portanto, a estratégia de pesquisa deve ser a mais ampla possível. Essa estratégia de busca deve incorporar uma busca eletrônica, checagem de listas de referência de estudos e revisões relevantes, e algum esforço deve ser feito na recuperação de dados não publicados (literatura cinza) (LEEFLANG, 2014).

O primeiro passo no processo de seleção é a seleção de publicações potencialmente relevantes com base no título e no resumo. Em seguida, os textos completos desses artigos são lidos e incluídos quando considerados relevantes. A última etapa é a exclusão de estudos que não são relevantes quando os dados são extraídos. Em todas as etapas, a seleção é realizada por dois indivíduos de forma independente. Uma vez selecionados, aplicam-se critérios para avaliação da qualidade metodológica conforme o delineamento do estudo original e uma apresentação sistemática e síntese das características e achados dos estudos incluídos. Quando os estudos forem semelhantes, os resultados podem ser finalmente sintetizados e resumidos quantitativamente numa análise estatística, a metanálise (LEEFLANG, 2014; MULROW, 1994).

Metanálise representa a análise estatística de uma coleção de resultados de estudos individuais independentes, com o objetivo de resumir, integrar e sintetizar esses resultados, gerando uma única estimativa de efeito conjunto (média ponderada), levando em conta o tamanho e a variabilidade da amostra. Ao combinar informações de todos os estudos relevantes, as metanálises podem fornecer estimativas mais precisas do que as derivadas dos estudos individuais incluídos em uma revisão, além de aumentar o poder estatístico do resultado que pode então ser extrapolado e/ou generalizado. As metanálises também facilitam as investigações sobre a consistência da evidência em todos os estudos e a exploração de

diferenças entre os estudos (GONÇALVES; NASCIMENTO; NASCIMENTO, 2015; HIGGINS; GREEN, 2008; LEEFLANG, 2014).

Nas metanálises o agrupamento estatístico de dados de mais de um estudo é realizado após sua conversão em uma escala de medida padrão. Compreende-se que dessa maneira, a metanálise aumenta a confiança nos resultados totais da RS limitando efeito de variações e vieses existentes nos estudos individuais (KESSLER, 2007).

Os estudos incluídos para a realização de uma metanálise podem apresentar algum tipo de heterogeneidade, que se existente, não poderá ser ignorada, sob pena de produzir uma falsa evidência como resposta ao problema de pesquisa em questão. Ressalta-se que em metanálises diagnósticas a heterogeneidade sempre estará presente (MACASKILL et al., 2010; MADEIRA, 2015).

Cabe acrescentar que os resultados da metanálise quase sempre são representados por um gráfico do tipo *forest plot* (gráfico do tipo floresta), com a finalidade de concatenar em uma única figura, todas as informações sobre o efeito/precisão e a contribuição de cada estudo para a análise (GONÇALVES; NASCIMENTO; NASCIMENTO, 2015).

Para cada estudo o gráfico apresenta a medida de efeito e seu intervalo de confiança, sendo que a medida de efeito é representada por um símbolo que pode, por exemplo, ser um quadrado, um círculo, ou outra figura dependendo do *software*. O tamanho deste símbolo é proporcional ao peso do estudo na metanálise, quanto maior o peso, maior o tamanho do símbolo da medida de efeito. Esse peso é baseado no número de participantes e no número de eventos. Também é exibido em torno da estimativa da medida de efeito uma linha horizontal cortando os símbolos, que é o respectivo intervalo de confiança, sendo que quanto maior esta linha, maior é a variabilidade dentro do estudo (RODRIGUES; ZIEGELMANN, 2010).

De modo geral, busca-se na leitura da metanálise a estimativa sumária, resultante da compilação dos diferentes trabalhos publicados, representada pelo diamante (losango) que aparece na parte inferior do gráfico, indicando o resultado da combinação dos dados obtidos, visando determinar as evidências presentes na heterogeneidade, representada pela variabilidade ou diferença entre eles e as estimativas de efeitos, por meio do uso de método estatístico. O ponto central representa a razão de chances (*odds ratio*) da metanálise e seu tamanho representa o intervalo de confiança (GONÇALVES; NASCIMENTO; NASCIMENTO, 2015).

Os agrupamentos em metanálises são realizados através da escolha de um dos dois modelos estatísticos: modelo dos efeitos fixos ou modelo dos efeitos aleatórios. O primeiro modelo assume que os estudos incluídos na metanálise estimam um índice verdadeiro e fixo,

sendo as diferenças presentes nos estudos individuais ao acaso, resultante de erro randômico. O modelo dos efeitos aleatórios assume que os estudos da metanálise são amostras aleatórias de um universo teórico maior de todos os estudos sobre a questão pesquisada e que seus resultados são variações próximas a uma média de resultados totais. Este modelo incorpora duas possíveis fontes de variabilidades, os erros aleatórios intraestudos e as possíveis variações entre estudos, como as populações estudadas e os procedimentos realizados. Este é o modelo preferido no caso de estudos heterogêneos, pois considera as variações entre e intraestudos e a estimativa agrupada gerada é mais conservativa apresentando um intervalo de confiança maior (KESSLER, 2007). De forma simplificada, é como se os métodos com efeitos fixos considerassem que a variabilidade entre os estudos ocorreu apenas pelo acaso e ignorassem a heterogeneidade entre eles. Já os métodos com efeitos aleatórios incorporam um pouco da heterogeneidade entre os estudos nos resultados. Assim, geram resultados combinados com maior intervalo de confiança. Apesar de terem essa vantagem e serem mais recomendados, os métodos com efeitos aleatórios são criticados por atribuírem maior peso a estudos menores (SOUSA; RIBEIRO, 2009).

1.1.1 Revisões sistemáticas de estudos de acurácia diagnóstica

Testes diagnósticos são usados rotineiramente na medicina para rastreamento, diagnóstico e monitoramento da progressão de uma doença, suporte a tratamentos ou analisar um prognóstico (DEEKS, 2001).

Os estudos de acurácia diagnóstica permitem avaliar em que grau os dados medem o que eles deveriam medir ou o quanto os resultados de uma aferição correspondem ao verdadeiro estado do fenômeno aferido. Eles objetivam investigar a concordância dos resultados de um teste sob avaliação (chamado teste índice) – um teste novo ou mais simples, mais barato, mais rápido, menos invasivo – com os resultados de um teste padrão ou dito de referência, distinguindo a população submetida ao estudo em dois grupos, aqueles com e sem a condição-de interesse, sendo que estes podem apresentar teste diagnóstico positivo ou negativo, sugerindo ter ou não a condição-alvo. Os resultados de ambos os testes são lidos ou interpretados de forma independente, ou seja, em condições de desconhecimento total pelos pesquisadores envolvidos ou em condições de cegamento à interpretação e leitura dos testes para que, em seguida, os resultados dos dois testes sejam comparados (MEDEIROS, 2008; OLIVEIRA et al., 2010; VIRGILI et al., 2009; WHITING et al., 2004).

O termo teste refere-se a qualquer método utilizado para obter informações adicionais sobre o estado de saúde do paciente. Inclui exames clínicos, testes laboratoriais, exames de imagem, testes funcionais e histopatológicos. A condição de interesse ou condição alvo pode se referir a uma doença em particular, um estágio da doença, uma condição de saúde ou qualquer outra condição identificável que induza intervenção clínica, como testes diagnósticos ou iniciação, modificação e término do tratamento. Neste contexto, o padrão de referência é considerado o melhor método disponível para estabelecer a presença ou ausência da condição de interesse e pode ser um único método ou uma combinação de métodos ou conjunto de exames julgado mais adequado para estabelecer a presença da condição alvo ou uma outra forma de diagnóstico que sirva de referência (BOSSUYT et al., 2003; LEEFLANG et al., 2008; WALDMAN, 1998).

O termo acurácia refere-se à quantidade de concordância entre os resultados do teste índice e àqueles do padrão referência, e será avaliada pela medida da habilidade de um teste em detectar a presença de uma doença. Portanto, quanto melhor a acurácia diagnóstica, mais próximo o teste se aproxima do padrão-ouro. O verdadeiro *status* de doença de cada indivíduo é considerado como um tipo de dado dicotômico ou binário porque o indivíduo “tem a doença” ou “não tem a doença”. Apesar dessa suposição representar uma simplificação da realidade de um diagnóstico, ela é utilizada pela maioria dos testes disponíveis na prática clínica (BONITA; BEAGLEHOLE; KJELLSTRÖM, 2006; BRASIL, 2014; KESSLER, 2007).

As RS's da acurácia dos testes diagnósticos podem ser muito úteis neste processo, pois sintetizam dados de estudos primários para fornecer informações sobre a capacidade dos testes em detectar uma condição-alvo; elas também podem fornecer estimativas do desempenho do teste, permitir comparações da precisão de diferentes testes e facilitar a identificação de fontes de variabilidade (KESSLER, 2007; MCINNES et al., 2018). Conceitualmente, RS de estudos de acurácia com homogeneidade e bom padrão de referência não são apenas dados sumarizados de outros estudos, mas são consideradas o melhor e maior nível de evidência para a avaliação de testes diagnósticos, individuais ou para a comparação de diferentes testes para uma mesma condição-alvo (IARED; VALENTE, 2009).

A RS de estudos de acurácia diagnóstica é uma ferramenta valiosa, podendo contribuir para avaliar o impacto de determinados testes diagnósticos, pôr fim a dúvidas clínicas ou elaborar outras questões, e são essenciais para ajudar a escolher testes com ótima acurácia e que proporcionem apropriada interpretação dos resultados (DEEKS, 2001; MEDEIROS et al., 2012).

Os passos básicos necessários para se realizar uma RS de estudos de acurácia diagnóstica, e se apropriada, uma metanálise, estão listados no Quadro 1.

Quadro 1 – Passos para uma revisão sistemática e metanálise.

	ETAPAS
1.	Definição clara da pergunta que se quer responder e dos objetivos da revisão.
2.	Definição dos critérios de inclusão e exclusão, e das estratégias de busca.
3.	Pesquisa da literatura, levantamento e seleção dos estudos.
4.	Avaliação da qualidade e aplicabilidade dos estudos ao problema específico.
5.	Extração e análise dos dados e apresentação dos resultados de forma clara.
6.	Avaliação da heterogeneidade entre os estudos e cálculo dos resultados (combinando-os, se apropriado), estimando o desempenho diagnóstico.
7.	Interpretação dos resultados e desenvolvimento de recomendações.

Fonte: (Adaptado de IARED; VALENTE, 2009; MEDEIROS et al., 2012)

Muitas revisões publicadas até recentemente falham em aspectos básicos, como a descrição dos critérios de inclusão, na tabulação das características e local dos estudos incluídos. Também não descrevem a gravidade da doença nos participantes, o padrão de referência utilizado, a definição da positividade do teste avaliado, não relatam sensibilidade, especificidade e tamanho amostral dos estudos individuais, e não relatam formalmente a avaliação da qualidade dos estudos (IARED; VALENTE, 2009).

Uma RS com enfoque diagnóstico deve excluir estudos que não possuem os critérios de qualidade metodológica e que são mais suscetíveis a vieses, ou então incluir esses estudos e explorar as características e as diferenças entre os mesmos. Os vieses podem agir em qualquer direção, levando a superestimação ou subestimação da precisão do teste. É impossível saber com certeza se um estudo é tendencioso, ou a direção ou magnitude de um viés. No entanto, quando pontos fracos são identificados, julgamentos podem ser feitos sobre o risco de viés em um estudo individual e, ocasionalmente, pode-se criar hipóteses sobre sua provável direção e tamanho (DEEKS, 2001; REITSMA et al., 2009).

O poder estatístico é raramente discutido em estudos com enfoque diagnóstico, por não comparar dois grupos e por não possuírem formalmente uma hipótese diagnóstica. Entretanto, o aumento do tamanho da amostra no somatório geral dos resultados aumenta a precisão da estimativa do teste diagnóstico (DEEKS, 2001). Estudos ideais para inclusão em uma RS são aqueles em que os pacientes, recrutados de uma população ampla, sejam selecionados de maneira consecutiva e cegados tanto o pesquisador quanto os pacientes.

Entretanto, geralmente encontram-se estudos não cegados, retrospectivos e com pacientes oriundos de uma população restrita (OLIVEIRA et al., 2010).

O principal objetivo de uma RS de estudos de acurácia diagnóstica é apresentar as medidas de desempenho do teste entre os diferentes estudos que o avaliaram e, portanto, os desfechos são limitados aos parâmetros que avaliam esse desempenho. Se realizado o cálculo de metanálise, aumenta-se a precisão destas estimativas. Para tanto, é necessário obter os dados que irão compor a tabela de contingência 2x2, da qual derivam todas as medidas de desempenho do teste. A tabela descreve a relação entre os resultados do teste índice em um determinado limiar diagnóstico e o estado da doença (se presente ou ausente), definido pela aplicação do teste padrão de referência. A tabela inclui o número de casos verdadeiros positivos (VP – aqueles que tem a doença e o teste foi positivo), falsos positivos (FP – aqueles que não tem a doença, mas o teste índice foi positivo), verdadeiros negativos (VN – aqueles que não tem a doença e o teste foi negativo) e falsos negativos (FN – aqueles que tem a doença, mas o teste índice foi negativo). Em posse desses dados, qualquer estatística utilizada para determinar a acurácia de testes diagnósticos pode ser calculada, como a sensibilidade e a especificidade (BRASIL, 2014; IARED; VALENTE, 2009).

A partir das informações conjuntas desses dois índices é possível avaliar o desempenho clínico (tanto diagnóstico quanto prognóstico além de informações relacionadas aos resultados de uma terapêutica eficiente) de um teste laboratorial. Elas são propriedades que estabelecem suas características funcionais, as quais são inerentes aos testes e normalmente não variam substancialmente (KESSLER, 2007).

Enquanto os resultados dos ensaios clínicos aleatórios frequentemente são relatados usando a medida de um único efeito, como a diferença de médias, a diferença de risco ou a taxa de risco, a maioria dos estudos de acurácia relata mais de dois dados estatísticos, sendo particularmente desafiador combiná-los. Então, deve-se esperar que a tabulação dos dados seja feita de maneira diferente das revisões de intervenções, que comparam desfechos únicos separadamente. E a metanálise deve também levar em conta a heterogeneidade dos estudos e as variações devidas a limiares, explícitos ou não, para a interpretação dos resultados como positivos e negativos (IARED; VALENTE, 2009).

A escolha e utilização de um índice sumário capaz de definir a acurácia diagnóstica de um teste laboratorial e sua consequente utilização para a tomada de decisão médica como evidência adequada não é um procedimento simples. Como a heterogeneidade refere-se ao alto grau de variabilidade nos resultados através dos estudos individuais, ela é muito comum em metanálises de testes diagnósticos. Em teoria todos os índices calculados poderiam ser

escolhidos, mas idealmente, aqueles menos propensos a heterogeneidade seriam os ideais (KESSLER, 2007).

A metanálise da acurácia de testes diagnósticos fornece estimativas da média da acurácia diagnóstica de um ou mais testes, a incerteza desta média e a variabilidade dos estudos em torno dessa média. Ainda permite descrever como a acurácia varia em função de outras características dos estudos. Ajuda a interpretar resultados conflitantes entre estudos, uma vez que permite identificar quais diferenças são reais, quais são explicadas pelo acaso e quais podem ser explicadas pelas características conhecidas dos estudos. A precisão da estimativa geralmente aumenta com a quantidade de dados, conferindo maior poder à metanálise para detectar diferenças reais na acurácia entre testes de estudos individuais e podendo gerar estimativas mais precisas de sensibilidade e especificidade esperadas (BRASIL, 2014).

Assim como as RS's de ensaios clínicos randomizados, a metanálise deve ser considerada apenas quando os estudos são similares, tanto em relação ao perfil de pacientes/população incluídos, quanto em relação ao protocolo de estudo. Mesmo com estes critérios preenchidos, ainda pode haver heterogeneidade importante entre os estudos que torne inapropriado sumarizar o desempenho dos testes em uma única estimativa de efeito. As diferenças entre os estudos ou a heterogeneidade nos resultados podem resultar do acaso, dos erros no cálculo dos índices de precisão ou da verdadeira heterogeneidade, isto é, diferenças no *design*, conduta, participantes, intervenções, testes e testes de referência. Nesse caso, apenas se apresenta o desempenho dos testes nos vários estudos, de forma sistemática (BRASIL, 2014; DINNES et al., 2005).

Os testes diagnósticos são utilizados para que o profissional de saúde possa discriminar se um indivíduo tem ou não uma doença ou condição particular em populações consideradas suspeitas para a doença. Geralmente, esses estudos são realizados em amostras pequenas de casos, tendendo a fornecer estimativas com imprecisões consideráveis. Portanto, o aumento da precisão da estimativa de desempenho de um teste é desejado e conseguido com o cálculo da metanálise. Esta permite investigar a consistência do desempenho do teste entre diferentes delineamentos de estudos diagnósticos e em diferentes perfis de população (BRASIL, 2014).

1.2 Histórico da dengue

A dengue encontra-se presente na população humana há séculos. É consensualmente reconhecido que no final do século XVIII, uma doença com grande semelhança com a dengue causou epidemias intermitentes em três continentes (Ásia, África e América do Norte) entre os anos de 1779 e 1780, porém casos de doenças clinicamente equivalentes à dengue ocorreram em períodos anteriores. O primeiro registro de uma doença com características compatíveis com dengue encontrado até o momento está em uma enciclopédia chinesa, publicada durante a dinastia Chin (265 a 420 d.C.). A doença foi chamada de “veneno da água” pelos chineses, que entenderam que o quadro, de alguma forma, estava associado com insetos voadores e água (GUBLER, 1998).

Em virtude do constante tráfico de escravos oriundos da África, a partir do século XV, o *A. aegypti* foi levado para os demais continentes e as epidemias de dengue tornaram-se mais frequentes e disseminadas (HOLMES, 1998). Os navios permitiram o transporte de locais de reprodução para o vetor, juntamente com os seres humanos, para completar o ciclo de transmissão, permitindo uma introdução lenta, mas evidente do vírus e do mosquito para destinos costeiros ao redor do mundo (MURRAY; QUAM; WILDER-SMITH, 2013).

Epidemias que se assemelhavam à dengue, com curso da doença e propagação semelhantes, ocorreram em 1635 e 1699, nas Índias Ocidentais e na América Central, respectivamente (MURRAY; QUAM; WILDER-SMITH, 2013). Entretanto, a primeira descrição clínica detalhada da dengue em sua forma epidêmica foi feita em 1780 por Benjamim Rush, na Filadélfia, nos Estados Unidos da América (EUA), quando foi chamada de “febre quebra ossos” (do inglês, *break-bone fever*). Já no século XIX, inúmeras epidemias de dengue foram descritas em Zanzibar, Calcutá, Grécia e Japão (POLONI, 2013). As epidemias tornaram-se comuns nos EUA no início do século XX, com o último surto ocorrendo em Nova Orleans, em 1945 (MURRAY; QUAM; WILDER-SMITH, 2013).

Embora os DENV tenham se distribuído por quase todo o trópico nos séculos XVIII e XIX, durante os séculos XX e XXI, a globalização permitiu sua disseminação mais rápida e a introdução de múltiplos sorotipos virais em áreas permissivas, tornando-se a maioria das regiões tropicais hiperendêmicas (co-circulação de múltiplos sorotipos do DENV). Antes da década de 40, a dengue era caracterizada por epidemias que ocorreriam com pouca frequência e, em geral, cada local envolveu um único sorotipo viral (GUBLER, 1998; TEO; NG; LAM, 2009).

Durante a Segunda Guerra Mundial (1939-1945), a epidemiologia global do DENV foi dramaticamente alterada no Sudeste Asiático, tendo em vista que os movimentos acelerados e a dispersão das tropas propiciaram a disseminação do vírus entre a população residente da região. Além do maciço deslocamento humano, também houve uma mudança de comportamento durante a guerra como, por exemplo, os sistemas de água foram destruídos o que favoreceu a estocagem da água para uso doméstico e este fato propiciou maior disponibilidade de ambientes adequados para a proliferação do vetor nas áreas urbanas (GUBLER, 1997). A rápida disseminação originou uma pandemia de dengue no Sudeste Asiático na década de 1950, que também foi associada ao crescimento econômico e urbano regional pós-guerra e a falta de programas eficientes de controle do vetor (MESSINA et al., 2014). Assim, a dengue epidêmica tornou-se mais abrangente (WILDER-SMITH; GUBLER, 2008).

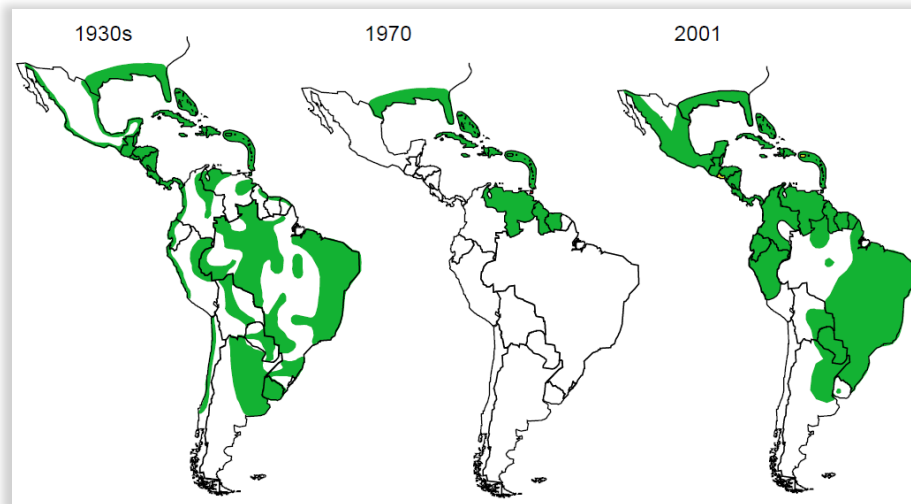
A partir de 1953-1954, a dengue começa a exibir um novo padrão caracterizado por hemorragia grave e/ou choque, provocando óbito em 40% dos enfermos: a chamada febre hemorrágica da dengue/síndrome do choque da dengue (FHD/SCD), descrita pela primeira vez em Manila, nas Filipinas, seguindo-se Bangkok, na Tailândia em 1958, Malásia, Cingapura, e Vietnã na década de 1960 (POLONI, 2013).

As mudanças epidemiológicas nas Américas foram as mais dramáticas. Na década de 50, de 60 e na maior parte da década de 70, a dengue epidêmica era rara na região americana porque o principal mosquito vetor, o *A. aegypti*, havia sido erradicado da maior parte da América Central e do Sul através de um programa coordenado pela Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) para controlar a febre amarela urbana, fato que restringiu efetivamente a transmissão da dengue em todo o continente. O programa de erradicação foi interrompido no início da década de 1970, e essa espécie começou a reivindicar os países de onde tinha sido erradicada. Na década de 90, o *A. aegypti* já havia recuperado e expandido a distribuição geográfica que ocupava antes do início da erradicação, como pode ser observado na Figura 2 (GUBLER, 1998; 2002).

A epidemia de dengue invariavelmente seguiu a reinfestação dos países pelo *A. aegypti*. Na década de 80, a região americana estava enfrentando grandes epidemias de dengue em países que estavam livres da doença por 35 a 130 anos (GUBLER, 1989). Foram introduzidas novas cepas e sorotipos de DENV: DENV-1 em 1977, uma nova cepa de DENV-2 em 1981, DENV-4 em 1981 e uma nova cepa de DENV-3 em 1994. Além disso, muitos países da região evoluíram de não-endemicidade (sem doença endêmica) ou hipoendemia (um sorotipo presente) para hiperendemia, como ocorreu no Sudeste Asiático 25 anos antes

(GUBLER, 1998; PINHEIRO; CORBER, 1997). Até meados da década de 1990, o Sudeste Asiático era a região do mundo mais afetada pela dengue. Desde então, a doença aumentou em países da América Central e do Sul, que contribuíram com mais de metade dos casos relatados no mundo (TEIXEIRA et al., 2009).

Figura 2 – Evolução da distribuição do *Aedes aegypti* nas Américas durante a década de 30 e nos anos de 1970 e 2001



Fonte: (Adaptado de GUBLER, 2002).

Em regiões onde a dengue é endêmica e múltiplos sorotipos cocirculam, a dinâmica epidemiológica do DENV é caracterizada por oscilações complexas na incidência e prevalência de sorotipos. É pensado que uma variedade de fatores ecológicos e imunológicos governam essas complexas dinâmicas espaço-temporais (GUBLER, 1998; LAMBRECHTS et al., 2012). As epidemias podem ocorrer quando a imunidade a um dos quatro sorotipos diminui e/ou quando uma nova cepa epidêmica do vírus emerge ou é introduzida. Embora não documentado, um aumento ou mudança na capacidade vetorial da população de mosquitos também pode influenciar a transmissão epidêmica (GUZMÁN et al., 2016).

A propagação geográfica e o aumento da atividade epidêmica na década de 70 coincidiram com o transporte aéreo se tornando o modo principal de viagem humana, fornecendo o mecanismo ideal para a circulação da dengue e outros agentes patogênicos urbanos entre centros populacionais do mundo. Muitos viajantes ficam infectados ao visitar áreas tropicais endêmicas, mas ficam doentes apenas depois de retornar para seu país de origem, resultando em um movimento constante do DENV em humanos infectados por todas as partes do mundo e garantindo a introdução repetida de novas cepas e sorotipos do vírus em áreas onde ocorrem os mosquitos vetores (GUBLER, 1998).

A atividade epidêmica acelerou dramaticamente nas décadas de 70 e 80, levando a uma expansão geográfica global de vírus e mosquitos vetores, e a consequente transmissão do DENV disseminada nos trópicos e áreas subtropicais. Essa expansão geográfica resultou em maior frequência e magnitude das epidemias e aumento da frequência de doenças graves nas décadas subsequentes, além da transmissão clinicamente silenciosa ou não detectada durante os períodos interepidêmicos (GUBLER, 1998; GUZMÁN et al., 2016; MESSINA et al., 2014).

1.3 Epidemiologia e a carga global da dengue

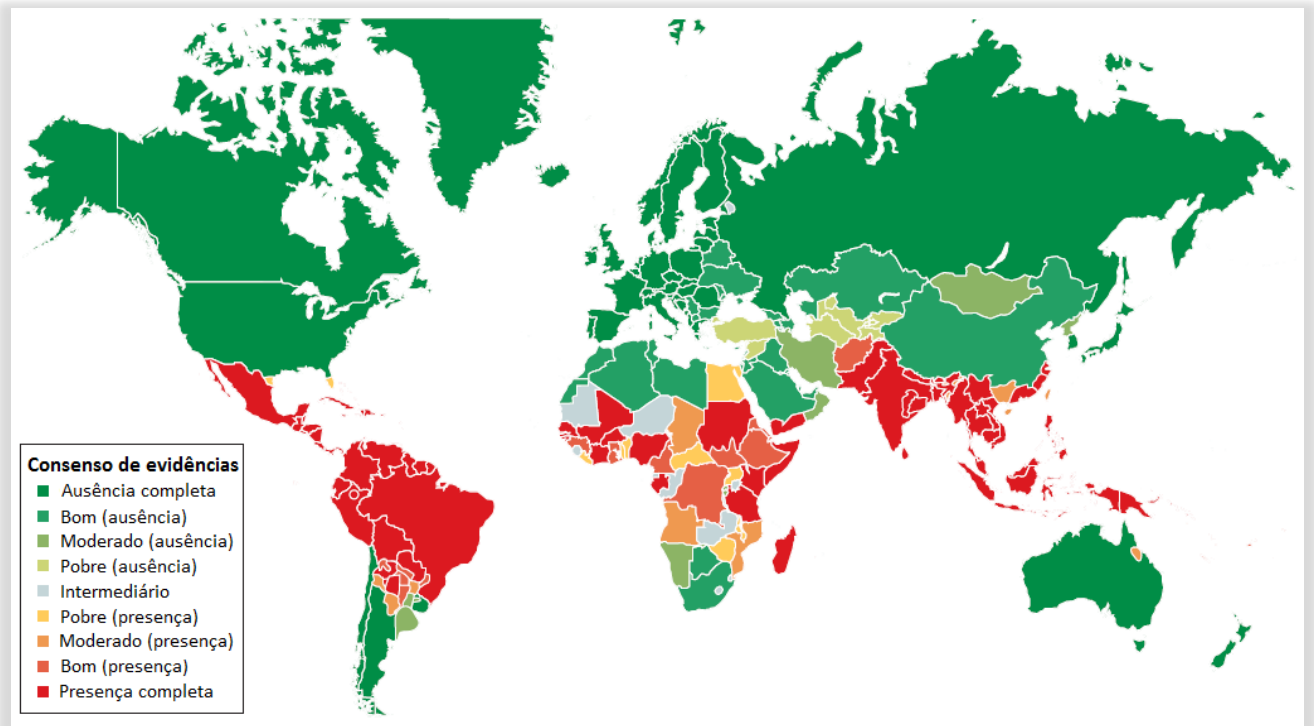
A dengue tornou-se um problema de saúde global, com fatores de risco influenciados pelas variações espaciais locais de precipitação, temperatura, umidade relativa, grau de urbanização e qualidade dos serviços de controle vetorial em áreas urbanas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018).

Antes de 1970, apenas nove países sofreram epidemias graves de dengue. Hoje, a doença é endêmica em mais de 100 países do Sudeste Asiático (região hiperendêmica desde a Segunda Guerra Mundial), das Américas, do Pacífico Ocidental, da África e das regiões do Mediterrâneo Oriental, com novos casos ocorrendo e se espalhando para áreas não endêmicas, como EUA e Europa (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018).

A Figura 3 apresenta um mapa baseado em evidências do risco de dengue e estimativas de infecções aparentes e não aparentes em todo o mundo, com base na população global em 2010. O consenso de evidências globais, risco e carga da dengue são mostrados desde a ausência completa (verde escuro) até a presença completa (vermelho escuro) da dengue (BHATT et al., 2013; GUZMÁN et al., 2016). Observa-se que a dengue está completamente difundida pelos trópicos, e agora os DENVs e os mosquitos vetores estão invadindo regiões subtropicais (TANG; OOI, 2012). A ameaça de um possível surto de dengue agora existe na Europa (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018). Em 2010 foram relatadas transmissões autóctones (originadas no lugar em que foram encontradas) do DENV na França (2 casos) e na Croácia (17 casos). E ocorreu um grande surto na região autônoma portuguesa da Madeira, com mais de 2.200 casos confirmados entre outubro de 2012 e janeiro de 2013, e outros 78 casos foram relatados em viajantes europeus que retornaram da ilha, detectados em outros 13 países da Europa, sendo 42 casos relatados apenas no Reino Unido e na Alemanha (SCHAFFNER; MATHIS, 2014). Devido às mudanças recentes no clima e nas temperaturas, o ambiente em toda a Europa tornou-se cada

vez mais favorável à proliferação de mosquitos, aumentando a distribuição de *A. aegypti*. Isso proporciona o potencial de futuros surtos de dengue na Europa (GYAWALI; BRADBURY; TAYLOR-ROBINSON, 2016).

Figura 3 – Potencial de risco global quanto à transmissão do vírus da dengue



Fonte: (Adaptado de GUZMÁN et al., 2016).

O seu rápido surgimento global está relacionado às mudanças demográficas e sociais dos últimos 50-60 anos, incluindo crescimento populacional sem precedentes, o transporte moderno, comércio global, aumento do movimento de pessoas infectadas (e consequentemente do vírus), urbanização não planejada e descontrolada – habitações de baixa qualidade, aglomeração e a deterioração dos sistemas de gestão de água, esgoto e resíduos, proporcionando alta densidade de pessoas suscetíveis e grande quantidade de criadores de mosquitos – recursos humanos e financeiros limitados dedicados à infraestrutura de saúde pública e ausência de programas de controle vetorial eficazes em países endêmicos. Estes fatores criaram condições ideais para o aumento da transmissão por mosquitos nos centros urbanos. Nos últimos anos, as mudanças nos padrões climáticos também contribuíram para a expansão da faixa de *habitat* do mosquito vetor (BENNETT et al., 2010; GUBLER, 1998; GUZMÁN; HARRIS, 2015; GUZMÁN; KOURI, 2004; SCHAFFNER; MATHIS, 2014; TEO; NG; LAM, 2009).

O número de casos de dengue reportados à Organização Mundial da Saúde (OMS) aumentou de forma constante, de uma média de menos de mil casos por ano globalmente na década de 1950, para mais de 3 milhões de casos em 2013 (STANAWAY et al., 2016). Já entre os anos de 2010 e 2015, o número de casos relatados aumentou de 2,2 milhões para 3,2 milhões (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018).

No entanto, a verdadeira carga da doença não é bem conhecida; o número real de casos de dengue está subnotificado e muitos casos são mal classificados (GUZMÁN; HARRIS, 2015). As infecções sintomáticas de dengue apresentam vários níveis de gravidade e até 70% dos pacientes optam por não buscar tratamento ou realizam auto-tratamento, sem auxílio profissional. Mesmo para aqueles que são atendidos por um profissional de saúde, a apresentação clínica da dengue compartilha semelhanças com outras patologias tornando-se comum a confusão ou erro de diagnóstico, particularmente em áreas com alta incidência de doenças febris (STANAWAY et al., 2016).

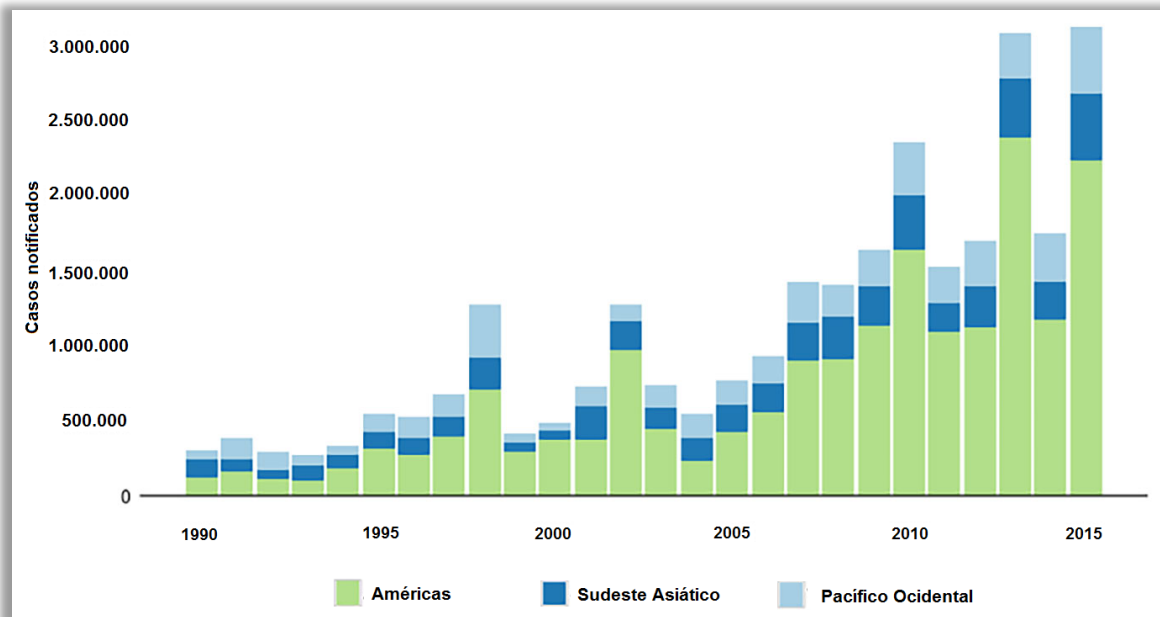
Estudos avaliam que ocorrem 2-28 vezes mais casos de dengue do que são relatados pelos sistemas nacionais de vigilância e apoiam o uso de fatores de expansão para estimativas (GUZMÁN; HARRIS, 2015).

A Figura 4 mostra o número de casos de dengue (suspeitos ou confirmados), das regiões mais seriamente afetadas, notificados à OMS desde a década de 90 até 2015 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017).

Casos de dengue em todas as Américas, Sudeste Asiático e Pacífico Ocidental ultrapassaram 1,2 milhões em 2008 e mais de 3,2 milhões em 2015 (com base em dados oficiais apresentados pelos Estados Membros da OMS) e recentemente o número de casos relatados continua aumentando (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018).

Fato observado nas Américas, onde foram relatados 1.176.529 casos suspeitos de dengue em 2014, 16.238 casos foram relatados como dengue grave e ocorreram 761 óbitos devido à infecção. Já em 2015, foram relatados 2,35 milhões de casos de dengue, 10.200 casos foram diagnosticados como dengue grave, causando 1.181 óbitos. O ano de 2016 caracterizou-se por grandes surtos de dengue em todo o mundo. A região das Américas relatou mais de 2,38 milhões de casos neste ano, onde somente o Brasil contribuiu com aproximadamente 1,5 milhões de casos, 3 vezes mais do que em 2014. Também foram relatados 4.274 casos graves e 1.032 mortes por dengue na região, e Brasil, Colômbia e México relataram a co-circulação simultânea dos quatro sorotipos do DENV (PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION, 2015).

Figura 4 – Número de casos de dengue nas Américas, Sudeste Asiático e Pacífico Ocidental notificados à Organização Mundial da Saúde no período de 1990 a 2015



Fonte: (Adaptado de WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017).

Em 2017, houve uma redução significativa no número de casos de dengue nas Américas – 584.263 casos. Isso representa uma redução de 73%. Panamá, Peru e Aruba foram os únicos países que registraram aumento de casos em 2017. Da mesma forma, uma redução de 53% nos casos de dengue grave também foi registrada durante 2017 neste continente (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018).

A Região do Pacífico Ocidental relatou mais de 375.000 casos suspeitos de dengue em 2016, dos quais as Filipinas relataram 176.411 e Malásia 100.028 casos, representando uma carga semelhante ao ano anterior para ambos os países (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018).

Um estudo realizado por Brady e colaboradores (2012) sobre a prevalência da dengue, estima que mais da metade da população mundial – 3,97 bilhões de pessoas, em 128 países – estão vulneráveis, correndo risco de contrair infecção pelo DENV.

Em outro estudo realizado por Bhatt e colaboradores (2013), estimativas baseadas em abordagens de modelagem cartográfica e dados de várias fontes publicadas entre 1960-2012 indicam que ocorrem 390 milhões de infecções por dengue todos os anos mundialmente, dos quais 96 milhões se manifestam clinicamente (com qualquer gravidade da doença) e 294 milhões são infecções não aparentes – leves ou assintomáticas, que não são detectadas pelos sistemas de vigilâncias de saúde pública. Porém as estimativas variam, o intervalo mais comumente citado, inclusive pela OMS, é de 50-100 milhões de casos aparentes por ano.

Esses relatórios, no entanto, subestimam o problema e as estimativas do número real de infecções. Casos de doença grave chegam a 2 milhões, embora as estimativas das mortes por dengue sejam menos frequentemente relatadas, o número mais usualmente citado é de cerca de 20.000 mortes por ano (STANAWAY et al., 2016; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2012).

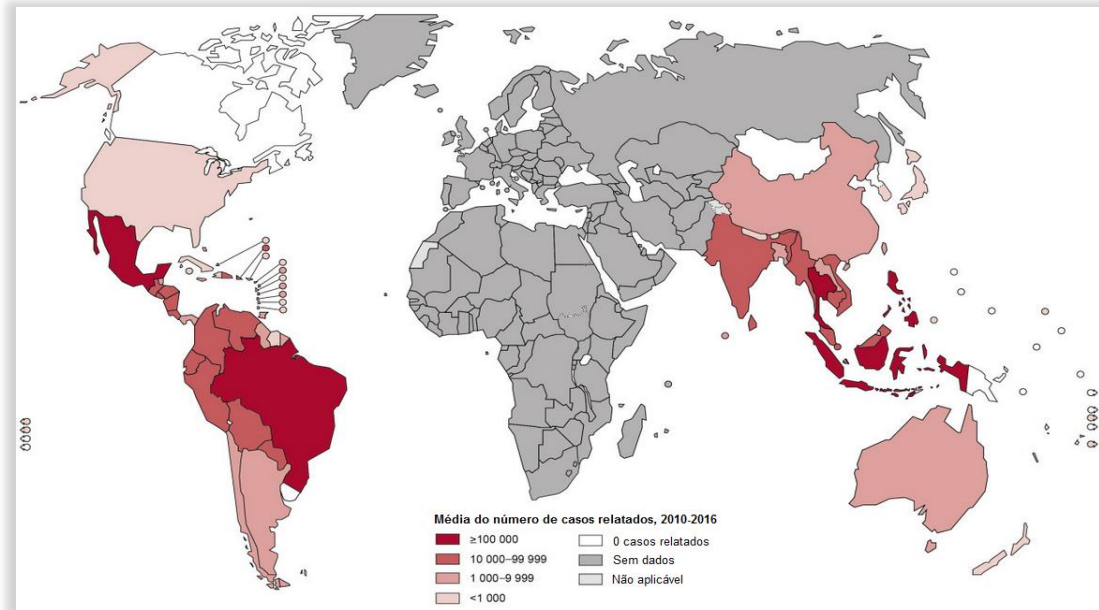
A maior incidência de mortalidade da dengue nos últimos anos ocorreu no Sudeste Asiático – caracterizado por grandes extensões de regiões densamente povoadas, coincidindo com uma alta adequação à transmissão de doenças – onde a dengue é uma das principais causas de internação hospitalar e morte, principalmente entre crianças (BHATT et al., 2013; STANAWAY et al., 2016).

Embora esses números sejam estimativas – portanto, devam ser interpretados com as limitações conhecidas que acompanham os estudos de modelagem – destaca-se a alta carga epidemiológica e econômica que enfrentam os países endêmicos, tanto para governos quanto para indivíduos. A doença da dengue nas Américas custa por ano, excluindo o controle vetorial, em média 2,1 bilhões de dólares; 1,2 bilhões no Sudeste Asiático e 76 milhões na África, excedendo os custos de outras doenças virais (GUZMÁN; HARRIS, 2015; SHEPARD et al., 2011; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018). Shepard e colaboradores (2016) estimaram o custo global anual da dengue em 8,9 bilhões de dólares. Estas são estimativas conservadoras e estão sujeitas a muitas incertezas.

Há uma grande discrepância entre a carga da dengue estimada pelos grupos acadêmicos e a notificada à OMS. Como mostrado na Figura 5, a OMS não recebe notificações de casos de dengue de todos os países afetados. Atualmente, não são relatados casos da África Subsaariana ou da Região do Mediterrâneo Oriental, que estimam contribuir significativamente para a carga global da dengue (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017).

Embora grandes epidemias de dengue sejam menos comuns na África do que em outras regiões tropicais, a vigilância é ineficiente, de modo que a verdadeira prevalência de dengue neste continente não é clara (HOLMES; TWIDDY, 2003). Os poucos dados disponíveis sugerem fortemente que a transmissão do DENV é endêmica em 34 países em todas as regiões da África. Destes países, 22 relataram casos esporádicos ou surtos entre 1960 e 2010; 20 relataram casos confirmados em laboratório e 2 relataram apenas casos clínicos que não foram confirmados laboratorialmente. Nos 12 países restantes, a dengue foi diagnosticada apenas em viajantes que retornaram para países em que a dengue não era endêmica (AMARASINGHE et al., 2011).

Figura 5 – Distribuição mundial do número médio de casos de dengue suspeitos ou confirmados relatados à Organização Mundial de Saúde no período de 2010 a 2016



Fonte: (Adaptado de WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017)

Os motivos para isso incluem a falta de recursos e capacidade de pesquisar eficazmente a dengue e o fato de que muitos países relatam apenas casos confirmados laboratorialmente, que representam apenas uma pequena parcela do número total de casos de dengue registrados e relatados (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2017).

O conhecimento da distribuição geográfica e do ônus da dengue é essencial para entender sua contribuição para os encargos globais de morbidade e mortalidade, determinar como alocar otimamente os limitados recursos disponíveis para o controle da dengue e avaliar o impacto de tais atividades internacionalmente (BHATT et al., 2013).

1.3.1 Dengue no Brasil

Os primeiros surtos e epidemias de dengue no Brasil datam de 1845 no Rio de Janeiro, 1896 em Curitiba, 1917 no Rio Grande do Sul e entre 1922 e 1923 no Rio de Janeiro e Niterói. A campanha brasileira de erradicação do *A. aegypti* no intuito de combater a febre amarela, que já vinha sendo empreendida por Emílio Ribas e Oswaldo Cruz desde 1903 (POLONI, 2013), e somada ao programa de erradicação de mosquitos coordenado pela OPAS, funcionou com sucesso, e manteve o Brasil livre do *A. aegypti* até 1976, não havendo relatos de outras epidemias de dengue até 1981 (FARES et al., 2015). Porém, com a expansão da dengue na América Central e Caribe somada à nova infestação do Brasil pelo mosquito

vetor, um surto veio a ocorrer em 1981-1982, na cidade de Boa Vista em Roraima, provocado pelos DENV-1 e DENV-4, causando doença possivelmente em 7.000 indivíduos (OSANAI et al., 1983), sendo a primeira epidemia documentada clínica e laboratorialmente. A partir de então, os surtos da dengue apresentariam magnitude crescente em números de casos e formas graves da doença nos centros urbanos do país, ganhando maior relevância no âmbito da saúde pública (BRASIL, 2009).

Em 1986, ocorreram epidemias (sorotipo DENV-1) atingindo inicialmente a cidade de Nova Iguaçu, no Rio de Janeiro, logo se espalhando para outras regiões do estado onde mais de um milhão de indivíduos foram infectados. O DENV disseminou-se, a seguir, para outros seis estados do Nordeste até 1990. Desde então, a dengue vem ocorrendo no Brasil de forma continuada, intercalando-se com a ocorrência de epidemias, geralmente associadas com a introdução de novos sorotipos em áreas anteriormente indenes e/ou alteração do sorotipo predominante (BRASIL, 2009).

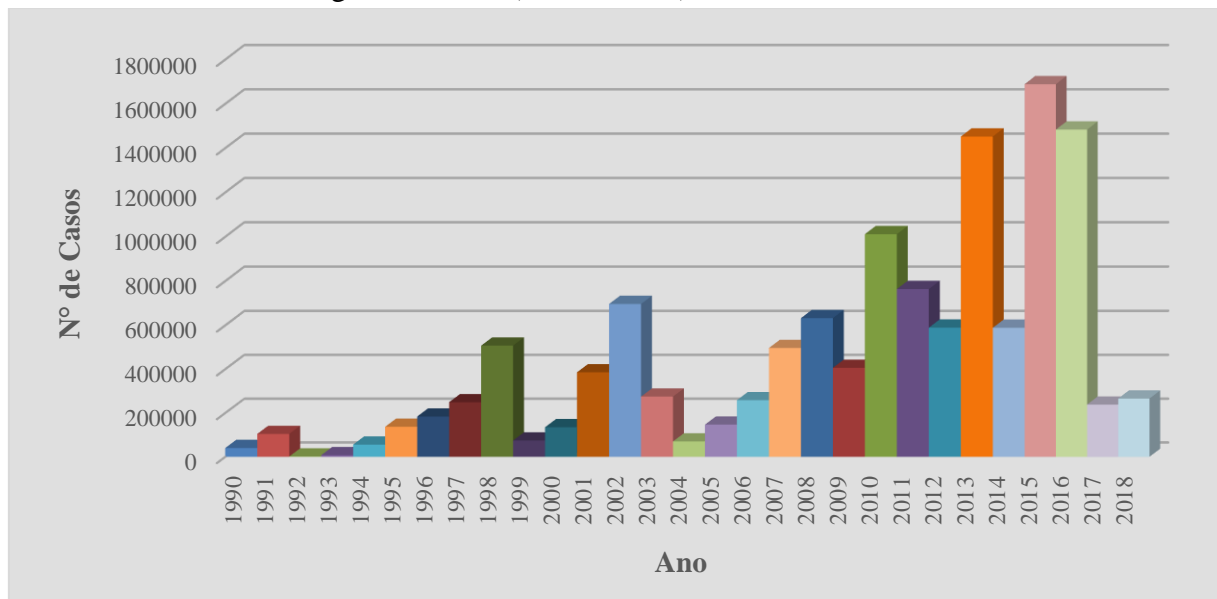
No ano de 1990, foi identificada a circulação de um novo sorotipo, o DENV-2, na cidade de Niterói, também no Estado do Rio de Janeiro. Durante a década de 1990, ocorreu um aumento significativo da incidência, reflexo da ampla dispersão do *A. aegypti* no território nacional. A presença do vetor, associada à mobilidade da população, levou à disseminação dos sorotipos DENV-1 e DENV-2 para 20 dos 27 estados do país. Entre os anos de 1990 e 2000, várias epidemias foram registradas, sobretudo nos grandes centros urbanos das regiões Sudeste e Nordeste do Brasil, responsáveis pela maior parte dos casos notificados. As regiões Centro-Oeste e Norte foram acometidas mais tardiamente, com epidemias registradas a partir da segunda metade da década de 90. A circulação do sorotipo DENV-3 foi identificada, pela primeira vez, em dezembro de 2000, também no Estado do Rio de Janeiro – sua introdução ocorreu no município de Nova Iguaçu – e, posteriormente, no Estado de Roraima, em novembro de 2001. Desde o início da epidemia em 2002 observou-se a rápida dispersão do sorotipo 3 para outros estados, sendo que no primeiro semestre de 2004, 23 dos 27 estados do país já apresentavam a circulação simultânea dos sorotipos DENV-1, DENV-2 e DENV-3 (BRASIL, 2009; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009). Entre 1981 e 2006, foram notificados 4.243.049 casos de dengue no Brasil, e de 2000 a 2007, o Brasil representou mais de 60% dos casos mundiais de dengue (FARES et al., 2015). Em julho de 2010, DENV-4 foi isolado em Roraima, 28 anos após sua primeira detecção nesse mesmo estado e, logo, este sorotipo se espalhou para outros estados (TEMPORÃO et al., 2011).

A situação da dengue no Brasil mudou significativamente ao longo das últimas décadas, com um aumento alarmante no número de pessoas afetadas (ARAUJO et al., 2017).

Esta doença tornou-se um grande problema de saúde pública e um desafio no Brasil devido a muitos fatores, como a susceptibilidade ao hospedeiro humano, emergências e ressurgências de vírus, bem como mudanças de sorotipos, abundância de vetores e fatores ambientais (HERINGER et al., 2015).

O Brasil tem as maiores taxas de notificação de dengue em todo o mundo, e houve um crescimento considerável da carga de doença no país nos últimos anos, como pode ser observado no Gráfico 1 (ARAÚJO et al., 2017; PORTAL DA SAÚDE, 2017a). De acordo com os Boletins Epidemiológicos da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde, em 2015 foram registrados no país, 1.688.688 casos prováveis da doença. Já em 2016, o país registrou 1.483.623 casos prováveis da doença (SVS, 2016, 2017). Em 2017 foram registrados 239.389 casos prováveis de dengue no país e em 2018, foram 265.934 (SVS, 2019). Assim, é importante monitorar surtos de dengue para entender quaisquer resultados novos ou inesperados associados à doença (HERINGER et al., 2015).

Gráfico 1 – Casos de dengue no Brasil (1990 a 2018)



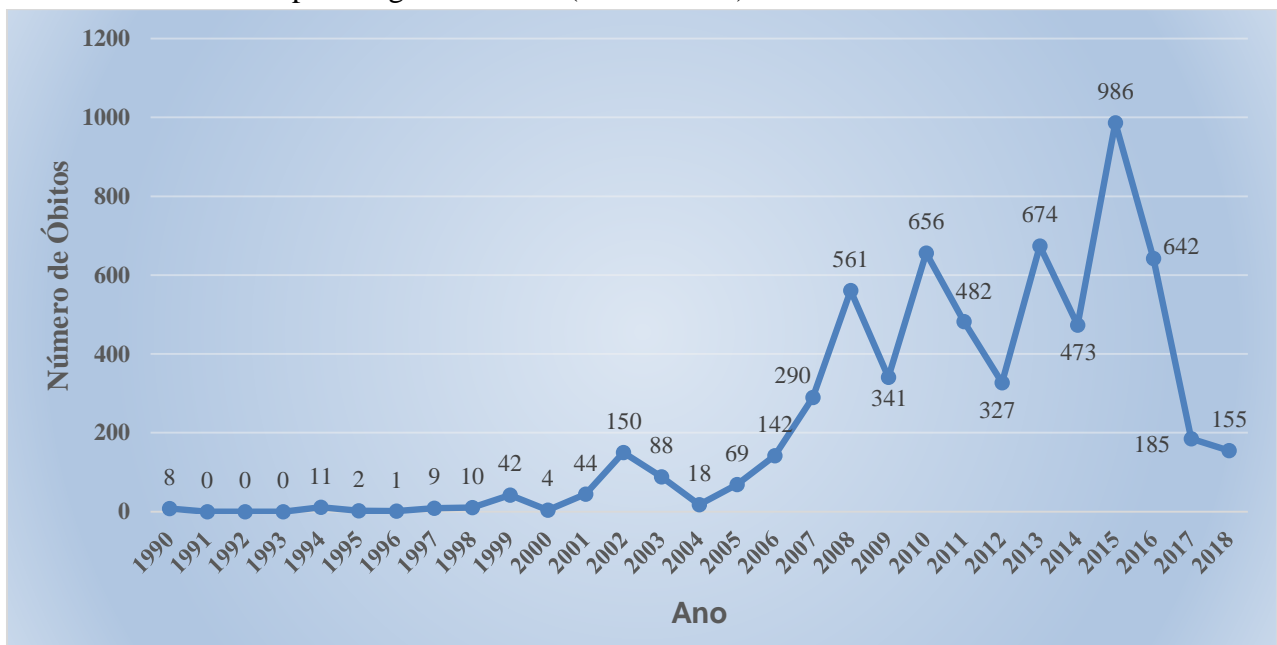
Fonte: (Adaptado de PORTAL SAÚDE, 2017a; SVS, 2019).

As primeiras epidemias de dengue associadas a óbitos foram relatadas nas Américas em 1980 e, desde então, o número de mortes relacionadas à dengue aumentou continuamente. Durante a primeira década do século XXI, metade das mortes relacionadas com dengue na América do Sul ocorreu no Brasil (PAIXÃO et al., 2015). Apesar de todos os esforços do governo, a taxa de mortalidade devida ao DENV no Brasil permaneceu maior do que a taxa ideal recomendada pela OMS. As taxas de mortalidade mais elevadas foram observadas em

faixas etárias extremas, crianças com menos de 1 ano de idade e idosos com idade igual ou superior a 56 anos (ARAÚJO et al., 2017).

O número de óbitos no país, observado no Gráfico 2, já soma 6.001 casos no período de 2004-2018 (PORTAL DA SAÚDE, 2017b; SVS, 2019). Contudo, muitos óbitos não são detectados pelos serviços de saúde. É importante enfatizar que todas as epidemias de dengue são previsíveis, meses antes de serem estabelecidas, e que as mortes resultantes dessas epidemias são quase totalmente evitáveis. É necessária uma rede de serviços de saúde para isso, e deve ser cuidadosamente organizada por preparativos avançados para reduzir a mortalidade (CAVALCANTI et al., 2017).

Gráfico 2 – Óbitos por dengue no Brasil (1990 a 2018)



Fonte: (Adaptado de PORTAL SAÚDE, 2017b; SVS, 2019).

Além de ser um problema de saúde pública, a dengue tem um impacto econômico e social significativo no país. Estima-se que o custo da morbidade e mortalidade por dengue no Brasil, entre 2001 e 2005, foi de US\$ 322 milhões. O impacto econômico em diferentes regiões do Brasil para o período epidêmico entre 2012 e 2013 foi de US\$ 371 milhões (ARAÚJO et al., 2017; MARTELLI et al., 2015).

Além de causar infecções de alta morbimortalidade, a dengue gera absenteísmo laboral e escolar, uma vez que o número de crianças acometidas é crescente, enfraquece as atividades turísticas e, durante os períodos epidêmicos, sobrecarrega o sistema de saúde com uma grande e repentina demanda – com um aumento de três a quatro vezes o número de pacientes –

trazendo prejuízos não apenas à saúde pública, mas à toda a cadeia produtiva (POLONI, 2013; SHEPARD et al., 2011).

A quantificação destes impactos é de crucial importância para governo e iniciativa privada na formulação de decisões para prevenção e manejo da dengue, em especial para a potencial introdução de vacinas e outras tecnologias de combate da doença (POLONI, 2013).

1.4 Vetor e ciclo de transmissão da dengue

Os vetores são os transmissores de organismos causadores de doenças que levam os agentes patogênicos de um hospedeiro para outro. Tais vetores, na maioria das vezes, são animais invertebrados, geralmente artrópodes. O modo mais significativo de transmissão é por meio dos mosquitos hematófagos, no qual o patógeno se multiplica dentro do artrópode e é transmitido quando o artrópode se alimenta de sangue, caso do *A. aegypti* (WEAVER; REISEN, 2010).

A transmissão da dengue resulta de interações entre pessoas, mosquitos, vírus e fatores ambientais (GUZMÁN; HARRIS, 2015). Tem sido observado um padrão sazonal de incidência coincidente com o verão, devido à maior ocorrência de chuvas e aumento da temperatura nessa estação. É mais comum nos núcleos urbanos, onde é maior a quantidade de criadouros naturais ou resultantes da ação do ser humano. Entretanto, a doença pode ocorrer em qualquer localidade desde que exista população humana susceptível, presença do vetor e o vírus seja introduzido (BRASIL, 2009). Em períodos com pouca ocorrência de chuvas e temperaturas médias inferiores a 16° C ou superiores a 40° C, o *A. aegypti* tem condição de sobrevivência reduzida. Contudo, nos ambientes urbanos, a oferta de criadouros artificiais praticamente anula os efeitos da falta de chuvas, fator que permite que a dengue ocorra durante todo o ano nas zonas urbanas e rurais e não mais confinada ao período chuvoso (BARBÉRIO, 2013).

Os DENVs são mantidos em um ciclo endêmico-epidêmico envolvendo seres humanos e mosquitos em centros urbanos tropicais. Esses vírus são totalmente adaptados aos seres humanos, e o *A. aegypti* é o mosquito vetor epidêmico predominante, vivendo em associação íntima com seres humanos – *A. albopictus* e *A. polynesiensis* também podem causar surtos de dengue, mas de forma menos eficiente – surgindo há muito tempo dos ciclos selváticos envolvendo primatas não-humanos e mosquitos do gênero *Aedes* nas florestas tropicais da Ásia e da África. Embora estes ciclos ainda existam, sua importância na saúde pública é incerta (GUBLER, 1998; GUZMÁN et al., 2016).

O *A. aegypti* originou-se da África Ocidental e foi introduzido nas Américas durante o comércio de escravos – o mosquito usava a água armazenada nos navios como local de reprodução e poderia manter o ciclo de transmissão, mesmo em viagens longas – nos séculos XV a XIX, na Ásia através de intercâmbios comerciais nos séculos XVIII e XIX à medida que o setor de navegação se expandia e se espalhou globalmente com o advento do aumento de viagens e negócios nos últimos 50-60 anos (GUBLER, 2002; SIMMONS et al., 2012).

O *A. aegypti* é um mosquito tropical pequeno, preto e branco, hematófago, altamente domesticado, que prefere colocar seus ovos em recipientes artificiais comumente encontrados nas casas e em suas proximidades (GUBLER, 1998).

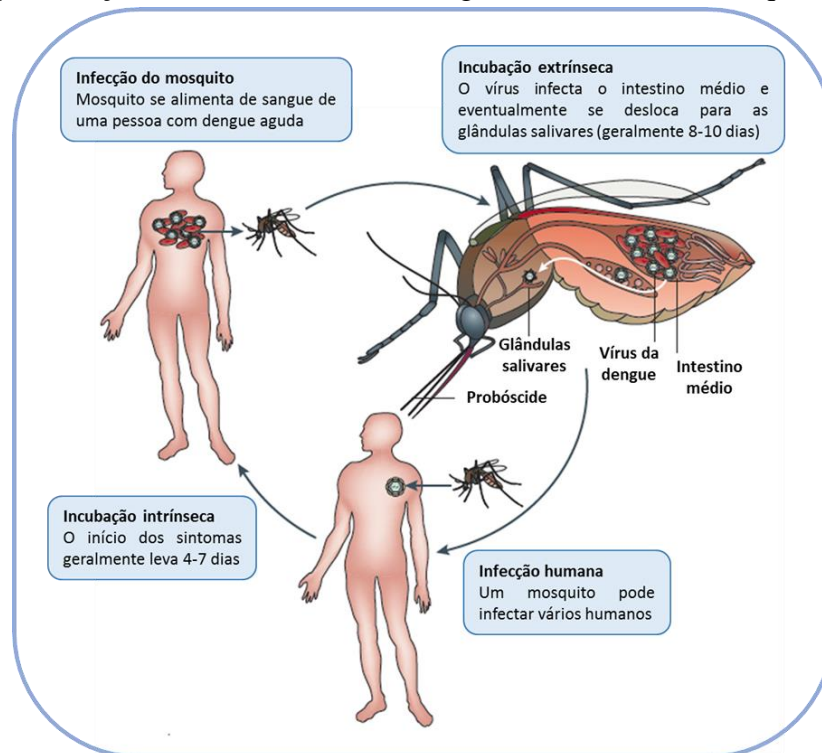
Os seres humanos sintomáticos ou assintomáticos infectados são os principais portadores e multiplicadores do vírus, servindo como fonte do vírus para mosquitos não infectados. Os pacientes que já estão infectados com o DENV podem transmitir a infecção (por 4-5 dias, no máximo 12) através de mosquitos após os primeiros sintomas aparecerem (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018).

Os mosquitos adultos preferem se alimentar dos seres humanos durante o dia. Há dois picos de atividade de picada, no início da manhã, 2 a 3 h após o amanhecer e à tarde, algumas horas antes do anoitecer. No entanto, esses mosquitos se alimentam durante todo o dia em ambientes fechados e em dias nublados. Os mosquitos fêmeas de *A. aegypti* frequentemente se alimentam de várias pessoas durante uma única refeição de sangue e, se forem infecciosas, podem transmitir o DENV a várias pessoas em um curto período de tempo (GUBLER, 1998).

O mosquito permanece infectivo durante toda a sua vida, podendo infectar cada pessoa que posteriormente venha a picar e se alimentar. O mosquito fêmea adulto vive em média por aproximadamente 1 semana, mas algumas fêmeas podem viver por mais de 2 semanas (GUZMÁN et al., 2016).

O ciclo do DENV é mostrado na Figura 6. O mosquito fêmea fica infectado quando se alimenta de sangue durante a fase aguda e virêmica da doença em humanos. Durante o período de incubação extrínseca, o vírus infecta primeiro as células do intestino médio e depois se dissemina, carregado pela hemolinfa, para replicar-se em numerosos tecidos, por fim infectando as glândulas salivares 5-12 dias (geralmente 8-10 dias) depois. Uma vez que as glândulas salivares estão infectadas, o DENV é secretado na saliva durante o repasto do inseto em hospedeiro humano susceptível, fechando o ciclo de transmissão da doença. O tempo decorrente da infecção para o aparecimento da doença (período de incubação intrínseco) em seres humanos varia de 3 a 14 dias, com uma média de 4-7 dias (GUBLER; KUNO; MARKOFF, 2007; GUZMÁN et al., 2016).

Figura 6 – Representação do ciclo do vírus da dengue em humanos e mosquitos



Fonte: (Adaptado de GUZMÁN et al., 2016).

Após a picada do mosquito, o DENV primeiro infecta células dendríticas (células de *Langerhans*) imaturas da pele – que possuem um papel crítico no início da disseminação viral e na patogênese da doença. As células dendríticas infectadas amadurecem e migram para os linfonodos locais ou regionais onde apresentam antígenos virais para células T, iniciando as respostas imunes celulares e humorais (GUZMÁN et al., 2010). Também há evidências de abundante replicação de DENVs nas células do parênquima hepático e nos macrófagos nos linfonodos, fígado e baço, bem como nos monócitos do sangue periférico (JESSIE et al., 2004).

O *A. albopictus*, nativo do sudeste da Ásia e invasivo em muitos países, é geralmente considerado como um vetor secundário da dengue – mas foi declarado como o principal vetor do DENV em muitos surtos da doença em todo o mundo (SCHAFFNER; MATHIS, 2014). Foi introduzido no Brasil em 1986, estando presente em todos os estados, no entanto não é considerado um vetor da dengue no país e não tem sido associado com epidemias da doença (FARES et al., 2015).

Também foram relatadas outras formas de transmissão da doença sem envolvimento de vetor, entre elas, pacientes que receberam transfusão de sangue e hemocomponentes contaminados com o DENV (TAMBYAH et al., 2008). A viremia pode preceder o

aparecimento de sintomas em pessoas com doença clínica. Os níveis plasmáticos de ácido ribonucleico (RNA) viral variam de 105,5 a 109,3 cópias.mL⁻¹ e o sangue coletado durante esta fase e seus produtos podem ser infecciosos quando transfundidos em hospedeiros suscetíveis (WILDER-SMITH et al., 2009).

Há relatos também de transmissão por transplante de tecidos e órgãos, e através do leite materno, assim como a transmissão vertical (de mãe para filho) no útero ou no nascimento (SUBEDI; TAYLOR-ROBINSON, 2014).

1.5 O vírus da dengue

O DENV é um arbovírus (vírus transmitido por artrópodes) membro do gênero *Flavivirus* (família *Flaviviridae*), que contém uma série de importantes agentes patogênicos responsáveis por doenças infecciosas importantes em seres humanos, como o vírus da encefalite japonesa, o vírus do Oeste do Nilo e o vírus da febre amarela. É um vírus de RNA de cadeia simples, com envelope lipídico, esférico, relativamente pequeno (40-60 nm de diâmetro), compreendendo quatro sorotipos antigênicos distintos, mas estreitamente relacionados – DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4, que agora cocirculam em muitas partes do mundo tropical e subtropical, sendo os arbovírus mais difundidos geograficamente (HOLMES; TWIDDY, 2003; SAN MARTÍN et al., 2010).

Um quinto sorotipo, DENV-5, foi identificado recentemente durante testes de triagem em amostras de vírus coletadas durante um surto na Malásia em 2007 (VASILAKIS et al., 2013). A avaliação filogenética revelou que o DENV-5 é geneticamente semelhante aos outros quatro sorotipos, sugerindo assim uma origem ancestral comum. Como a interação entre cepas silvestres e populações humanas é pouco compreendida, a investigação da epidemiologia do DENV silvestre torna-se essencial e como existe pouca ou nenhuma barreira adaptativa, o ressurgimento deste tipo de vírus no ciclo de transmissão humano é uma perspectiva realista (MUSTAFA et al., 2015).

Os quatro sorotipos do DENV são geneticamente diversos e compartilham uma identidade limitada (cerca de 60-75%) no nível do genoma, que é aproximadamente o mesmo grau de relação genética que o vírus do Oeste do Nilo compartilha com o vírus da encefalite japonesa. Essa alta variabilidade genética é devido à falta do mecanismo de correção da RNA polimerase viral durante a replicação, às rápidas taxas de replicação, ao grande tamanho populacional e pressão frente à resposta imunológica do hospedeiro (HOLMES; TWIDDY, 2003). Apesar destas diferenças, cada sorotipo causa síndromes idênticas em seres humanos e

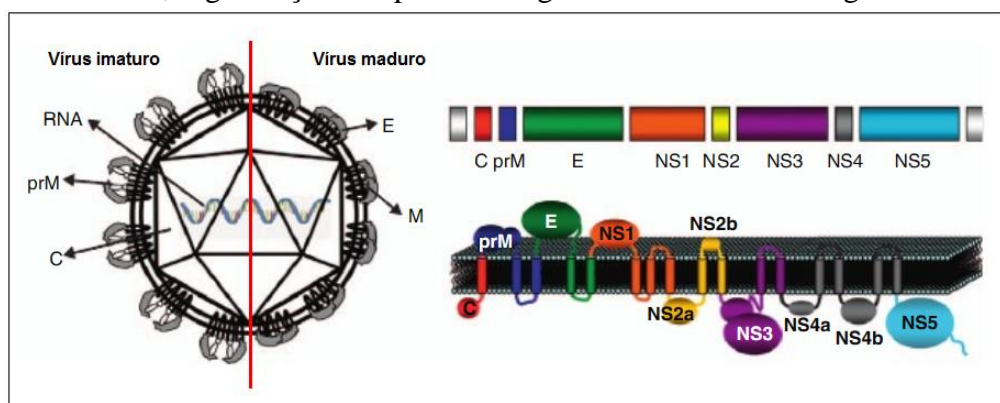
circula no mesmo nicho ecológico, sendo praticamente iguais do ponto de vista epidemiológico (GUZMÁN et al., 2010).

Cada sorotipo é composto de vários genótipos, que, por sua vez, consistem em vários clados – linhagens múltiplas e distintas, destacando a extensa variabilidade genética dos sorotipos da dengue (HOLMES; TWIDDY, 2003; OHAINLE et al., 2011). Os vírus dentro do mesmo sorotipo possuem aproximadamente 3% de diferença no nível de aminoácidos e 6% de diferença no nível de nucleotídeos. As variações genéticas entre sorotipos e clados são determinantes importantes da capacidade viral, virulência e potencial de epidemia, entre eles, os genótipos “asiáticos” de DENV-2 e DENV-3 são frequentemente associados a doença grave que acompanha as infecções secundárias por dengue (GUZMÁN; HARRIS, 2015; HOLMES; TWIDDY, 2003).

Estudos revelaram que **(i)** as cepas do DENV que infectam os seres humanos e primatas não-humanos geralmente se enquadram em diferentes genótipos, indicando que os ciclos humano e selvático são geralmente independentes; **(ii)** alguns genótipos têm distribuição geográfica generalizada (cosmopolita), enquanto outros são restritos a localidades específicas; e **(iii)** a diversidade genética viral é maior no Sudeste Asiático, sugerindo que é a população “fonte” para muitos surtos de dengue, particularmente aqueles ultimamente observados nas Américas (HOLMES; TWIDDY, 2003).

O genoma do DENV mostrado na Figura 7 – polaridade positiva, protegido por um nucleocapsídeo de simetria icosaédrica – tem aproximadamente 10,7 kilobases de comprimento e codifica um polipeptídeo precursor, de aproximadamente 3.400 aminoácidos. As proteínas virais individuais são geradas a partir da clivagem deste precursor pela ação de proteases virais e do hospedeiro (LINDENBACH; THIEL; RICE, 2007).

Figura 7 – Estrutura, organização e expressão do genoma do vírus da dengue



Proteínas estruturais: capsídeo (C), precursora da membrana M (prM) e glicoproteína do envelope (E). Proteínas não estruturais: NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b e NS5.

Fonte: (Adaptado de HOTTZ et al. 2011)

O vírus é formado por três proteínas estruturais: capsídeo (C), com proteínas do envelope (E) e proteínas de membrana (M) ou precursor de membrana (prM) inseridas nela, além de sete proteínas não estruturais (NS) – NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b e NS5. As proteínas estruturais são componentes da partícula viral madura e as proteínas NS são expressas somente na célula hospedeira infectada e não são empacotadas em níveis detectáveis nas partículas maduras; juntas desempenham várias funções no ciclo de vida e na patogênese do DENV (CARNEIRO, 2014; CHAMBERS et al., 1990; GUZMÁN et al., 2016; HENCHAL; PUTNAK, 1990).

A glicoproteína prM, aparentemente funciona impedindo que a proteína E sofra mudanças conformacionais durante o seu trânsito em compartimentos ácidos na fase de maturação do vírus. A proteína M é importante para a formação e maturação dos vírions, enquanto o capsídeo, que compreende a proteína C, é circundado por uma membrana lipoprotéica derivada da célula hospedeira que estabiliza o RNA viral. A proteína E é o principal componente da superfície viral e desempenha um papel fundamental em vários processos importantes, incluindo ligação ao receptor, hemaglutinação de células sanguíneas, indução de uma resposta imune protetora (anticorpos neutralizantes), mediação da fusão das membranas viral e celular do hospedeiro durante a entrada viral nas células e montagem de vírions (GUZMÁN; KOURI, 2004; STIASNY; HEINZ, 2006; WAHALA; DE SILVA, 2011).

As proteínas NS são necessárias para uma replicação viral eficiente (ROSS, 2010). NS2b e NS3 têm função proteolítica, NS5 é necessária para replicação do genoma viral, NS2a, NS4a e NS4b inibem a resposta imune inata para facilitar a replicação viral (ARBUTHNOT, 2015).

Em relação à glicoproteína altamente conservada NS1, que parece essencial à patogênese e a viabilidade do vírus, é possível afirmar que a mesma é expressa sob três formas: associada ao retículo endoplasmático; ancorada à membrana ou ainda secretada. A forma secretada é um alvo importante na imunidade humoral e pode iniciar um processo significativo na patogênese da doença (LIBRATY et al., 2002; LINDENBACH; THIEL; RICE, 2007; SUBEDI; TAYLOR-ROBINSON, 2014).

1.6 Manifestações clínicas da infecção pelo vírus da dengue

Após um período de incubação de 4-8 dias, a infecção por qualquer um dos quatro sorotipos do DENV pode produzir um amplo espectro de manifestações clínicas, com a

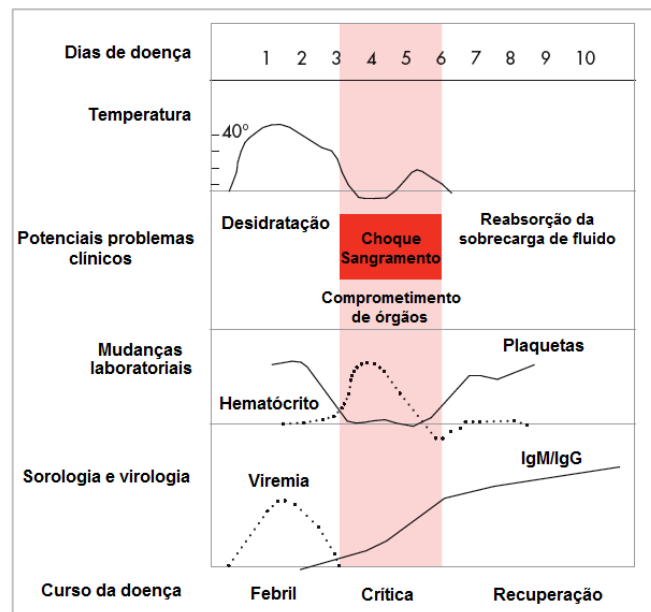
maioria das infecções assintomáticas ou subclínicas, e sintomáticas que variam de febre baixa até quadros hemorrágicos potencialmente fatais, para as quais o tempo ou a sequência de infecções pode ser um determinante importante da gravidade e do curso da doença (GUZMÁN et al., 2016; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009).

A maioria dos pacientes recupera-se após uma doença auto-limitante (embora debilitante), enquanto uma pequena proporção avança para uma doença grave, principalmente caracterizada por extravasamento de plasma com ou sem sangramento (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009).

Casos devem ser considerados como suspeitos de dengue quando há febre alta (40° C), acompanhada por dois dos seguintes sintomas: dor de cabeça severa, dor retro-orbital, dores musculares e articulares, náuseas, vômitos, glândulas inchadas ou erupções cutâneas. Após a picada de um mosquito infectado, segue-se um período de incubação de 4-10 dias, e com sintomas geralmente durando 2-7 dias (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018).

A doença começa abruptamente, e pode ser dividida em três fases distintas conforme Figura 8: (i) fase febril aguda, (ii) fase crítica e (iii) fase de convalescença (reabsorção e recuperação).

Figura 8 – Fases do curso clínico da dengue: fases febril, crítica e de recuperação com os parâmetros clínicos e sorológicos associados



Fonte: (Adaptado de WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009).

A febre ocorre durante a fase febril e geralmente é a primeira manifestação clínica da doença, com uma intensidade variável. Está associada com cefaleia intensa, dor retro-orbitária

e vômitos, bem como dores no corpo. Esta fase dura de 3 a 7 dias, e a maioria dos pacientes se recuperam sem complicações após a defervescência; no entanto, o estado clínico de alguns sofre rápida deterioração quando a febre cai. O período em torno da defervescência é crítico, quando pode ocorrer um aumento da permeabilidade capilar acompanhada de aumento do hematócrito, levando a choque hipovolêmico, que pode resultar em comprometimento orgânico, acidose metabólica, coagulação intravascular disseminada e hemorragia grave. Assim, o período durante o qual a febre diminui indica o início da fase crítica (GUZMÁN et al., 2016; SIMMONS et al., 2012; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009).

Um monitoramento cuidadoso do hematócrito, bem como dos sinais de insuficiência circulatória ou hemorragia interna devem ser realizados após a defervescência (TANG; OOI, 2012). Durante a transição da fase febril para a fase crítica da doença, é crucial que o clínico esteja atento aos sinais de alerta de que o extravasamento vascular clinicamente significativo pode estar se desenvolvendo no paciente (SIMMONS et al., 2012).

A fase crítica coincide com o extravasamento de plasma resultante da alteração na permeabilidade microvascular que pode levar a choque, caracterizado por frieza nos tegumentos, pulso fraco, preenchimento capilar tardio, taquicardia, oligúria e hipotensão. O choque é causado pelo baixo volume sanguíneo (hipovolemia). A permeabilidade vascular alterada é de curta duração, retornando espontaneamente a um nível normal após aproximadamente 48 a 72 horas, sendo concorrente com uma rápida melhora nos sintomas do paciente, caracterizando a fase de convalescença/recuperação, que também pode envolver complicações, como encefalopatia, bradicardia, extra-sístoles ventriculares e, raramente, miocardite e encefalite (GUZMÁN et al., 2016; LOW et al., 2011; SIMMONS et al., 2012).

Se não for tratada, a mortalidade pode atingir 20%, enquanto que o tratamento apropriado e a reidratação intravenosa podem reduzir a mortalidade para menos de 1%. Sintomas persistentes (por exemplo, artralgia ou fadiga) em pacientes adultos com dengue até 2 anos após a doença foram relatados em 57% dos pacientes estudados (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009). As infecções por dengue podem ser fatais quando ocorrem em indivíduos com asma, diabetes e outras doenças crônicas (GUZMÁN et al., 2010).

Na maioria dos países onde a dengue é endêmica, o acesso aos laboratórios de diagnóstico é limitado e o diagnóstico de dengue depende exclusivamente do reconhecimento clínico. Além disso, mesmo quando os serviços laboratoriais estão disponíveis, os testes sorológicos e virológicos são solicitados somente após uma suspeita clínica de dengue, com base nos sinais e sintomas (LOW et al., 2011). A hospitalização para um monitoramento rigoroso de todos os pacientes em países endêmicos geralmente não é viável, particularmente

durante os surtos, enfatizado os recursos médicos limitados. Nessas circunstâncias, a capacidade de prever o desenvolvimento de dengue grave nos estágios iniciais da doença poderia, portanto, ser útil na triagem de pacientes (TANG; OOI, 2012).

Na maioria dos casos clínicos, a apresentação inicial da dengue não é aparente até desenvolver sinais e sintomas claros. Por sua vez, esse atraso limita a capacidade de fazer um diagnóstico clínico precoce e preciso. Além disso, não há terapias específicas para a dengue, como medicamentos antivirais. Qualquer tratamento é essencialmente favorável e, portanto, é um desafio muito importante se fazer uma estimativa da gravidade da doença de um paciente o mais cedo possível (GYAWALI; TAYLOR-ROBINSON, 2017).

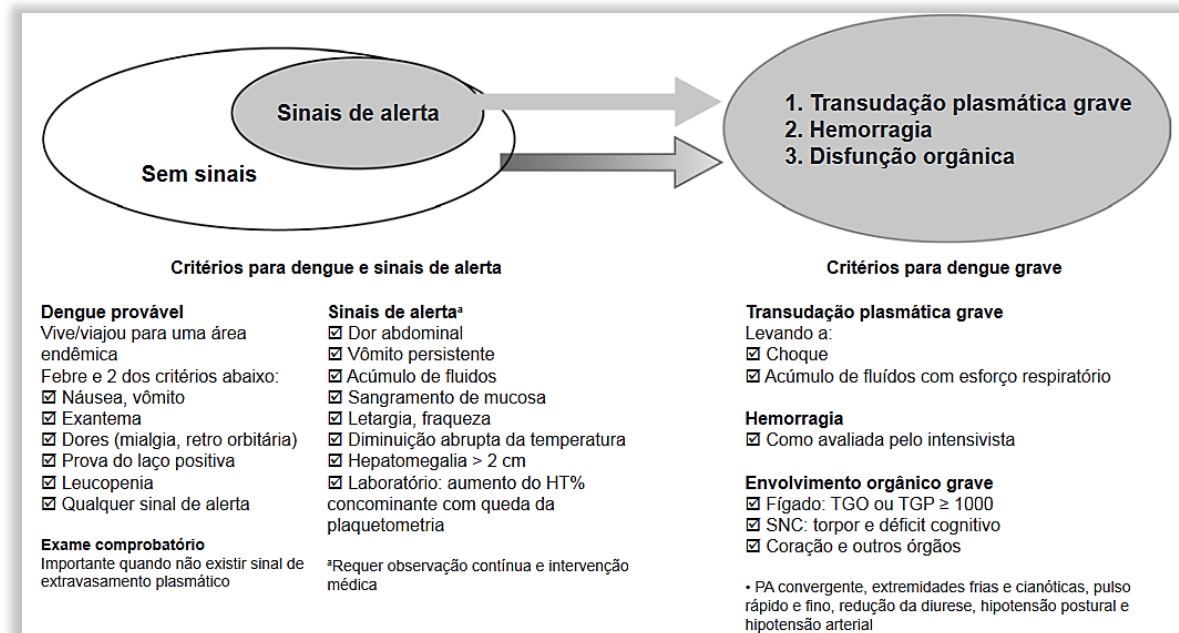
A classificação tradicional da OMS implantada desde 1974 e revisada em 1997 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1997) foi reformulada em 2009 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009) – em razão da baixa especificidade (36%) que esses critérios apresentavam (CHATERJI et al., 2011) – para auxiliar o diagnóstico e a classificação da doença no gerenciamento de casos. Assim, atualmente a dengue é clinicamente classificada como dengue com ou sem sinais de alerta ou dengue grave (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009).

A mais recente classificação lançada em 2009 teve como objetivo melhorar o gerenciamento clínico, após a realização de um estudo clínico multicêntrico prospectivo em regiões endêmicas da Ásia e América Latina (GUZMÁN et al., 2016). Os achados do estudo confirmaram que, ao se usar um conjunto de parâmetros clínicos e/ou laboratoriais, verifica-se uma clara diferença entre pacientes com dengue grave e aqueles com dengue não grave. No entanto, por razões práticas, foi desejável dividir o grande grupo de pacientes com dengue não grave em dois subgrupos – pacientes com sinais de alerta e pacientes sem sinais de alerta. A avaliação dos sinais de alerta é projetada para permitir a identificação precoce de pacientes com manifestações mais graves da doença que necessitem de terapia de suporte. Os critérios para diagnosticar dengue (com ou sem sinais de alerta) e dengue grave são apresentados na Figura 9. Deve-se ter em mente que mesmo pacientes com dengue sem sinais de alerta podem desenvolver dengue grave (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009).

Consequentemente, os esquemas de classificação da OMS podem ser úteis para desencadear a suspeita de dengue. Durante as epidemias, quando a prevalência da dengue é alta, os casos que se enquadram nessas definições podem ser tratados como dengue presuntiva enquanto aguardam resultados de outros testes, no entanto, eles não podem ser usados para um diagnóstico confirmatório de dengue (LOW et al., 2011).

A classificação de 2009 substituiu o sistema anterior da OMS de 1997, que abordava e ressaltava os dois fenômenos patológicos associados à doença: extravasamento de plasma e hemostasia anormal. Sob esta classificação, os pacientes eram designados como tendo a Febre da Dengue – uma doença febril inespecífica e a manifestação mais comum da infecção por DENV – ou FHD e SCD – uma combinação de extravasamento de plasma e coagulopatia, baixo número de plaquetas circulantes (trombocitopenia), às vezes acompanhada por sangramento que pode levar a uma queda rápida da pressão sanguínea e conseqüentemente a choque circulatório e comprometimento orgânico (GUZMÁN et al., 2016; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1997).

Figura 9 – Critérios para classificação da dengue (com e sem sinais de alerta) e dengue grave



HT: hematócrito; TGO: transaminase glutâmico-oxalacética; TGP: transaminase glutâmico-pirúvica; SNC: Sistema nervoso central; PA: pressão arterial.

Fonte: (VERDEAL et al., 2011).

1.7 Gestão, controle e prevenção da dengue

Estratégias de prevenção e controle da dengue tornaram-se mais urgentes com a expansão da distribuição geográfica do vírus e do vetor, e o aumento da incidência de casos graves de dengue nos últimos anos (GUBLER, 1998).

Atualmente, não existem agentes antivirais eficazes para tratar a infecção por dengue, e o tratamento permanece de suporte, com particular ênfase na gestão cuidadosa de fluidos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009). Não há evidências a favor do uso de qualquer

agente terapêutico específico para a dengue, e as melhorias no diagnóstico precoce e a previsão de risco de doença grave são urgentemente necessárias, especialmente em áreas com grande incidência de casos, onde a alocação adequada de recursos limitados é crucial para o resultado (SIMMONS et al., 2012).

Esforços vêm sendo feitos para se concentrar em aspectos fundamentais de prevenção: vigilância para planejamento e resposta, redução da carga de doenças e mudança de comportamentos para melhorar o controle vetorial (GUZMÁN et al., 2010).

Até o recente licenciamento de vacinas, a única abordagem para controlar ou prevenir a transmissão do DENV era através de intervenções direcionadas ao vetor, focadas principalmente no combate às formas adultas do *A. aegypti* utilizando inseticidas e estratégias de conscientização comunitária para eliminação de potenciais criadouros das larvas dos mosquitos. Entretanto o controle deste vetor é imensamente difícil devido a sua estreita relação com humanos (SPERANÇA; CAPURRO, 2007). A maioria dos países endêmicos tem um componente de controle vetorial em seus programas de controle e prevenção da dengue, mas a sua realização é frequentemente insuficiente e/ou ineficaz (GUZMÁN et al., 2010; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2016).

A gestão ambiental é geralmente considerada como um componente essencial da prevenção e controle da dengue, particularmente quando se destinam aos *habitats* mais produtivos do vetor. A redução da fonte, as campanhas de “limpeza”, o esvaziamento e a limpeza regulares de criadouros, instalação de sistemas de abastecimento de água, gestão de resíduos sólidos e planejamento urbano são abrangidos pela gestão ambiental. No entanto, são necessários grandes investimentos em infraestrutura para aumentar o acesso a sistemas de abastecimento de água e de descarte de resíduos sólidos seguros e confiáveis (GUZMÁN et al., 2010).

A proteção oferecida por repelentes para insetos também é importante ferramenta na prevenção da dengue. O repelente ideal é aquele acessível do ponto de vista econômico, seguro, de fácil aplicação e ainda que apresente características como boa eficácia contra a maior variedade possível de insetos, não ser irritante para a pele, ser inodoro ou de odor agradável, deixar o mínimo possível de resíduo na pele e roupas, ser quimicamente estável e ter efeito duradouro. Repelentes como o N,N-dietil-3-metilbenzamida, permetrina, picaridina ou icaridina, já vem sendo usados, mas podem apresentar alguns efeitos colaterais. Alternativas naturais, como o óleo de citronela e o óleo de cravo apresentam desempenho satisfatório, são seguros para o meio ambiente e não tóxicos para os seres humanos, com pouco ou nenhum efeito adverso (KATZ; MILLER; HEBERT, 2008; POLONI, 2013).

Atualmente desenvolveu-se também uma nova estratégia de controle de vetores natural e autossustentável, que consiste na introdução de *Wolbachia* – uma espécie de bactéria simbiote intracelular, inofensiva ao homem e a animais domésticos, encontrada naturalmente em mais de 60% dos insetos. A *Wolbachia* é capaz de reduzir pela metade o tempo de vida de um mosquito adulto e é capaz de produzir incompatibilidade citoplasmática – fêmeas com *Wolbachia* sempre geram filhotes com *Wolbachia* no processo de reprodução, seja ao se acasalar com machos sem a bactéria ou machos com a bactéria; e quando as fêmeas sem *Wolbachia* se acasalam com machos com a *Wolbachia*, os óvulos fertilizados morrem (MOREIRA et al., 2009; ZARA et al., 2016). Outra técnica avançada desenvolvida é a liberação de mosquitos transgênicos e machos estéreis para reduzir o número de mosquitos selvagens (FARES et al., 2015).

Do mesmo modo, devem ser promovidas abordagens inovadoras para prevenir a transmissão do vírus, como a modificação das populações de mosquitos. Uma melhor compreensão da epidemiologia atual da doença e o potencial de sua disseminação futura também ajudaria os formuladores de políticas na alocação de recursos para combater este desafio global de saúde pública (SIMMONS et al., 2012).

Como resultado da falha no controle de vetores, da disseminação contínua e a intensidade crescente da dengue renovaram-se o interesse e o investimento no desenvolvimento de vacinas seguras, eficazes e acessíveis contra a dengue, sendo uma prioridade de saúde pública global. Há décadas encontram-se em andamento o desenvolvimento de várias vacinas, no entanto, a patologia complexa da doença e a necessidade de se gerar imunidade para os quatro sorotipos de vírus simultaneamente dificultaram o progresso (HOMBACH, 2007). Somado a isto, a dificuldade de se obter modelos animais para testar a efetividade das vacinas contra as formas hemorrágicas da doença sempre foi um desafio para o desenvolvimento de vacinas contra a dengue (SHU; HUANG, 2004).

Com isso, a primeira vacina de dengue produzida pela Sanofi Pasteur, Dengvaxia® (CYD-TDV), foi registrada somente em dezembro de 2015, no México e aprovada no Brasil, no mesmo ano pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). CYD-TDV é uma vacina de dengue recombinante e atenuada, tetravalente, composta de vírus quimérico da febre amarela e dos 4 sorotipos da dengue. O cronograma de vacinação consiste em 3 doses administradas em intervalos de 6 meses, sendo indicada para indivíduos entre 9-45 anos de idade e que moram em áreas endêmicas, contudo a duração da proteção e a necessidade de reforços ainda é incerta. No momento não há dados suficientes para a comprovação da

segurança de uso da vacina em indivíduos menores de 9 anos de idade, bem como para os brasileiros maiores que 45 anos (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2016; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2016).

A vacina apresentou uma eficácia global contra dengue confirmada contra qualquer sorotipo da dengue de 65,6% na população acima de nove anos de idade. A eficácia nessa população foi de 58,4% contra o sorotipo 1, 47,1% contra o sorotipo 2, 73,6% contra o sorotipo 3 e de 83,2% contra o sorotipo 4. As reações adversas locais e sistêmicas da CYD-TDV são comparáveis às outras vacinas de vírus atenuados registradas. A duração da proteção e a necessidade de reforços ainda é incerta. Existem aproximadamente cinco candidatos adicionais a vacinas em avaliação em ensaios clínicos, incluindo outras vacinas de vírus atenuado, bem como com subunidades de ácido desoxirribonucleico (DNA) e vírus inativados purificados (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2016; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2016).

A introdução da vacina contra a dengue deve ser parte de uma estratégia abrangente de controle da dengue, incluindo controle vetorial bem executado e sustentado, melhores práticas baseadas em evidências para cuidados clínicos a todos os pacientes com doença e forte vigilância da dengue (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2016).

1.8 Diagnóstico laboratorial da dengue

O diagnóstico é um elemento fundamental do atendimento ao paciente (DINNES et al., 2005). Os métodos de diagnóstico da dengue são complexos, a julgar pela dificuldade na identificação da doença envolvendo apenas dados clínicos e epidemiológicos. Dito isto, um dos fatores mais importantes e necessários para o diagnóstico clínico e gerenciamento da dengue, para a vigilância epidemiológica, prevenção e controle de surtos, estudos de patogênese e pesquisa e desenvolvimento de vacinas é a disponibilidade de métodos rápidos, sensíveis e específicos para detectar a infecção viral. A falta de ensaios com essas características, além de serem simples e econômicos, continua a ser o principal obstáculo para o desenvolvimento de ferramentas de diagnóstico para a detecção do DENV e neste contexto, vários testes comerciais têm sido desenvolvidos (GYAWALI; TAYLOR-ROBINSON, 2017; LIMA, 2009).

Idealmente, um teste para detecção da dengue deve ser rápido, simples, com alta sensibilidade e especificidade, capaz de detectar dengue em qualquer fase da doença, preferencialmente capaz de distinguir infecções primárias e secundárias, bem como os

diferentes sorotipos. Entretanto, esse teste ideal ainda não foi materializado devido **(i)** à complexidade da patogênese da dengue; **(ii)** hiperendemicidade e múltiplas infecções sequenciais e **(iii)** condições clínicas de pacientes incluindo viremia e resposta de anticorpos (SEKARAN; RATHAKRISHNAN; YEO, 2014). Além do que, as características de um teste “ideal” para diagnóstico de dengue dependem da finalidade para a qual o teste será usado (PEELING et al., 2010). Em geral, o diagnóstico laboratorial da dengue visa: 1) confirmação laboratorial, sorológica e/ou virológica da infecção; 2) identificação de sorotipos circulantes; 3) confirmação laboratorial de casos graves e fatais; 4) suporte para investigações epidemiológicas para determinar os níveis de transmissão da doença; e 5) realização de estudos moleculares para identificar os genótipos existentes na região (VORNDAM; KUNO, 1997).

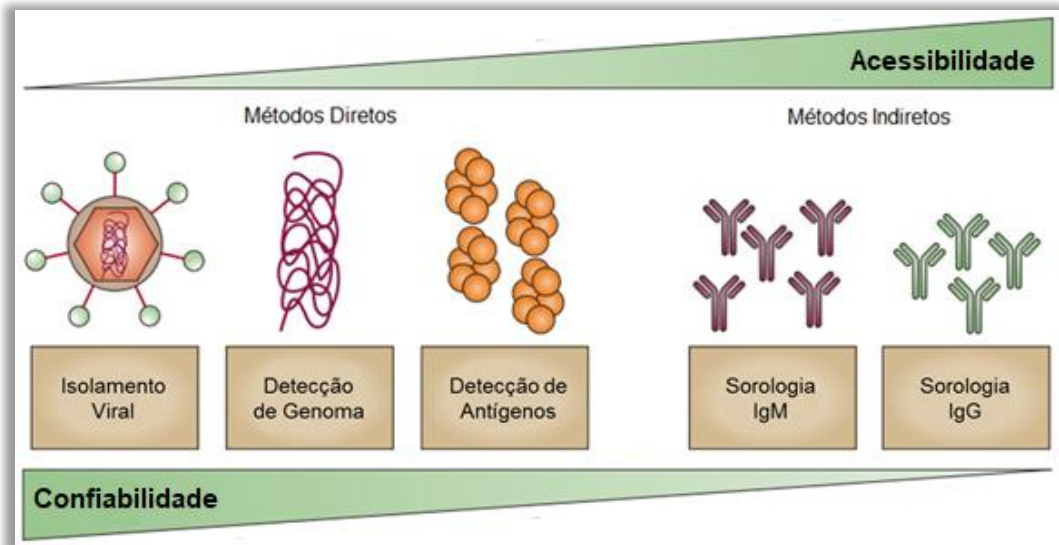
O diagnóstico de dengue começa com uma suspeita clínica, motivada pelo reconhecimento de uma coleção de sinais e sintomas apresentados. Na fase febril aguda precoce da doença, os pacientes com dengue frequentemente apresentam uma história de febre de aparecimento repentino, que muitas vezes é acompanhada de náuseas e dores. Infelizmente, esses sintomas não são exclusivos da dengue e são relatados com outras doenças febris. Por esse motivo também o diagnóstico preciso da dengue é importante para diferenciá-la de outras doenças, como leptospirose, rubéola e outras infecções por flavivírus. É aqui que os métodos de confirmação laboratorial são vitais para descobrir o agente etiológico e permitir o manejo e tratamento adequado da doença (GUZMÁN; KOURI, 2004; SEKARAN; RATHAKRISHNAN; YEO, 2014; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009).

À medida que o diagnóstico clínico não possui especificidade, um diagnóstico definitivo de infecção por dengue requer confirmação laboratorial (TANG; OOI, 2012). A janela ideal para o diagnóstico de uma infecção por dengue é aproximadamente a partir do início da febre a 10 dias após a infecção, no entanto, como nem todos os pacientes são diagnosticados nesse período, um teste de diagnóstico ideal deve ser sensível, independentemente do estágio da infecção (PEELING et al., 2010).

A Figura 10 mostra as opções de diagnóstico, que incluem ensaios para detectar o vírus ou seus componentes (genoma e antígeno) ou a resposta do hospedeiro ao vírus (anticorpos) (GUZMÁN; HARRIS, 2015). Enquanto os métodos diretos demonstram maior confiabilidade, os métodos indiretos apresentam maior oportunidade de diagnóstico, sendo os mais amplamente utilizados na prática (GUZMÁN et al., 2014). Assim, o diagnóstico específico de infecções por DENV pode ser feito por técnicas de isolamento viral, métodos moleculares para detecção do genoma e métodos de detecção de antígenos durante os estágios

iniciais da doença e/ou métodos sorológicos para detecção de anticorpos no final da fase aguda da doença (GUBLER, 1998; GUZMÁN et al., 2014). Todos esses métodos têm limitações e seus desempenhos dependem do estágio da doença quando a coleta da amostra foi realizada (GUZMÁN; KOURI, 2004).

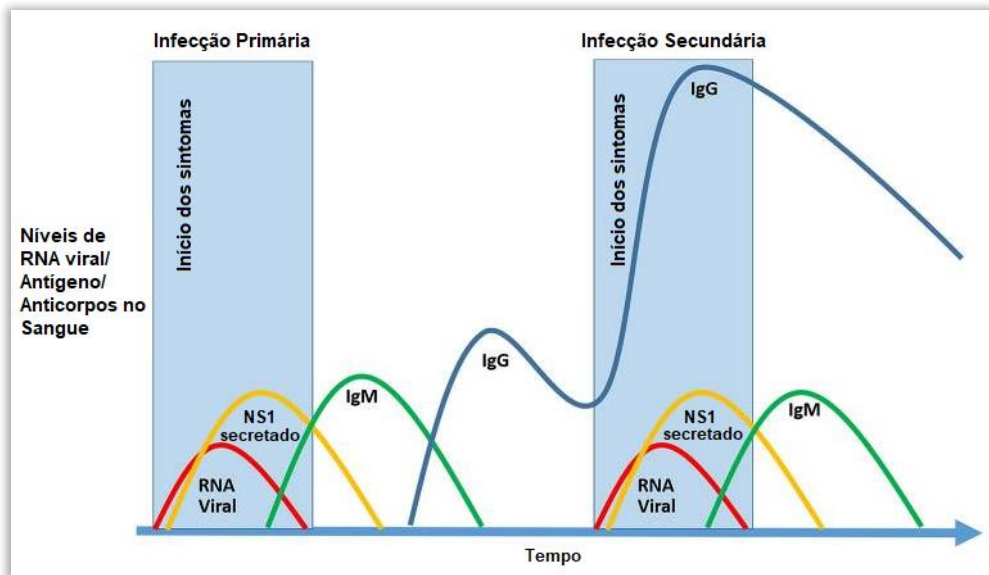
Figura 10 – Méritos comparativos de métodos laboratoriais diretos e indiretos para o diagnóstico de infecções por dengue



Fonte: (Adaptado de PEELING et al., 2010).

A escolha do ensaio depende, além do momento da coleta da amostra (tempo de infecção), da resposta imune e da finalidade do teste (GUZMÁN et al., 2014). A interpretação dos testes de diagnóstico da dengue é amplamente influenciada pela dinâmica da infecção pelo DENV, apresentada na Figura 11. Após a infecção inicial, o DENV apresenta tropismo celular específico com rápida replicação em células imunes, fígado e células endoteliais, exibindo pico de viremia no momento ou logo após o início dos sintomas (ZHANG et al., 2015). A viremia é detectável 24-48 horas antes do início dos sintomas, e continua por aproximadamente 4-5 dias, e correlaciona-se estreitamente com a duração da febre. Durante esse período, o vírus infeccioso, seu RNA específico e a proteína NS1 podem ser detectados no sangue total, soro (amostra de escolha na maioria dos métodos) e plasma do paciente, e também nos tecidos de casos fatais – DENV também pode ser isolado do fígado, baço, linfonodos e outros tecidos (GUZMÁN et al., 2016; GUZMÁN; HARRIS, 2015; PEELING et al., 2010). No entanto, durante uma infecção secundária, a duração da viremia pode ser de 2-3 dias, enquanto que a presença de antígenos NS1 no sangue dura um pouco mais (HALSTEAD, 2007).

Figura 11 – Perfis e cinética do aparecimento do antígeno (NS1) e anticorpos (IgM e IgG) em infecções primárias e secundárias por DENV



Fonte: (Adaptado de PANG et al., 2017).

Os procedimentos diretos de detecção de vírus não são rotineiramente realizados por laboratórios, e poucos *kits* comerciais que foram independentemente validados estão disponíveis para auxiliar nesta área de diagnóstico de dengue (PEELING et al., 2010).

1.8.1 Isolamento viral

A detecção direta do vírus pode ser potencialmente utilizada para a identificação precoce, definitiva e sorotipo-específica das infecções por dengue durante a fase aguda da doença (PEELING et al., 2010).

O isolamento do vírus, seguido por revelação da presença das partículas virais através de anticorpos específicos, é considerado a técnica padrão-ouro e fornece a abordagem mais direta, específica e conclusiva no diagnóstico da dengue (SHU; HUANG, 2004; ZHANG et al., 2015). Entretanto, como requer entre 7-14 dias para obter resultados, é um ensaio inadequado para o diagnóstico precoce da infecção por dengue (CASENGHI et al., 2014). O DENV pode ser isolado pela inoculação de amostras sanguíneas suspeitas em mosquitos, cultura celular – usando linhagens de células de mosquito, como C6/36 do *A. albopictus* e AP61 do *A. pseudoscutellaris*, ou linhagens celulares de mamíferos, como células Vero (rim de macaco-verde africano) e LLC-MK2 (rim de macaco *Rhesus*) – ou pelo método mais antigo e menos sensível de inoculação intracerebral de camundongos (GUZMÁN; KOURI, 2004). Como a inoculação em mosquitos apresenta muitas desvantagens, como risco de

infecção laboratorial, o fato de ser uma técnica excessivamente laboriosa e de necessitar da criação e manutenção de um insetário para produção de um grande número de mosquitos, o que não está disponível na maioria dos laboratórios de virologia, a cultura celular tem sido o método preferível para o diagnóstico de rotina pelo isolamento viral (GUZMÁN; KOURI, 2004; SAMUEL; TYAGI, 2006).

O sangue total, soro ou plasma é coletado de pacientes durante a fase aguda da doença, de 0 a 7 dias após o início dos sintomas, ou de tecidos em casos fatais. Há evidências de que as taxas de isolamento do vírus do sangue total são consideravelmente maiores do que as taxas de isolamento do soro ou plasma (PEELING et al., 2010). Após um período de incubação que permite a replicação do vírus, a identificação viral é realizada usando anticorpos monoclonais dengue-específicos em ensaios de imunofluorescência e reação em cadeia da polimerase (PCR, *Polymerase Chain Reaction*) (GUZMÁN et al., 2010). A sensibilidade diagnóstica depende do tempo de coleta de amostras, armazenamento adequado e transporte. Uma vez que a partícula do DENV é termolábil, é necessário o manuseio apropriado e a pronta entrega ao laboratório (GUZMÁN; KOURI, 2004).

1.8.2 Detecção do genoma viral

As técnicas moleculares baseadas na detecção de RNA viral são consideradas significativas para o diagnóstico precoce de infecção por DENV, uma vez que são capazes de identificar o vírus na fase aguda da doença, permitindo um tempo de resposta mais rápido (24 a 48 horas), e também para a identificação rápida de sorotipos do DENV (GUZMÁN; KOURI, 2004).

Para o diagnóstico de rotina da infecção pelo DENV, os testes de amplificação de ácidos nucleicos (NAAT, *Nucleic Acid Amplification Test*) mais utilizados são a PCR via transcriptase reversa (RT-PCR, *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction*) e amplificação baseada na sequência de ácidos nucleicos (NASBA, *Nucleic Acid Sequence Based Amplification*). Estes métodos fornecem diagnóstico rápido, sensível e específico para detecção do genoma do DENV e confirmação de infecção por dengue, porém apresentam as desvantagens de possíveis resultados falsos positivos devido à contaminação da amostra, incapacidade de distinguir entre infecção primária e secundária, e custo relativamente alto, pois exigem equipamentos caros e profissionais com experiência em técnicas moleculares (SUBEDI; TAYLOR-ROBINSON, 2014).

A RT-PCR convencional é um método que possibilita a amplificação de sequências genômicas específicas de RNA delimitadas por iniciadores (*primers*). Os passos comuns envolvidos na detecção do genoma são a extração e purificação de ácido nucleico, amplificação de DNA precedida por uma reação de transcrição reversa, produzindo ácido desoxirribonucleico complementar (cDNA) a partir do RNA alvo e caracterização de produtos amplificados. Uma alíquota da reação de amplificação é submetida à eletroforese em gel de agarose, sendo posteriormente corada, permitindo a visualização do produto de amplificação sob iluminação ultravioleta para confirmação da detecção do genoma viral. Uma das aplicações mais importantes da PCR é o estudo da variabilidade genética das cepas, a fim de identificar a origem das epidemias e revelar marcadores de virulência (GUZMÁN et al., 2010; GUZMÁN; KOURI, 2004; PEELING et al., 2010).

A RT-PCR em tempo real (*Real-Time RT-PCR*) é um ensaio de um único passo que permite quantificar o título de vírus em cerca de 1,5 horas. A detecção do alvo amplificado por sondas fluorescentes substitui a necessidade de eletroforese pós-amplificação do método de RT-PCR convencional. Seu formato de ensaio muito mais robusto possui mais vantagens, incluindo rapidez, capacidade de fornecer medidas quantitativas, menor taxa de contaminação, maior sensibilidade e especificidade e fácil padronização (GUZMÁN et al., 2010; GUZMÁN; KOURI, 2004; PEELING et al., 2010; POLONI, 2013).

O ensaio NASBA é uma técnica de amplificação isotérmica específica de RNA que não requer o uso de um termociclador. Um passo inicial de transcrição reversa é seguido por transcrição para sintetizar o RNA que é detectado pela fluorescência. Tem especificidade e sensibilidade significativas, comparável à do isolamento do vírus, e pode ser particularmente útil em estudos de campo da infecção por dengue (WU et al., 2001).

A RT-PCR e o RT-PCR em tempo real tornaram-se os métodos de escolha para a detecção do genoma e vem gradualmente substituindo o isolamento viral por cultura celular e por inoculação em mosquitos como o “padrão-ouro” (GUZMÁN; HARRIS, 2015; GYAWALI; TAYLOR-ROBINSON, 2017).

1.8.3 Detecção de antígenos

Vários estudos têm sugerido que a detecção do antígeno NS1 poderia ser um método útil para o diagnóstico precoce da dengue, uma vez que aparece no início da infecção, antes do surgimento dos primeiros anticorpos, em contraste com a imunoglobulina M (IgM), que é detectada mais tardiamente. O NS1, uma glicoproteína altamente conservada nos quatro

sorotipos, essencial para viabilidade do DENV, está presente na circulação sanguínea de pacientes infectados desde o primeiro dia de infecção até aproximadamente o nono dia, inclusive durante as reinfecções, com maior sensibilidade nos primeiros cinco dias de doença (ALCON et al., 2002; PINHO, 2013; YOUNG et al., 2000), permanecendo detectável em soros convalescentes até mesmo catorze dias após o início da febre (HU et al., 2011). O NS1 circula em níveis na faixa de ng.ml^{-1} até mg.ml^{-1} durante a fase aguda da infecção, seus níveis sanguíneos correlacionam-se com o pico de viremia e a gravidade da doença na infecção secundária por DENV (LIBRATY et al., 2002).

Como esta proteína é secretada na corrente sanguínea como um hexâmero solúvel, muitos testes foram desenvolvidos para diagnosticar infecções por DENV usando NS1. Estes testes incluem o ensaio imunoenzimático (ELISA, *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) de captura de antígeno e testes rápidos (TRs) imunocromatográficos para detecção de antígeno (GUZMÁN et al., 2010). Este último, muito eficaz para o diagnóstico precoce da infecção, pois fornece resultados em até 30 minutos.

O progresso em direção à detecção de antígeno em amostras de soro de fase aguda por sorologia tem sido lento devido à flutuação dos níveis de NS1 ao longo do curso da doença, ocasionando baixa sensibilidade do ensaio para pacientes com infecções secundárias, pois ocorre uma diminuição mais precoce nos níveis de NS1 e esses pacientes também possuem imunocomplexos de vírus-anticorpos imunoglobulina G (IgG) preexistentes (PANG et al. 2017; SHU; HUANG, 2004).

1.8.4 Ensaios sorológicos baseados na detecção de anticorpos IgM e IgG

Os testes sorológicos são mais comumente utilizados no diagnóstico de infecções por dengue devido à simplicidade e facilidade de uso, e por requerer poucos equipamentos sofisticados em comparação com técnicas como a cultura celular ou a detecção de RNA (GUBLER, 1998).

Os principais métodos sorológicos para detecção de anticorpos anti-dengue são inibição da hemaglutinação (IH), fixação do complemento, neutralização e ELISA. Tradicionalmente, o teste de IH foi utilizado para detectar e diferenciar as infecções primárias e secundárias do DENV devido à sua simplicidade, sendo considerada a técnica padrão-ouro para detecção de anticorpos, mas atualmente tornou-se menos empregada (SHU; HUANG, 2004), sendo substituído pelo ELISA de captura de anticorpos IgM (MAC-ELISA), ELISA

indireto para a detecção de anticorpos da classe IgG e TRs imunocromatográficos para detecção de IgM e IgG (CASENGHI et al., 2014).

O teste MAC-ELISA baseia-se na detecção de anticorpos IgM específicos da dengue no soro, capturados por anticorpos anti-IgM (o anticorpo de captura) aderidos a fase sólida. (GUZMÁN; KOURI, 2004; VORNDAM; KUNO, 1997). O ensaio utiliza uma mistura de quatro antígenos de dengue e a presença dos antígenos é detectada usando anticorpo antiviral conjugado a enzima. Um resultado colorimétrico é gerado pela interação da enzima e um substrato cromogênico e essa alteração colorimétrica é detectada por um espectrofotômetro (CENTROS DE CONTROLE E PREVENÇÃO DE DOENÇAS, 2016; GUZMÁN et al., 2010).

Os resultados positivos dos testes baseados em IgM da dengue apenas sugerem infecção recente com dengue e não implicam necessariamente que a infecção por dengue seja a causa da doença febril atual, e os resultados negativos não excluem a infecção por dengue (ZHANG et al., 2015).

Um ELISA para detecção de IgG específica de dengue pode ser usado para confirmar uma infecção por dengue em soros pareados, como também é amplamente utilizado para distinguir infecções primárias ou secundárias. Alguns protocolos usam diluições de soro para o título de IgG específico de dengue e outros usam a proporção de IgM/IgG (GUZMÁN et al., 2010).

Os testes ELISA têm a vantagem de permitir o processamento rápido de múltiplas amostras em configurações onde um laboratório com equipamento adequado, fonte de energia e profissionais qualificados estão disponíveis (CASENGHI et al., 2014).

Em comparação com outras técnicas disponíveis, estas geralmente são menos dispendiosas e, notadamente, podem discriminar entre infecção primária e secundária. No entanto, a interpretação de um diagnóstico sorológico pode ser difícil, uma vez que um paciente pode estar infectado com mais de um sorotipo, o anticorpo IgG anti-dengue pode reagir de forma cruzada com outros antígenos de flavivírus, infecções passadas ou recentes são difíceis de distinguir e níveis de IgM podem ser relativamente baixos em certas infecções secundárias (SUBEDI; TAYLOR-ROBINSON, 2014).

A resposta imune do hospedeiro à infecção por dengue é a base do diagnóstico sorológico, e consiste na produção de anticorpos, dirigidos principalmente contra as proteínas E do DENV, que é geralmente distinta de pacientes com infecções primárias (com dengue ou outro Flavivírus) e secundárias (GUZMÁN; KOURI, 2004). Em uma infecção primária, a IgM, na maioria dos pacientes (cerca de 93%) começa a ser detectável no soro após 5-6 dias

do início dos sintomas/febre, no décimo dia de doença essa porcentagem sobe para 99%. Os níveis de IgM aumentam rapidamente e atingem seu pico por volta de duas semanas, permanecendo detectáveis por até 2-3 meses, o que faz desses anticorpos indicadores de infecções ativas ou recentes, sendo o teste mais utilizado na vigilância laboratorial (BHAT et al., 2015; GUBLER, 1998).

Anticorpos IgG começam a aparecer como resposta primária alguns dias depois dos anticorpos IgM, conforme mostrado na Figura 11, tornando-se menos útil para o diagnóstico precoce. Os títulos de IgG aumentam relativamente devagar sendo detectáveis a partir do final da primeira semana de infecção, atingindo seu ápice algumas semanas depois, e em seguida, diminuindo para níveis mais baixos, que persistem por décadas e permanecem detectáveis por toda a vida (INNIS et al., 1989; KORAKA et al., 2001; WAHALA; DE SILVA, 2011).

A IgG possui níveis mais elevados durante as infecções secundárias como pode ser visto na Figura 11, evoluindo rapidamente logo após o início da febre. Os níveis de IgM na resposta secundária são consideravelmente mais baixos do que na resposta primária, e em alguns casos pode ser indetectável (GUZMÁN; HARRIS, 2015; PINHO, 2013).

O rápido aumento dos níveis de IgG durante a infecção secundária (já no dia 4 do início da doença) pode ser sugestivo de dengue quando a proporção de IgM e IgG é utilizada (TANG; OOI, 2012). A relação IgM/IgG é frequentemente utilizada para discriminar a infecção primária e secundária. Se a relação da densidade óptica IgM/IgG, medida pelo título, for superior a 1,2 (usando soro de paciente em diluição de 1/100), a amostra é considerada como obtida de infecção primária, enquanto uma relação IgM/IgG inferior a 1,2 é indicativa de infecção secundária (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009). A detecção de antígenos no estágio agudo de infecções secundárias pode ser comprometida por imunocomplexos de IgG-vírus preexistentes (PEELING et al., 2010).

Dada a natureza dinâmica do antígeno NS1, e níveis de anticorpos IgM e IgG durante a doença aguda, esforços foram feitos para combinar os três testes em uma única reação para facilidade de uso. Alguns deles demonstraram ter uma sensibilidade (89-93%) e especificidade (75-100%) diagnóstica promissoras, mas ainda se faz necessário mais estudos (TANG; OOI, 2012).

1.9 Testes rápidos imunocromatográficos

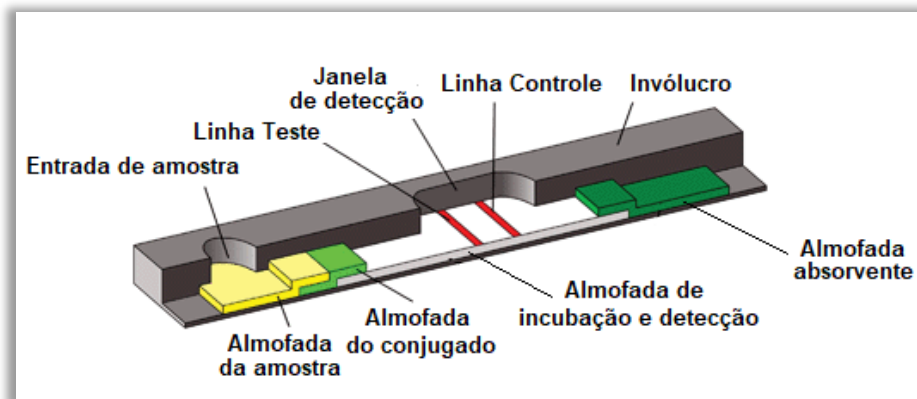
Os TRs são aqueles cuja execução, leitura e interpretação dos resultados são feitas em no máximo 30 minutos, além disso, são de fácil execução e não necessitam de estrutura

laboratorial. Os formatos mais frequentemente utilizados de TRs são: imunocromatografia de fluxo lateral e imunocromatografia de dupla migração (ou de duplo percurso – DPP) (BRASIL, 2017). TRs por imunocromatografia de fluxo lateral são comparáveis aos ELISAs, embora não substituam esse formato de ensaio (POSTHUMA-TRUMPIE; KORF; VAN AMERONGEN, 2009).

Os TRs por imunocromatografia foram desenvolvidos devido à necessidade de uma detecção rápida e eficaz. O valor do formato imunocromatográfico é a rápida obtenção de um resultado em virtude de uma mudança de cor que é visível a olho nu (GYAWALI; TAYLOR-ROBINSON, 2017).

Uma tira de TR de fluxo lateral típica (Figura 12) consiste em membranas sobrepostas que são montadas em um cartão de suporte para melhor estabilidade e manuseio (KOCZULA; GALLOTTA, 2016). A membrana é muitas vezes fina e frágil, por isso é acoplada a uma camada básica de plástico ou nylon para permitir o corte e o manuseio. Além disso, a robustez é alcançada ao alojar as tiras em um suporte de plástico, onde apenas a janela de aplicação de amostra e uma janela de leitura estão expostas (POSTHUMA-TRUMPIE; KORF; VAN AMERONGEN, 2009).

Figura 12 – Configuração típica de uma tira de teste rápido imunocromatográfico de fluxo lateral



Componentes da tira geralmente fixados em um material de suporte inerte: almofada da amostra (entrada e filtragem de amostras); almofada do conjugado (agentes reativos e moléculas de detecção); zona de incubação e detecção com linhas teste e controle (detecção de analito e teste de funcionalidade) e almofada absorvente final. Fonte: (Adaptado de MARK et al., 2010).

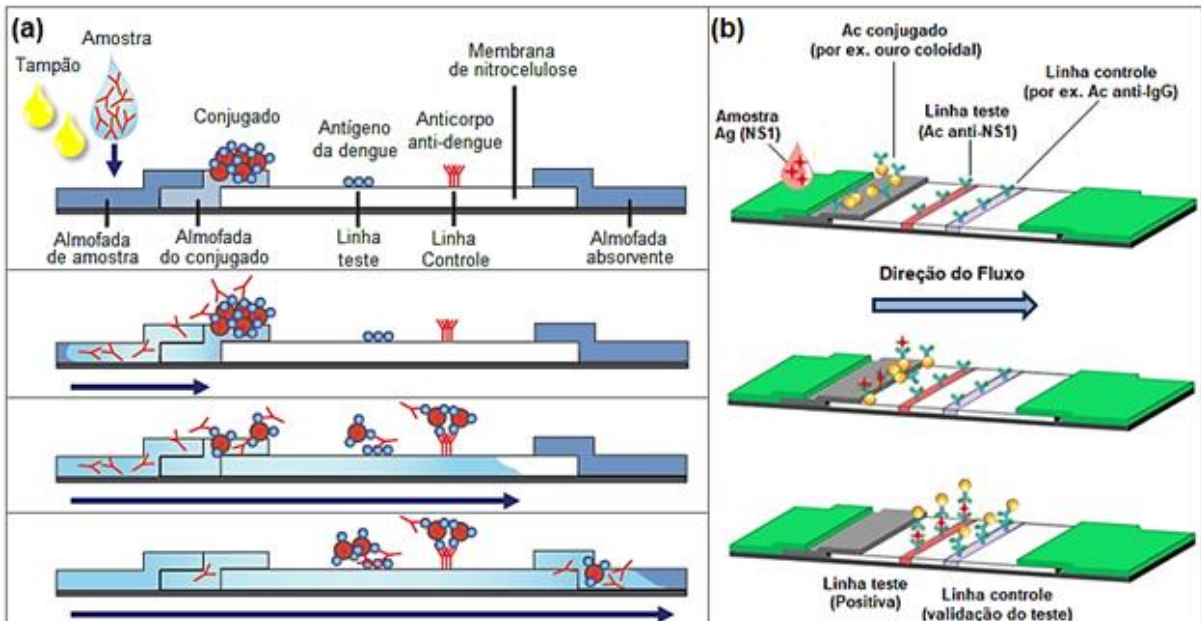
A amostra é aplicada em uma extremidade da tira, na almofada de amostra, que garante que o analito presente na amostra seja capaz de se ligar aos reagentes de captura conjugados na membrana. A amostra tratada migra por capilaridade através da almofada de liberação do conjugado, que contém substâncias (anticorpos/antígenos específicos para o

analito alvo) conjugadas com partículas coloridas ou fluorescentes – as mais comuns são microesferas de látex e ouro coloidal. A amostra, juntamente com o anticorpo/antígeno conjugado ligado ao analito alvo, migra através da tira para a zona de detecção, uma membrana porosa (geralmente composta de nitrocelulose) com componentes biológicos específicos (principalmente anticorpos ou antígenos) imobilizados em linhas. O seu papel é reagir com o analito ligado à substância conjugada. A linha controle mostra um teste processado com sucesso, enquanto a linha teste (detecção) mostra a presença ou ausência de um analito específico. A leitura, representada pelas linhas coloridas que aparecem, pode ser avaliada ao olho nu. O líquido flui através do dispositivo por causa da força capilar do material da tira e, para manter esse movimento, uma almofada absorvente está presa no final da tira, para absorver o excesso de reagentes e evitar o refluxo do líquido (KOCZULA; GALLOTTA, 2016; MARK et al., 2010).

Muitos *kits* de TRs que utilizam o princípio da imunocromatografia estão comercialmente disponíveis. A maioria desses *kits* de diagnóstico pode detectar antígenos de dengue (NS1) e anticorpos IgM e/ou IgG contra o DENV, simultaneamente ou separados, em sangue total, soro ou plasma (GYAWALI; TAYLOR-ROBINSON, 2017; SHU; HUANG, 2004).

O princípio do TR imunocromatográfico para detecção de anticorpos (IgM e/ou IgG) baseia-se na sensibilização de antígenos recombinantes (de todos os sorotipos) do envelope viral conjugados com ouro coloidal que captura imunoglobulinas específicas do DENV presentes na amostra do paciente formando um complexo antígeno-anticorpo, que migra por capilaridade ao longo da membrana de nitrocelulose (Figura 13a). A amostra é aplicada na respectiva cavidade, seguida pela adição de um tampão de corrida. O tampão propicia o fluxo lateral, promovendo a ligação dos anticorpos (se presentes na amostra) aos antígenos conjugados ao ouro coloidal. Caso a amostra seja positiva, o complexo “imuno-conjugado” migra na membrana, sendo capturado pelos antígenos fixados na linha teste, produzindo uma linha roxa/rosa. Na ausência de anticorpos para dengue, a linha não aparecerá. Em todos os casos, a amostra continua a migrar na membrana produzindo uma linha roxa/rosa na linha controle, o que demonstra o funcionamento adequado dos reagentes e da reação. A leitura do teste é visual com o aparecimento de banda(s) colorida(s) referente(s) ao resultado positivo e ausência de banda para os resultados negativos, sendo obtidos no período de até 30 minutos, dependendo das recomendações de uso determinadas pelos diferentes fabricantes (BORGES, 2017; FRY et al., 2011; RIBAS-SILVA; EID, 2012; SANCHEZ, 2001).

Figura 13 – Representação esquemática de testes rápidos imunocromatográficos para detecção de anticorpos e antígenos da dengue



Representação esquemática do mecanismo do ensaio para detecção de: (a) Anticorpos e (b) Antígenos. A amostra é depositada na almofada de amostra e migra para o conjugado. Os anticorpos (Ac) ou antígenos (NS1) conjugados se ligam ao analito presente na amostra e migram para a linha de teste onde são capturados.

Fonte: (Adaptado de (a) PATH, 2008; (b) KOCZULA; GALLOTTA, 2016).

Já para detecção qualitativa do antígeno NS1 (Figura 13b), amostras contendo antígeno NS1 ligam-se ao conjugado anti-NS1 marcado com ouro coloidal, cujo imuno-complexo migra por capilaridade pela membrana do teste indo se ligar aos anticorpos monoclonais anti-NS1 presentes na área teste, determinando o surgimento de uma banda colorida nesta área. Na área controle sempre aparecerá uma banda colorida, demonstrando que os reagentes estão funcionando corretamente (BUONORA et al., 2016).

A realização do teste não necessita de instrumentação sofisticada, e requer experiência laboratorial mínima para seu uso. Além disso, o formato imunocromatográfico do ensaio é adequado para implementação em configurações descentralizadas (CASENGHI et al., 2014; BUONORA et al., 2016). Esse tipo de teste é extremamente atraente para clínicas e postos de saúde, consultórios médicos, salas de emergência, pequenos hospitais, e instalações mais isoladas, e seu uso para a detecção da dengue tornou-se cada vez mais popular, particularmente nos países em desenvolvimento, devido à sua simplicidade e acessibilidade (FRY et al., 2011; SANCHEZ, 2001).

Assim, esses testes têm um grande potencial para fornecer diagnóstico oportuno de infecção viral por dengue e melhorar significativamente o gerenciamento de pacientes. Uma alta sensibilidade e alta especificidade são desejáveis para dar suporte ao gerenciamento individual de pacientes, especialmente em contextos de recursos limitados, onde o

encaminhamento rápido de resultados FP ou FN para o diagnóstico posterior é muitas vezes inadequado (CASENGHI et al., 2014).

1.10 Sensibilidade e especificidade diagnóstica

A validade de um teste diagnóstico é definida principalmente por duas de suas propriedades intrínsecas: sensibilidade e especificidade clínica ou diagnóstica. Entende-se por validade ou acurácia diagnóstica o grau pelo qual o instrumento/técnica/procedimento utilizado na mensuração é capaz de determinar o verdadeiro valor daquilo que está sendo medido (WALDMAN, 1998).

A sensibilidade é definida como a probabilidade de um teste dar positivo na presença da doença ou condição investigada; avalia a capacidade do teste diagnóstico detectar e identificar corretamente os indivíduos verdadeiramente positivos. É estimada da seguinte forma (ALTMAN; BLAND, 1994; NUNES et al., 2015):

$$\text{Sensibilidade (\%)} = \frac{\text{Verdadeiros Positivos}}{\text{Verdadeiros Positivos} + \text{Falsos Negativos}} \times 100$$

A especificidade é a probabilidade de um teste dar negativo na ausência da doença ou condição investigada; avalia a capacidade do teste diagnóstico detectar os verdadeiros negativos, isto é, identificar corretamente os indivíduos sadios. É estimada da seguinte forma (ALTMAN; BLAND, 1994; NUNES et al., 2015):

$$\text{Especificidade (\%)} = \frac{\text{Verdadeiros Negativos}}{\text{Falsos Positivos} + \text{Verdadeiros Negativos}} \times 100$$

A acurácia não é uma propriedade fixa de um teste e pode variar dependendo de onde e como o estudo foi realizado, em que pacientes foram realizados ou entre subgrupos de pacientes, de diferentes espectros de doença, da configuração clínica, com os avaliadores do teste, se o estudo estava falho e pode depender dos resultados do teste prévio (LEEFLANG et al., 2008; LEEFLANG, 2014).

O estabelecimento da acurácia diagnóstica é de fundamental importância para a tomada de decisões na área da saúde, sendo relevante para a escolha dos testes de

rastreamento na população, assim como, para prever o curso de diversas terapias ou fornecer alguma indicação do prognóstico do paciente (OLIVEIRA et al., 2010).

A Figura 14 mostra as relações entre os resultados de um teste e o diagnóstico verdadeiro, no qual o teste é considerado positivo ou negativo, e a doença presente ou ausente. Assim, na avaliação de um teste diagnóstico existem 4 interpretações possíveis para o resultado do teste: duas em que o teste está correto e duas em que está incorreto. O teste está correto quando ele é positivo na presença da doença (VP), ou negativo na ausência da doença (VN). Por outro lado, o teste está incorreto quando ele é positivo na ausência da doença (FP), ou negativo quando a doença está presente (FN). Os melhores testes diagnósticos são aqueles com poucos resultados falso-positivos e falso-negativos (SANTOS, 2016).

Figura 14 – Combinação binária entre os prováveis resultados obtidos em um determinado teste e o diagnóstico verdadeiro da doença

		Padrão Ouro			
		Com doença	Sem doença		
Teste	Positivo	Verdadeiro Positivos VP	Falso Positivos FP	VP + FP	VP+FP + FN+VN
	Negativo	Falso Negativos FN	Verdadeiro Negativos VN	FN + VN	
		VP + FN	FP + VN		

Legenda: FN (falso negativo); FP (falso positivo); VN (verdadeiro negativo); VP (verdadeiro positivo).
Fonte: (SANTOS, 2016).

A sensibilidade e a especificidade são parâmetros fundamentais para a definição de um teste diagnóstico. Assim, o teste ideal para descartar uma doença precisa ter uma alta sensibilidade, pois quanto maior a sensibilidade do teste, maior a capacidade de o teste negativo afastar a doença, uma vez que ocorre uma diminuição da probabilidade de falso negativo. E o ideal para confirmar uma doença deve possuir alta especificidade, pois quanto maior a especificidade de um teste, maior a capacidade de o teste positivo indicar a doença, já que um teste muito específico raramente resultará positivo na ausência da doença, ou seja, diminui a probabilidade de falso positivo (GREINER; GARDNER, 2000, KESSLER, 2007; MEDRONHO; PEREZ, 2009).

O teste diagnóstico ideal deveria fornecer, sempre, a resposta correta, ou seja, um resultado positivo nos indivíduos com a doença e um resultado negativo nos indivíduos sem a

doença. Além do que, deveria ser um teste rápido de ser executado, seguro, simples, inócuo, confiável e de baixo custo (HAYASHIDE; BUSCHINELLI, 2017).

Sempre que empregados de maneira adequada, com base em evidências, os testes diagnósticos são de inquestionável valor para seus usuários diretos (profissionais da saúde e pacientes), e desempenham papel de grande relevância trazendo grande contribuição, não raramente decisiva, na conduta médica, principalmente na confirmação diagnóstica de doenças agudas e graves. O diagnóstico correto e precoce, sobretudo das enfermidades graves, interfere de forma decisiva na história natural da doença, determinando condutas igualmente adequadas e conseqüentemente, maiores chances de desfechos favoráveis com menores custos financeiros e sociais (NUNES et al., 2015).

Uma vigorosa avaliação de testes diagnósticos é fundamental para que na prática médica apenas os mais precisos sejam utilizados. Os estudos de acurácia diagnóstica são assim um passo vital neste processo de avaliação (WHITING et al., 2004).

O aumento dramático da carga global da dengue estimulou o aumento do interesse do setor público e privado no desenvolvimento de diagnósticos melhorados para as infecções por dengue. Muitas vezes, há muitas discrepâncias entre afirmações de desempenho do teste relatados pelos fabricantes e aqueles relatados em ensaios revisados por pares. Infelizmente, para doenças que são principalmente endêmicas em países em desenvolvimento, raramente existem incentivos orientados para o mercado. As empresas com interesses nessas áreas tendem a ser pequenas e algumas têm recursos insuficientes, com acesso limitado ou nenhum acesso aos reagentes, cepas e espécimes necessários à pesquisa e desenvolvimento de produtos. Além disso, os testes de diagnóstico não estão sujeitos a regulamentos rigorosos em muitos países em desenvolvimento e como resultado, os testes comerciais são frequentemente vendidos e utilizados sem indícios de eficácia (PEELING et al., 2010).

Os testes de diagnóstico comerciais de dengue na maioria dos países não estão sujeitos ao controle de qualidade pelas instituições governamentais (HALSTEAD, 2007). Estudos demonstraram que as sensibilidades e especificidades dos testes disponíveis no mercado foram uniformemente inferiores aos testes equivalentes quando analisados em laboratório (BLACKSELL et al., 2006; BLACKSELL et al., 2011). Em estudo realizado por Borges (2017), onde foi avaliado 8 TRs disponíveis comercialmente no Brasil, todos apresentaram valores de sensibilidade e/ou especificidade inferiores aos valores declarados pelos detentores do registro nas instruções de uso do produto.

No Brasil, desde a década de 70, foram promulgadas diversas leis e normas direcionadas à eliminação, diminuição e prevenção dos riscos à saúde da população, visando a

qualidade, segurança e eficácia dos produtos sujeitos à vigilância sanitária disponibilizados no mercado nacional (BRASIL, 1976).

1.11 Vigilância sanitária

A Vigilância Sanitária (Visa) integra a área da Saúde Coletiva. Em suas origens constitui a configuração mais antiga da Saúde Pública e atualmente é sua face mais complexa, pois suas ações, de natureza eminentemente preventiva, perpassam todas as práticas médico-sanitárias de promoção e proteção da saúde (COSTA; ROZENFELD, 2000; CRUSOÉ, 2006).

Conforma um campo singular de articulações complexas entre o domínio econômico, o jurídico-político e o médico-sanitário, responsável pelo controle de riscos e prevenção de danos à saúde relacionados com o uso e consumo de produtos, tecnologias e serviços de interesse sanitário, que podem ser decorrentes de defeitos ou falhas de fabricação, falhas de diagnóstico, inadequação da prescrição, dentre outras, e de atitudes ilícitas de fabricantes, comerciantes ou prestadores de serviços (COSTA, 1999).

Engloba atividades de natureza multiprofissional e interinstitucional que demandam conhecimentos de diversas áreas do saber que se complementam de forma articulada. Constitutiva das práticas em saúde, seu escopo de ação se situa no âmbito da prevenção e controle de riscos, proteção e promoção da saúde (COSTA, 2009).

A reflexão sobre este conjunto de saberes e práticas pode se dar a partir dos seguintes enfoques:

- a) A Visa tem por finalidade a proteção dos meios de vida, ou seja, a proteção dos meios de satisfação de necessidades fundamentais;
- b) A Visa é uma instância da sociedade que integra, com outros serviços, o conjunto das funções voltadas para a produção das condições e pressupostos institucionais e sociais específicos para as atividades de reprodução material da sociedade;
- c) As ações são de competência exclusiva do Estado, mas as questões de Visa são de responsabilidade pública (COSTA, 2009).

Com base em Costa e Rozenfeld (2000), no Brasil, até 1988, o Ministério da Saúde definia a Visa como:

“Um conjunto de medidas que visam elaborar, controlar a aplicação e fiscalizar o cumprimento de normas e padrões de interesse sanitário relativo a portos, aeroportos

e fronteiras, medicamentos, cosméticos, alimentos, saneantes e bens, respeitada a legislação pertinente, bem como o exercício profissional relacionado com a saúde.”

Esta definição, que se baseava principalmente no aspecto normativo da Visa, mudou radicalmente com a Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990 (Lei Orgânica da Saúde) – que organiza o Sistema Único de Saúde e dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências – que passa a definir a Visa como:

“ ... um conjunto de ações capaz de eliminar, diminuir, ou prevenir risco à saúde e de intervir nos problemas sanitários decorrentes do meio ambiente, da produção e circulação de bens e da prestação de serviços de interesse da saúde abrangendo: (I) o controle de bens de consumo que, direta ou indiretamente, relacionem-se com a saúde, compreendidas todas as etapas e processos, da produção ao consumo, e (II) o controle da prestação de serviços que se relacionam diretamente ou indiretamente com a saúde (BRASIL, 1990). “

Nesse contexto, caracterizado pelo surgimento de uma nova organização no setor saúde, a Visa se modifica, destacando-se seu caráter eminentemente preventivo, evoluindo para uma visão da vigilância como ação da cidadania, e sua fundamentação na epidemiologia e no enfoque de risco (COSTA; ROZENFELD, 2000).

Ao contrário da anterior, esta definição introduz o conceito de risco e confere um caráter mais completo ao conjunto das ações, situando-as na esfera da produção, harmonizando-se melhor com o papel do Estado atual, em sua função reguladora da produção econômica, do mercado e do consumo, em benefício da saúde humana (CRUSOÉ, 2006).

O gerenciamento de risco é uma ação de orientação político-administrativa que pondera as alternativas de políticas e seleciona a ação regulatória mais apropriada, integrando os resultados da avaliação de risco com as preocupações sociais, econômicas e políticas para chegar a uma decisão; decide como abordar o risco avaliado e se ele pode ser aceitável (LUCCHESI, 2001).

Uma vez identificados os riscos, é preciso ainda empreender ações de controle, aplicando múltiplos instrumentos, além da legislação e da fiscalização, a comunicação e a educação sanitária, os sistemas de informação, o monitoramento da qualidade de produtos e serviços e o acompanhamento de indicadores (COHEN, 2011).

O “conjunto de ações” denota que a Visa engloba um leque de atividades diversificadas, complexas, de natureza preventiva, que devem ser executadas de maneira articulada, ordenada e sempre voltadas para a racionalidade da eliminação, controle ou prevenção de riscos sanitários que possam vir a provocar danos à saúde de consumidores de produtos e serviços de interesse da saúde, bem como dos ambientes (SHUQAIR, 1996).

O uso da expressão “eliminar, diminuir ou prevenir” demonstra forte conotação relacionada ao poder de polícia da Visa ao estabelecer proibições e restrições. Entretanto, o fato de “intervir nos problemas” demonstra o papel social e interventor que o Estado deve apresentar, sendo responsável pela proteção da saúde da população, à medida que desenvolve ações que controlem os riscos sanitários causadores de danos e agravos à saúde (SHUQAIR, 1996).

Como um serviço de saúde, a Visa desenvolve um conjunto de ações estratégicas no sistema de saúde, com a função de regular, sob o ângulo sanitário, as atividades relacionadas à produção/consumo de bens e serviços de interesse da saúde, seus processos e ambientes, sejam da esfera privada ou pública. A Visa se situa, portanto, no âmbito da intervenção nas relações sociais produção-consumo, e tem sua dinâmica vinculada ao desenvolvimento científico e tecnológico e a um conjunto de processos que perpassam o Estado, o mercado e a sociedade (COSTA, 2009).

A atividade de regulamentação é uma das principais formas de materialização das diretrizes e políticas de governo para sociedade, que além de prevenir riscos à saúde da população, é capaz de equilibrar a tensão entre a produção e o consumo. As inovações tecnológicas, o aumento populacional e o processo de globalização tornam essa atividade ainda mais importante. No caso da ANVISA, essas diretrizes relacionam-se com a segurança e eficácia de produtos e serviços de interesse à saúde, com o desenvolvimento e equilíbrio do setor produtivo (ABREU, 2009).

1.11.1 A vigilância sanitária de produtos no Brasil

Medicamentos, soros, vacinas, sangue e hemoderivados, drogas, insumos farmacêuticos e correlatos (produtos para saúde) – aparelhos, instrumentos, equipamentos e artigos médico-odontológicos e hospitalares, produtos destinados à correção estética e outros – procedimentos de alta complexidade, os cosméticos, produtos de higiene e perfumes, os saneantes domissanitários, seus elementos, tais como embalagem e rotulagem, os estabelecimentos produtores e de comercialização e armazenamento, os meios de transporte e

a propaganda estão submetidos à Visa, em todas as etapas, desde a produção ao consumo (BRASIL, 2007).

A regulamentação e o controle sanitário dos produtos sujeitos à Visa, teve início na década de 70 com a promulgação de importantes instrumentos legais básicos: a Lei nº 5.991, de 17 de dezembro de 1973, que dispõe sobre o controle sanitário do comércio de drogas, medicamentos, insumos farmacêuticos e correlatos, regulamentada pelo Decreto nº 74.170, de 10 de junho de 1974 e a Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976, chamada Lei de Vigilância Sanitária, que dispõe sobre a Visa a que ficam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos e correlatos, cosméticos, saneantes e outros produtos (BRASIL, 1973, 1974, 1976). Esta lei constituiu um grande instrumento regulatório das atividades que envolvem produtos sob controle sanitário, a partir de uma concepção mais abrangente de Visa, para além do conceito de fiscalização. A Visa foi estabelecida como ação permanente e rotineira dos órgãos de saúde, num conjunto integrado com as demais esferas de gestão. Esta lei se diferenciou dos regulamentos anteriores ao incorporar a preocupação com o produto, atentando para qualidade, eficácia e segurança (COSTA; FERNANDES; PIMENTA, 2008).

A Lei nº 6.360/1976, sancionada atualmente pelo Decreto nº 8.077, de 14 de agosto de 2013, que regulamenta as condições para o funcionamento de empresas sujeitas ao licenciamento sanitário e o registro, controle e monitoramento no âmbito da vigilância sanitária dos produtos de que trata a referida lei, estabelece em seu art. 12, que “*nenhum dos produtos de que trata esta Lei, inclusive os importados, poderá ser industrializado, exposto à venda ou entregue ao consumo antes de registrado no Ministério da Saúde*” (BRASIL, 1976; 2013). Desta forma, o comércio dos produtos para saúde está condicionado ao registro sanitário (ou cadastro), sendo um ato privativo do Ministério da Saúde (ou órgão competente – atualmente ANVISA), destinado a comprovar o direito de fabricação dos produtos submetidos ao regime da referida lei, permitindo ao órgão regulador o conhecimento dos produtos industrializados e comercializados com a finalidade primordial de garantir sua eficácia e segurança (CRUZEIRO, 2015).

Com essas leis, firmou-se o preceito de que segurança e eficácia devem ser cientificamente comprovadas e o produto deve possuir, além da identidade e atividade, qualidade, pureza e inocuidade necessárias à sua finalidade (COSTA, 1999). O não atendimento às determinações previstas na legislação sanitária caracteriza infração à Legislação Sanitária Federal, estando a empresa infratora sujeita, no âmbito administrativo, às penalidades previstas na Lei nº 6.437, de 20 de agosto de 1977, sem prejuízo das sanções de natureza civil ou penal cabíveis (BRASIL, 1977).

A ANVISA, criada pela Lei nº 9.782, de 26 de janeiro de 1999, que também define o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, tem como finalidade institucional promover a proteção da saúde da população, por intermédio do controle sanitário da produção e da comercialização de produtos e serviços submetidos à Visa, inclusive dos ambientes, dos processos, dos insumos e das tecnologias a eles relacionados, bem como o controle de portos, aeroportos e fronteiras (BRASIL, 1999). Desde então, com a criação da ANVISA, a Visa representa uma instância da administração pública com poder de polícia, que é demarcada por um ordenamento jurídico de cunho sanitário, o qual configura os regulamentos e as infrações e estabelece as respectivas sanções por suas transgressões (LUCCHESI, 2001).

Cabe à ANVISA, vinculada ao Ministério da Saúde, conforme art. 8º da Lei nº 9.782/99, a competência de regulamentar, controlar e fiscalizar os produtos e serviços que envolvam risco à saúde pública, o que incluiu, dentre outras atividades, a concessão de registro de produtos (BRASIL, 1999). A análise técnica para a concessão do registro de produtos – medicamentos, alimentos especiais, saneantes, cosméticos e produtos de saúde – é uma das etapas do grande, complexo e delicado processo de controle sanitário que espelha a missão institucional da ANVISA. Dele depende a garantia de chegar à população produtos que contenham componentes seguros e de eficácia para as indicações alegadas (SILVEIRA, 2006).

1.11.2 Registro, análise e desempenho dos produtos para diagnóstico de uso *in vitro*

A ANVISA define *produtos para a saúde*, os equipamentos, aparelhos, materiais, artigos ou sistemas de uso ou aplicação médica, odontológica ou laboratorial, destinados à prevenção, diagnóstico, tratamento, reabilitação ou anticoncepção e que não utiliza meio farmacológico, imunológico ou metabólico para realizar sua principal função em seres humanos, podendo, entretanto, ser auxiliado em suas funções por tais meios, de acordo com o anexo I da Resolução da Diretoria Colegiada da ANVISA (RDC) nº 185, de 22 de outubro de 2001 (BRASIL, 2001).

Os produtos de diagnóstico de uso *in vitro* estão inseridos na categoria de produtos para saúde, também denominados de correlatos, em conjunto com os materiais de uso em saúde e os equipamentos médicos (BRASIL, 2016). São os produtos para saúde que utilizam amostras humanas para obter informações para acompanhamento de um estado clínico ou para o diagnóstico de uma doença (BRASIL, 1973, 1976).

Produtos de diagnóstico de uso *in vitro* são atualmente definidos como reagentes, calibradores, padrões, controles, coletores de amostra, materiais e instrumentos, usados individualmente ou em combinação, com intenção de uso determinada pelo fabricante, para análise *in vitro* de amostras derivadas do corpo humano, exclusivamente ou principalmente para prover informações com propósitos de diagnóstico, monitoramento, triagem ou para determinar a compatibilidade com potenciais receptores de sangue, tecidos e órgãos (BRASIL, 2015).

A principal ação de vigilância de produtos para diagnóstico *in vitro* materializa-se com a concessão de registro ou cadastro junto à ANVISA. Essa ação é regida, atualmente, pela RDC nº 36, de 26 de agosto de 2015, embora legislações complementares também sejam utilizadas neste processo (BRASIL, 2015).

A RDC nº 36/2015 tem por objetivo estabelecer a classificação de risco, os regimes de controle de cadastro e registro e os requisitos de rotulagem e instruções de uso de produtos para o diagnóstico *in vitro*, inclusive seus instrumentos. Esta Resolução se aplica aos produtos produzidos no país ou aos importados pelo Brasil. Desta forma, para fins de regularização junto a ANVISA, estes produtos são enquadrados em classes de risco, baseadas nos critérios de indicação de uso especificados pelo fabricante; no conhecimento técnico, científico ou médico do usuário; na importância da informação fornecida ao diagnóstico; na relevância e impacto do resultado para o indivíduo e para a saúde pública; e na relevância epidemiológica. Os produtos são classificados em 4 classes de risco, como mostradas no Quadro 2. As regras de classificação poderão ser atualizadas tendo em vista o progresso tecnológico e as informações de pós-comercialização, oriundas do uso ou da aplicação dos produtos (BORGES, 2017; BRASIL, 2015).

Quadro 2 – Classificação dos produtos de diagnóstico de uso *in vitro*, segundo RDC nº 36/2015

Classes	Critérios
I	Produtos de baixo risco ao indivíduo e baixo risco à saúde pública
II	Produtos de médio risco ao indivíduo e/ou baixo risco à saúde pública
III	Produtos de alto risco ao indivíduo e/ou médio risco à saúde pública
IV	Produtos de alto risco ao indivíduo e alto risco à saúde pública

Fonte: (Adaptado de BRASIL, 2015).

Um dos critérios que define necessidade de registro ou cadastro do produto, é a sua classificação quanto ao risco que oferecem. Segundo o art. 17 da RDC nº 36/2015, os

produtos para diagnóstico *in vitro* pertencentes às Classes I e II estão sujeitos a cadastro e os de Classes III e IV estão sujeitos a registro (BRASIL, 2015).

A RDC nº 36/2015 define registro de um produto como ato privativo da ANVISA, após avaliação e despacho concessivo de seu dirigente, destinado a comprovar o direito de fabricação e de importação de produto submetido ao regime da Lei nº 6.360/1976, com a indicação do nome, do fabricante, da finalidade e dos outros elementos que o caracterizem (BRASIL, 2015).

O registro deve ser requisitado por meio de apresentação, à ANVISA, de uma petição de solicitação de registro, composta de documentos e informações indicadas na RDC nº 36/2015, e outras legislações pertinentes, constituindo assim, um processo documental. Na concessão do registro são avaliadas as informações relativas à fabricação, composição, desempenho, funcionalidade, sensibilidade e especificidade clínica ou diagnóstica, além da adequação aos requisitos regulamentares da resolução. A atribuição de analisar os processos referentes ao cadastro/registo de produtos para diagnóstico de uso *in vitro*, tendo em vista a identidade, qualidade, finalidade, atividade, segurança, preservação e estabilidade é de responsabilidade da Gerência de Produtos para Diagnóstico de Uso *in vitro* da ANVISA, que irá deliberar sobre o deferimento do pleito, podendo solicitar informações e documentos complementares, quando necessário (BRASIL, 2015).

O solicitante deve protocolar junto a ANVISA, documentos legais que compreendem: a petição de registro de produtos para diagnóstico *in vitro*, a Guia de Recolhimento da União, a declaração da classe de risco, o dossiê técnico contendo dados referentes a estudos de desempenho, amostras biológicas utilizadas e dados referentes a repetibilidade, reprodutibilidade; sensibilidade analítica ou limite de detecção; especificidade analítica; intervalo de medição (limites) ou linearidade; definição de valor de corte (*cut-off*) e estabilidade do produto (BRASIL, 2015).

Devem constar também, informações referentes às empresas envolvidas nas diferentes etapas correspondentes ao processo de fabricação. Produtos importados devem apresentar declaração emitida pelo fabricante legal e autorizações para importar, representar e comercializar seu (s) produto (s) no Brasil, além de informações referentes ao fabricante legal e ao importador; certificação em Boas Práticas de Fabricação (BPF) e Controle emitida pela ANVISA ou protocolo de solicitação de Certificado de BPF; e quando exigido, relatório de análise prévia considerada satisfatória, realizada por unidade da Rede Nacional de Laboratórios de Saúde Pública, como o Instituto Nacional de Controle de Qualidade em

Saúde (INCQS), conforme previsto no inciso IV, art. 16 da Lei nº 6.360/1976 (BORGES, 2017; BRASIL, 1976; 2015, 2016).

O deferimento do registro fica condicionado à publicação do Certificado de BPF emitido pela ANVISA e ao atendimento aos requisitos indicados na RDC nº 36/2015, incluindo o laudo de análise prévia satisfatório, quando aplicável (BRASIL, 2015). A concessão do registro é tornada pública por meio da publicação de seu deferimento no Diário Oficial da União, tendo validade de 5 anos contados a partir da data de publicação. Segundo a Lei nº 6360/76 e RDC nº 36/2015, a revalidação deve ser requerida no primeiro semestre do último ano do quinquênio de validade (BORGES, 2017; BRASIL, 2016).

1.11.3 Análise Prévia no INCQS

Alguns produtos para diagnóstico *in vitro* devem ser enviados ao INCQS para realização de análise prévia, conforme disposto no inciso IV do art.16 da Lei nº 6.360/1976 e no item VII do art. 19 da RDC nº 36/2015 (BRASIL, 1976, 2015).

A análise prévia é parte integrante do processo de obtenção de registro desses produtos, conforme a Lei nº 6.360/1976, sendo uma das análises previstas na legislação vigente. É definida como a análise efetuada em determinados produtos sob o regime de Visa, a fim de ser verificado se os mesmos podem ser objeto de registro. Pela definição, a autoridade avaliadora do pedido de registro poderá solicitar esta modalidade de análise para tomar a decisão final, concedendo ou denegando a solicitação. Esta modalidade é amplamente justificada, principalmente quando, de acordo com o previsto em legislações específicas, o processo de registro deva ser acompanhado de laudo laboratorial “comprovando as condições sanitárias indispensáveis à utilização do produto” (INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE, 2003).

Neste âmbito, o INCQS, pertencente à Fundação Oswaldo Cruz e tecnicamente subordinado a ANVISA atua como referência para as questões científicas e tecnológicas relativas ao controle da qualidade de produtos, ambientes e serviços vinculados à Visa. No INCQS, o Laboratório de Sangue e Hemoderivados (LSH), desde o ano de 2000, avalia rotineiramente por análise prévia, como previsto em legislação, os produtos para diagnóstico de uso *in vitro* pertencentes à Classe de Risco IV (produtos de alto risco ao indivíduo e ou alto risco à saúde pública) (BORGES, 2017).

Atualmente, os produtos indicados para tal análise são aqueles destinados a testes de triagem em banco de sangue, tais como reagentes para imunohematologia (sistema ABO,

sistema Rh e anticorpos irregulares), produtos para o diagnóstico *in vitro* de hepatites B e C, sífilis, do vírus da imunodeficiência humana (*Human Immunodeficiency Virus* – HIV), da doença de Chagas e do vírus linfotrópico de células T humanas (*Human T Lymphotropic Virus* – HTLV). No momento da análise, o solicitante receberá exigência técnica informando a necessidade de envio das amostras ao INCQS. O deferimento da petição dependerá da apresentação do laudo satisfatório da análise (BRASIL, 2016).

No que diz respeito ao registro dos produtos destinados ao diagnóstico da dengue, pertencentes a Classe de risco III, assim como para os demais produtos desta classe, faz-se necessário o cumprimento aos requisitos regulamentares da Resolução RDC nº 36/2015, que inclui informações relativas à fabricação, composição, desempenho, funcionalidade, sensibilidade e especificidade clínica ou diagnóstica, excetuando-se a realização de análise prévia, não obrigatória para essa classe de produtos. Entretanto, desde abril de 2016, como resultado do trabalho de Borges (2017), foi incluída a obrigatoriedade da análise prévia laboratorial, realizada no INCQS, como requisito para obtenção do registro de produtos para diagnóstico da dengue, em suas diferentes metodologias, conforme previsto no inciso IV, art. 16 da Lei nº 6.360/1976 e de acordo com a legislação pertinente. A implementação desta análise, está permitindo a disponibilização no mercado nacional de produtos com maior sensibilidade e especificidade e de acordo com as especificações declaradas pelos fabricantes e detentores do registro, ampliando assim a segurança e a confiabilidade na qualidade dos produtos destinados ao diagnóstico da dengue comercializados no Brasil, como um dos atributos da Visa (BORGES, 2017).

1.12 Justificativa

A dengue é um dos principais problemas de saúde pública. A disseminação dos DENVs e de seu vetor, o *A. aegypti*, devido ao crescente processo de globalização, urbanização descontrolada, pouca eficácia nos métodos de combate ao vetor e mudanças climáticas que ocorreram nas últimas décadas, tem ocasionado epidemias cada vez mais frequentes. Atualmente observa-se a expansão territorial da doença, atingindo não apenas áreas tropicais, mas também regiões subtropicais do planeta, deixando aproximadamente metade da população mundial vulnerável e susceptível à infecção (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2018).

Uma vez que não existem terapias antivirais específicas e a utilização de vacinas para prevenção da doença é uma abordagem relativamente recente, o diagnóstico preciso, sensível

e específico, continua sendo essencial para permitir a adoção de medidas de suporte ao paciente, reduzindo a gravidade da doença e para nortear um tratamento eficaz e direcionar medidas preventivas para controle de possíveis surtos. E vale ressaltar que sem um diagnóstico não é possível propor tratamento ou estabelecer prognóstico.

Considerando que muitas ferramentas de diagnóstico da dengue tornaram-se disponíveis nos últimos anos, entre elas os TRs imunocromatográficos, e que o diagnóstico inequívoco e eficiente é importante para o cuidado clínico, suporte à vigilância, bem como confirmação de casos, para garantir e assegurar o fechamento preciso do diagnóstico clínico. A partir do trabalho de Borges (2017) que avaliou 8 TRs, dentre outras metodologias, disponíveis comercialmente no Brasil para o diagnóstico da dengue, constatou-se que todos os TRs apresentaram valores de sensibilidade e/ou especificidade fora das especificações declaradas pelos fabricantes, o que resultou na obrigatoriedade da análise prévia para todos os conjuntos diagnósticos de uso *in vitro* da dengue. Desta forma a questão norteadora deste estudo apresenta-se da seguinte forma: *qual é a acurácia dos TRs imunocromatográficos comerciais utilizados no diagnóstico da infecção pelo DENV em particular na detecção de NS1, IgM/IgG, quanto aos parâmetros de sensibilidade e especificidade?* Para esclarecer essa questão e obter um panorama geral global do desempenho dos TRs para diagnóstico da dengue, foi conduzida uma RS da literatura, e quando possível uma metanálise, na qual os resultados de vários estudos de pesquisa foram agrupados e analisados como se fosse o resultado de um único grande estudo.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a acurácia diagnóstica dos *kits* comerciais de testes rápidos (TRs) imunocromatográficos empregados no diagnóstico da infecção pelo vírus da dengue através da detecção do antígeno NS1 e dos anticorpos IgM e IgG, por meio de uma revisão sistemática (RS).

2.2 Objetivos específicos

- Elaborar protocolo de RS referente à acurácia (sensibilidade e especificidade) de TRs imunocromatográficos para detecção do antígeno NS1 e anticorpos IgM e IgG.
- Registrar o protocolo da RS na plataforma PROSPERO (*International Prospective Register of Ongoing Systematic Reviews*).
- Avaliar a qualidade dos estudos selecionados na RS que cumpriram os critérios de elegibilidade
- Avaliar a sensibilidade e especificidade diagnóstica global dos *kits* de TRs imunocromatográficos comerciais mediante RS e metanálise de estudos publicados nas seguintes bases de dados: *Pubmed/Medline*, Embase, Scopus, *ISI Web of Science* e *Cochrane Library*.
- Comparar a sensibilidade e especificidade globais obtidas na RS com os valores declarados pelos fabricantes nos manuais de instrução que acompanham os TRs disponíveis comercialmente.

3 METODOLOGIA

O presente estudo está em consonância com as diretrizes estabelecidas pelo protocolo referente aos Principais Itens para Relatar Revisões Sistemáticas e Metanálises de Estudos de Acurácia dos Testes Diagnósticos, em inglês, *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analysis of Diagnostic Test Accuracy Studies (PRISMA-DTA)*, publicado em 2018 como uma extensão da declaração PRISMA original, que inclui uma lista de verificação de 27 itens considerados essenciais para relatórios transparentes de uma RS (ANEXO A). Tal lista tem por objetivo ajudar no aprimoramento de relatos das RS e metanálises e, apesar de não ser um instrumento de avaliação da qualidade, é útil para avaliar criticamente esses estudos, uma vez que o conjunto de itens considerados indispensáveis possibilita a transparência dessas declarações (MCINNES et al., 2018).

A instrução PRISMA original é uma diretriz que tem por objetivo o relato de RS e metanálises contendo um conjunto mínimo de (27) itens baseados em evidências que devem ser relatados, juntamente com um fluxograma para ilustrar o processo de revisão. O foco principal desta diretriz, no entanto, é em RS e metanálises de estudos randomizados. Diferentemente, a declaração PRISMA-DTA desenvolvida como uma extensão da PRISMA original tem como objetivo refletir conceitos, métodos, linguagem e requisitos específicos para o relato de RS e metanálises de estudos de acurácia de testes diagnósticos (MOHER et al., 2009; THOMBS et al., 2018).

3.1 Registro da revisão sistemática

O protocolo para esta revisão foi registrado previamente no Registro Prospectivo Internacional de Revisões Sistemáticas em Andamento, em inglês, *International Prospective Register of Ongoing Systematic Reviews (PROSPERO)*, um banco internacional de registros de RS, em seu sítio endereço eletrônico (<https://www.crd.york.ac.uk/PROSPERO/>) no dia 29 de janeiro de 2018, sob o número de registro CRD42018086517 e mostrado no ANEXO B.

O PROSPERO, lançado em fevereiro de 2011 pela Universidade de York, é um portal *online* através do qual se registra a intenção de realizar uma RS, com resultados relacionados à saúde, antes de ser iniciada. O registro permite a documentação permanente de 22 itens obrigatórios e 18 opcionais sobre o projeto e a condução de uma revisão *a priori*, tendo como um dos principais objetivos reduzir a duplicação não planejada de RS. Além disso, ao exigir a documentação de métodos *a priori*, o registro facilita o aumento da transparência no processo

de revisão, permitindo que os leitores de RS comparem métodos, resultados e análises realizados com aqueles planejados com antecedência e julguem se essas mudanças afetam os resultados de uma revisão (MOHER et al., 2015).

3.2 Estratégia de pesquisa

A estratégia de busca foi elaborada para que permitisse a identificação de todos os estudos relevantes para a pergunta de pesquisa, não havendo restrições quanto ao idioma ou quanto ao país em que os estudos foram realizados. Os artigos selecionados foram os publicados entre o ano de 2000 até o momento da realização da pesquisa, utilizando filtros de busca específicos. As buscas eletrônicas foram conduzidas pelo pesquisador principal (M.A.S.I.) e por sua orientadora (H.P.S.Z.), assim como todas as demais etapas da elaboração desta revisão.

As estratégias de buscas eletrônicas dos artigos foram realizadas entre maio e junho de 2018, e adaptadas para cada uma das bases de dados, sendo elas:

- a) Cochrane Library (<https://www.cochranelibrary.com>): pesquisa realizada de 2000 a 14 de maio de 2018;
- b) MEDLINE/PubMed desenvolvida e mantida pela *U.S National Library of Medicine* localizada no *National Institutes of Health* (<https://www.pubmed.gov>): pesquisa realizada de 2000 a 15 de maio de 2018;
- c) Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS-<https://www.lilacs.bvsalud.org>): pesquisa realizada de 2000 a 16 de maio de 2018;
- d) SCOPUS (<https://www.scopus.com>): pesquisa realizada de 2000 a 04 de junho de 2018;
- e) *ISI Web of Science* (<https://www.periodicos.capes.gov.br>): pesquisa realizada de 2000 a 05 de junho de 2018.

A estratégia de pesquisa foi composta por descritores controlados e palavras-chaves, previamente identificados e selecionados no MeSH (títulos de assunto médico, do inglês *Medical Subject Headings*), separados em quatro grupos principais, quando possível, descrevendo o teste (*Immunoassay; Diagnostic Reagent Kit; Immunochromatographic Assay; In Vitro Diagnostic Device*), a doença (*Dengue; Dengue Virus*), os marcadores de infecção investigados (*Viral Nonstructural Proteins NS1; Immunoglobulin M; Immunoglobulin G*) e o tipo de avaliação realizada (*Diagnosis; Sensitivity and Specificity*). As palavras-chave e os

Entry terms (termos sinônimos remissivos) e seus principais sinônimos foram combinados entre si utilizando os operadores booleanos OR (combinação aditiva), a fim de aumentar a sensibilidade da busca na etapa inicial, e AND (combinação restritiva), e adaptados para cada base de dados, conforme mostrado no APÊNDICE A.

Buscas manuais também foram realizadas nas listas de referências dos artigos elegíveis para identificar outros estudos pertinentes, caso houvesse.

3.3 Elegibilidade e seleção dos estudos

A relação completa de todas as referências identificadas nas bases de dados eletrônicas mediante aplicação das estratégias de busca foi incorporada no EndNote™ (Thomson Reuters) online, um *software* de acesso gratuito desenvolvido para gerenciar referências bibliográficas.

As referências identificadas nos bancos de dados selecionados passaram por uma triagem para remoção de duplicações pelo *software*. Em seguida foi realizada pelo pesquisador principal uma nova verificação manual de todas as citações, garantindo que nenhuma referência em duplicata permanecesse na listagem.

Os estudos foram examinados para elegibilidade com base no título e resumo e se potencialmente relevantes, obtidos os artigos completos para avaliação, que foi realizada pelos dois pesquisadores, e quaisquer discrepâncias foram resolvidas por discussão, até que um consenso fosse alcançado.

Para que um artigo/estudo fosse incluído nesta revisão deveria preencher todos os seguintes critérios de inclusão:

- Estudos observacionais (prospectivos e retrospectivos) transversais e de coorte, que avaliam os marcadores de diagnóstico da infecção pelo DENV (NS1, IgM e IgG)
- Estudos que utilizam amostras (frescas ou congeladas) de soro, plasma ou sangue total de pacientes com suspeita clínica de infecção por dengue;
- Utilizar TRs imunocromatográficos comerciais, com execução, leitura e interpretação de resultados dentro de 30 minutos;
- Estudos que avaliam os parâmetros de sensibilidade e especificidade, disponibilizando os valores (ou permitindo o cálculo) de VP, VN, FP e FN;

- Utilizar um método de diagnóstico padrão-ouro (isolamento viral) como comparação ou outro teste padrão de referência como confirmação (PCR convencional, *real time* PCR, ELISA).

Nesta revisão foram excluídos artigos que apresentassem pelo menos 1 (uma) das seguintes características:

- Estudos de revisão, editoriais, pareceres, comunicações breves, estudos de caso e estudos de caso-controle;
- Testes com tempo de realização maior que 30 minutos;
- Pesquisas que não envolvam amostras de seres humanos;
- Pesquisas que estudaram infecções simultâneas de dengue com outra doença;
- Publicações com informações limitadas sobre os valores de sensibilidade e especificidade.

Todos os estudos que se adequaram aos critérios de elegibilidade passaram por leitura meticulosa dos textos completos e incluídos quando considerados potencialmente relevantes.

Quando a análise dos textos completos revelou o não cumprimento de pelo menos 1 (um) dos critérios de inclusão ou a presença de 1 (um) critério de exclusão, registrou-se os motivos e o estudo foi removido do escopo desta RS.

3.4 Extração dos dados

A extração dos dados de todo estudo selecionado para integrar esta RS foi realizada e registrada em um formulário padrão, visando minimizar o risco de erros no processo de extração, criado previamente pelo autor principal, conforme pode ser visualizado no APÊNDICE B.

Os dados extraídos de cada estudo incluído na RS foram os seguintes: autor; revista/jornal; volume; número; páginas; ano de publicação; ID do artigo; país de origem do estudo; idioma; tipo/desenho do estudo; número de participantes; características da população (sexo, faixa etária); tipo de amostra; informações pertinentes sobre o teste índice e o padrão de referência; local de realização dos testes, tipo de infecção (primária ou secundária); dados relacionados à sensibilidade e especificidade: valores referentes a VP, VN, FP e FN.

3.5 Avaliação da qualidade dos estudos

A análise da qualidade metodológica dos estudos que preencherem os critérios de inclusão foi realizada independentemente por ambos os autores, minimizando o viés de informação e de seleção. As divergências foram discutidas e resolvidas por consenso.

A análise foi baseada na ferramenta denominada de Avaliação da Qualidade de Estudos de Exatidão Diagnóstica (*Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies – QUADAS*) (WHITING et al., 2003) em sua versão revisada QUADAS-2 (WHITING et al., 2011). O QUADAS é um instrumento para acessar a qualidade dos estudos de acurácia diagnóstica incluídos em uma revisão sistemática. A ferramenta consiste em quatro domínios-chave principais, que se referem à: **1) Seleção do paciente**, **2) Teste índice**, **3) Padrão de referência** e **4) Fluxo e tempo**. Cada domínio é avaliado em termos do risco de viés e os três primeiros também são avaliados em termos de preocupações quanto à aplicabilidade do teste, que se refere ao quão os estudos primários se assemelham à questão da pesquisa da RS, em termos de população, exames e condições-alvo. Para auxiliar o julgamento do risco de viés, são incluídas questões sinalizadoras. Estas questões sinalizadoras do desenho do estudo estão relacionadas ao potencial de viés e visam apoiar os avaliadores a realizar esses julgamentos (WHITING et al., 2011). Essa ferramenta, basicamente, consiste em se desenhar um modelo ideal hipotético de teste de acurácia para avaliar determinado *kit* de diagnóstico *in vitro* em relação a um determinado espectro de pacientes. São formuladas questões pertinentes para comparar cada estudo encontrado pela estratégia de busca com o teste idealizado (PUCHNICK et al., 2012).

Esses itens cobrem as formas mais significativas de viés na pesquisa diagnóstica. Cada item é formulado para ser respondido com “sim”, “não” ou “pouco claro/incerto”, que podem indicar baixo ou alto risco de viés em relação à qualidade dos estudos selecionados. O “sim” indica informações suficientes, com viés improvável. O “não” indica uma informação suficiente, mas com potencial viés de conduta inadequada. O “pouco claro/incerto” indica que a informação não é fornecida no artigo ou a metodologia não é clara (WHITING et al., 2011). Ao final das respostas, julga-se o risco de viés como “baixo”, “alto” ou “incerto”, sem atribuição de pontuações, assim como a aplicabilidade, que também é julgada como “baixa”, “alta” ou “incerta” (BRASIL, 2014). Um formulário padrão baseado na ferramenta QUADAS-2 (WHITING et al., 2011) foi confeccionado com os itens a serem respondidos para cada artigo/estudo analisado (APÊNDICE C).

Os resultados referentes à avaliação da qualidade dos estudos como descrito acima foram resumidos em forma de tabela e apresentados em gráficos de barras de pilha proporcionais de acordo com o sugerido por Whiting e colaboradores (2011).

3.6 Análise estatística e síntese dos resultados

Os estudos incluídos foram agrupados em categorias com base no TR de diagnóstico da dengue juntamente com o marcador de infecção avaliado, sendo eles NS1, IgM ou IgG.

Para calcular os dois indicadores de desempenho diagnóstico (sensibilidade e especificidade), os dados de VP, VN, FP e FN de cada estudo por TR foram introduzidos em tabelas de contingência 2x2. Os resultados de sensibilidade e especificidade foram expressos como valores médios com seus intervalos de confiança de 95% (DEEKS, 2001) e apresentados sob a forma de gráficos do tipo floresta (*forest plot*). Os valores de sensibilidade e especificidade de cada estudo por TR para detecção do antígeno NS1, bem como para IgM foram também graficamente representados por um modelo de curva receptor operador (ROC) apresentando sensibilidade no eixo vertical (y) e especificidade no eixo horizontal (x).

Uma síntese narrativa dos estudos sumarizou a evidência disponível, respondendo às questões de revisão propostas. Os resultados dos estudos individuais por TR e marcador foram agrupados com a finalidade de obter uma estimativa de acurácia diagnóstica sumária. Antes da combinação, a heterogeneidade dos resultados dos estudos de acurácia (sensibilidade e especificidade) por TR foi avaliada por meio da inspeção visual dos gráficos do tipo floresta e estatisticamente utilizando o teste de heterogeneidade de Chi-quadrado ao nível de significância $\alpha = 0,1$ e pelo grau de inconsistência medido pelo índice I^2 de Higgins (HIGGINS et al., 2003). Os valores do I^2 (%) foram interpretados de acordo com as seguintes recomendações da Colaboração *Cochrane* (HIGGINS; GREEN, 2011):

- 0 a 40%: pode não ser importante a heterogeneidade;
- 30 a 60%: pode representar heterogeneidade moderada;
- 50 a 90%: pode representar heterogeneidade significativa;
- 75 a 100%: pode representar heterogeneidade considerável.

Nos casos em que os estudos disponíveis não apresentaram heterogeneidade significativa ($p > 0,1$) pelo teste Chi-quadrado, o modelo de efeitos fixos Mantel e Haenszel (MANTEL; HAENSZEL, 1959) foi empregado para o cálculo das estimativas diagnósticas agrupadas de sensibilidade e especificidade representadas em gráfico do tipo floresta

juntamente com os dados correspondentes de cada estudo primário apresentados como valores médios e intervalos de confiança de 95% (DINNES et al., 2005). Quando a heterogeneidade foi significativa ($p < 0,1$) o modelo de efeitos aleatórios DerSimonian e Laird (DerSIMONIAN; LAIRD, 1986) foi empregado para o cálculo dos valores agrupados de sensibilidade e especificidade.

Gráficos floresta e curvas ROC foram elaboradas pelo programa computacional REVMAN (Cochrane). Análises estatísticas e representações gráficas dos resultados de sensibilidade e especificidade individuais e sumarizados na metanálise foram realizadas usando o *software* MetaDiSc versão 1.4 (ZAMORA et al., 2006).

3.7 Comparação com sensibilidade e especificidade declaradas

A partir dos valores agrupados dos parâmetros de sensibilidade e especificidade dos TRs para detecção de NS1 e IgM obtidos nesta RS foi realizada uma busca eletrônica, dos manuais dos *kits* de TRs empregados no diagnóstico sorológico da dengue, disponíveis comercialmente.

Os valores de sensibilidade e especificidade declarados nos manuais de instruções que acompanham os produtos identificados nesta busca foram confrontados com os valores globais obtidos através desta RS realizada por TR, desde que os TRs estejam disponíveis comercialmente.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Resultados da estratégia de busca

As buscas eletrônicas realizadas nas cinco bases de dados eletrônicas selecionadas empregando as estratégias de pesquisa, com a combinação dos descritores e palavras-chaves (APÊNDICE A), resultaram na identificação de 1.357 artigos. A Tabela 1 indica o quantitativo de artigos identificados por base de dados.

Tabela 1 – Resultados das buscas eletrônicas nas diferentes bases de dados. Período de 2000 a junho de 2018

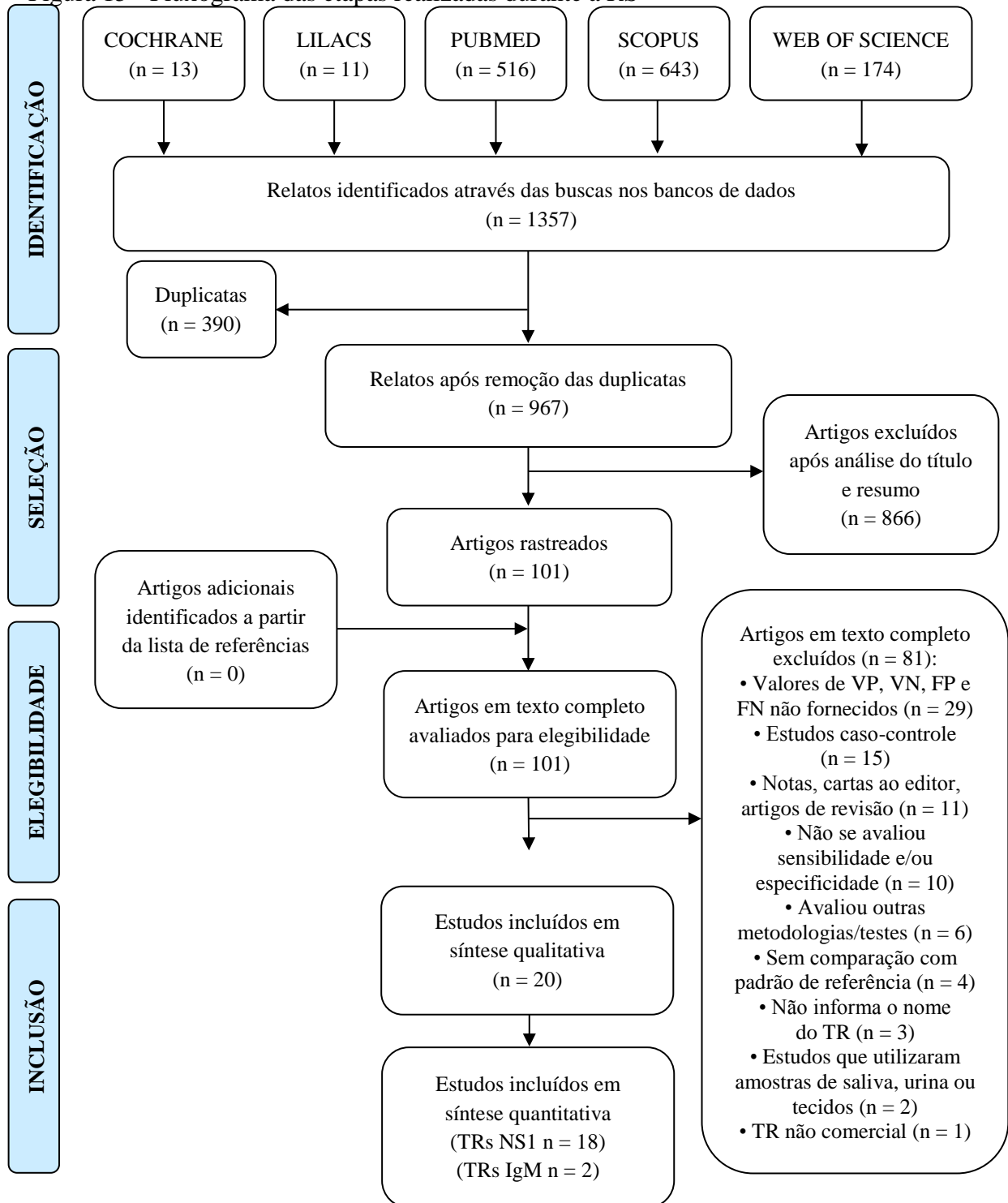
BASE DE DADOS	NÚMERO DE ARTIGOS
Scopus	643
MedLine/PubMed	516
Web of Science	174
Cochrane Library	13
LILACS	11
TOTAL	1357

Fonte: (Do autor, 2019).

A base de dados SCOPUS contribuiu com o maior número de artigos, com 47,38% (643/1357) dos artigos identificados; seguida pelas bases *MedLine/PubMed*, com 38,03% (516/1357); *Web of Science*, com 12,82% (174/1357); *Cochrane Library*, com 0,96% (13/1357) e LILACS, com 0,81% (11/1357) dos artigos identificados.

Após identificação e remoção das 390 duplicatas, permaneceram 967 artigos, que passaram por uma triagem mediante análise dos títulos e resumos. Destes, 866 artigos eram estudos não referentes ou relacionados ao tópico em questão do presente estudo, sendo, portanto, excluídos da revisão, restando 101 artigos para leitura dos textos completos na íntegra. Com a leitura destes 101 artigos (não houve inclusão de artigos identificados a partir da lista de referências), 81 foram excluídos por não contemplarem os critérios de inclusão ou apresentarem algum dos critérios de exclusão desta RS, sendo assim a amostra final foi composta por 20 estudos. Os 20 estudos representam 1,5% (20/1357) do total de estudos identificados nas pesquisas das bases de dados, e 19,8% (20/101) dos estudos elegíveis para leitura dos textos completos. O resultado de todo o processo e as etapas realizadas na elaboração desta RS encontram-se detalhados no fluxograma da Figura 15. A relação dos estudos excluídos e as causas que levaram a exclusão encontram-se na Tabela 2.

Figura 15 - Fluxograma das etapas realizadas durante a RS



VP: Verdadeiro positivo; VN: Verdadeiro negativo; FP: Falso positivo; FN: Falso negativo.

Fonte: (Do autor, 2019)

Tabela 2 – Revisão sistemática da sensibilidade (sen.) e especificidade (esp.) de testes rápidos (TRs) para diagnóstico da dengue através da detecção de NS1, IgM e IgG: relação dos estudos excluídos quanto à elegibilidade com as causas que ocasionaram a exclusão (n=81)

AUTOR, ANO	JUSTIFICATIVA PARA EXCLUSÃO	AUTOR, ANO	JUSTIFICATIVA PARA EXCLUSÃO	AUTOR, ANO	JUSTIFICATIVA PARA EXCLUSÃO	AUTOR, ANO	JUSTIFICATIVA PARA EXCLUSÃO
ACOSTA et al., 2014	Comunicação breve	FRY et al., 2011	Estudo de caso-controle	MAUES; RODRIGUES; NUNES, 2003	Não informa o nome do TR	SHARP et al., 2014	Não avaliou a sen. e esp. dos TRs
ANDRIES et al., 2012	Não apresenta valores de VP, VN, FP, FN	GOLJAN et al., 2010	Não avaliou sens. e esp. dos TRs	MAUES; RODRIGUES; NUNES, 2003	Não informa o nome do TR	SHIH et al., 2016	Não apresenta valores de VP, VN, FP, FN
ANDRIES et al., 2016	Utilizou amostras de saliva e urina	GROEN et al., 2000	Não apresenta valores de VP, VN, FP, FN	MISHRA et al., 2014	Estudo avaliou ELISA	SHU et al., 2009	Nota
BERLIOZ-ARTHAUD et al., 2005	Estudo de caso-controle	HUANG et al., 2013	Não avaliou a sens. e esp. dos TRs	MITRA et al., 2016	Não houve comparação com um padrão de referência	SHUKLA et al., 2017	Não apresenta valores de VP, VN, FP, FN
BIBHAS et al., 2015	Não informa o nome do TR	HUNSPERGER et al., 2009	Não apresenta valores de VP, VN, FP, FN	MOORTHY et al., 2009	Comunicação breve	STEPHEN et al., 2014	Comunicação breve
BLACKSELL et al., 2006	Não apresenta valores de VP, VN, FP, FN	HUNSPERGER et al., 2014	Não apresenta valores de VP, VN, FP, FN	NAZ et al., 2014	Não apresenta valores de VP, VN, FP, FN	SUGIMOTO et al., 2011	Não apresenta valores de VP, VN, FP, FN
BLACKSELL et al., 2007	Não apresenta valores de VP, VN, FP, FN	HUNSPERGER et al., 2016	Não apresenta valores de VP, VN, FP, FN	NGA et al., 2007	Não apresenta valores de VP, VN, FP, FN	TAKASAKI et al., 2002	Estudo de caso-controle
BLACKSELL et al., 2011	Não apresenta valores de VP, VN, FP, FN	ILLAMANI et al., 2014	Não houve comparação com um padrão de referência	OSORIO et al., 2010	Estudo de caso-controle	TEOH et al., 2016	Não avaliou a sens. e esp. dos TRs
CALLERI et al., 2017	Não apresenta valores de VP, VN, FP, FN	JELINEK et al., 2000	Nota	PAL et al., 2015	Não apresenta valores de VP, VN, FP, FN	TONTULAWAT et al., 2011	Não apresenta valores de VP, VN, FP, FN
CAMPBELL et al., 2007	Não apresenta valores de VP, VN, FP, FN	KASSIM et al., 2011	Estudo avaliou ELISA	PANG et al., 2017	Não avaliou a sens. e esp. dos TRs	VAJPAYEE et al., 2001	Estudo de caso-controle
CHAIYARATANA et al., 2009	Nota	KHAN et al., 2017	Estudo de caso-controle	PAN-NGUM, 2013	Não apresenta valores de VP, VN, FP, FN	VALERO et al., 2006	Estudo de caso-controle
CHAKRAVARTI et al., 2000	Nota	KITTIGUL et al., 2002	Comunicação breve	PIEDRAHITA et al., 2016	Não apresenta valores de VP, VN, FP, FN	VICKERS et al., 2015	Não apresenta valores de VP, VN, FP, FN
CHARREL et al., 2002	Cartas ao Editor	KRISHNANANTHASIVAM et al., 2015	Não apresenta valores de VP, VN, FP, FN	POK et al., 2010	Não apresenta valores de VP, VN, FP, FN	VIKRAM et al., 2016	Não avaliou a sen. e esp. dos TRs
CHATERJI et al., 2011	Não apresenta dados de VP, VN, FP, FN	KUMARASAMY et al., 2007	Comunicação breve	RAMIREZ et al., 2009	Estudo de caso-controle	VONGSOUVATH et al., 2016	Não avaliou a sen. e esp. dos TRs
CHEN et al., 2016	Não apresenta valores de VP, VN, FP, FN	LEE et al., 2016	Não avaliou a sen. e esp. dos TRs	SÁNCHEZ-VARGAS et al., 2014	Não apresenta valores de VP, VN, FP, FN	WANG et al., 2014	Estudo não avaliou TR comercial
COHEN et al., 2007	Não apresenta valores de VP, VN, FP, FN	LIMA et al., 2010	Estudo de caso-controle	SANDOVAL et al., 2012	Estudo de caso-controle	WANG et al., 2010	Não apresenta valores de VP, VN, FP, FN
CUZZUBBO et al., 2001	Não apresenta valores de VP, VN, FP, FN	LIMA et al., 2011	Utilizou amostras de tecidos	SATHISH et al., 2002	Estudo avaliou ELISA	WATTHANAWORAWIT et al., 2011	Estudo avaliou ELISA
DUSSART et al., 2008	Estudo de caso-controle	LIMA et al., 2012	Não avaliou a sens. e esp. dos TRs	SATHISH et al., 2003	Não houve comparação com um padrão de referência	WU et al., 2000	Estudo de caso-controle
FAGOUR et al., 2015	Revisão	MANTHALKAR; PEERAPUR, 2017	Estudo avaliou ELISA	SEKARAN et al., 2008	Estudo de caso-controle	ZAHOOR et al., 2016	Não houve comparação com um padrão de referência
FELIX et al., 2012	Estudo avaliou ELISA	MARTÍNEZ-VEGA et al., 2009	Não apresenta valores de VP, VN, FP, FN	SENGVILAI PASEUTH et al., 2017	Não avaliou a sens. e esp. dos TRs	ZAINAH et al., 2009	Estudo de caso-controle
FERRAZ et al., 2013	Estudo Caso-controle						

Fonte: (Do autor, 2019).

A lista de referências dos estudos excluídos encontra-se no APÊNDICE D. Com relação aos estudos excluídos, grande parte deles ($n = 29$) foi descartada por não apresentarem ou por não ser possível a obtenção dos dados necessários para a confecção das tabelas de contingência 2×2 , com os valores de VP, VN, FP e FN.

Estudos do tipo caso-controlé foram o segundo principal motivo de exclusão ($n = 15$). Em tais estudos, grupos de pacientes com e sem a condição alvo são identificados antes do teste índice ser realizado (RUTJES et al., 2005). A inclusão de casos definidos com doença no estudo, por exemplo superestimam a precisão do teste diagnóstico na detecção da doença (sensibilidade). A inclusão de controles saudáveis provavelmente reduzirá a ocorrência de resultados falso-positivos, aumentando assim a especificidade. Embora esse desenho forneça uma indicação da precisão máxima de um teste, as estimativas desses estudos geralmente não são representativas da precisão de um teste na prática clínica (PETERS, 2015; WHITING et al., 2013).

Outros motivos de exclusão foram: a identificação de comunicações breves ($n=5$), notas ($n=4$), revisão ($n=1$), carta ao editor ($n=1$); estudos que não tiveram a finalidade de avaliar a sensibilidade e especificidade dos TRs ($n = 10$); estudos que avaliaram metodologia diferente ao TR, como ELISA ($n = 6$); estudos que não realizaram comparação com o padrão de referência ($n = 4$); estudos que não informaram o nome do TR avaliado ($n = 3$); estudos que utilizaram amostras de saliva, urina ou tecidos ($n = 2$) e estudo que avaliou um TR não comercial ($n = 1$).

Com aplicação dos critérios de inclusão e exclusão estabelecidos nos 101 artigos que seguiram para etapa de leitura completa de seus textos, não houve a inclusão nesta RS de estudos que avaliassem a sensibilidade e especificidade de TRs frente a detecção do anticorpo IgG. Os estudos de Krishnananthasivam e colaboradores (2015); Piedrahita e colaboradores (2016); Sánchez-Vargas e colaboradores (2014) e Vickers e colaboradores (2015), relacionados na Tabela 2, avaliaram o teste SD Bioline Dengue Duo NS1 and IgG/IgM (Standard Diagnostic Inc.), porém não apresentaram dados de VP, VN, FP e FN. Três estudos avaliaram o teste Dengue Duo cassette IgM/IgG (Panbio Diagnostics), contudo Moorthy e colaboradores (2009) era um artigo em forma de comunicação breve; Pan-Ngum e colaboradores (2013) não apresentaram dados de VP, VN, FP e FN e Vajpayee e colaboradores (2001) era um estudo de caso-controlé. O estudo de Vickers e colaboradores (2017), que avaliou o teste OneStep Dengue NS1 RapiDip™ InstaTest (Diagnostic Automation Cortez Diagnostics, Inc.), não apresentou dados de VP, VN, FP e FN referentes à detecção de anticorpos IgG, mas somente os valores percentuais de sensibilidade e

especificidade, no entanto, o mesmo estudo apresentou os dados referentes a detecção de NS1, sendo incluído na RS frente a este parâmetro.

4.2 Características dos estudos incluídos

A Tabela 3 mostra as características dos 20 artigos selecionados, incluindo ano de publicação, idioma, localização geográfica, tipo de estudo, número de TRs analisados, características clínicas da população selecionada e dados referentes à idade média da população estudada. O APÊNDICE E apresenta a lista de referências dos estudos incluídos.

Com exceção de um estudo que se encontrava em espanhol, os demais eram todos em língua inglesa, publicados nos mais diversos periódicos internacionais.

A maioria dos estudos selecionados (13/20) para integrar esta RS foi publicada nos últimos quatro anos anteriores à data da pesquisa (2014-2017), sete deles no ano de 2017, um artigo nos anos de 2016, 2015 e quatro em 2014. Os demais estudos foram publicados em 2012 (1), 2011 (3), 2010 (1), 2009 (1) sendo o estudo mais antigo identificado publicado em 2008. Apesar do período escolhido para a pesquisa ter se iniciado no ano de 2000 não foram incluídos estudos que tenham sido publicados anteriormente ao ano de 2008, uma vez que não contemplavam os critérios de inclusão estabelecidos.

Dezoito estudos eram prospectivos e 2 eram retrospectivos. Cabe salientar que grande parte dos artigos não apresentavam a definição dos seus estudos de maneira explícita, sendo a interpretação muitas vezes subjetiva e a classificação realizada pelos pesquisadores desta RS.

Os 20 estudos selecionados foram provenientes de 14 países, 11 foram realizados na Ásia (4 na Índia, 2 no Vietnã, 1 no Camboja, 1 em Cingapura, 1 na Malásia, 1 no Nepal e 1 no Sri Lanka); 8 foram conduzidos nas Américas (3 no Brasil, 1 na Costa Rica, 1 na Guiana Francesa, 1 na Jamaica, 1 na Martinica e 1 no Peru) e apenas 1 efetuado na Europa (Bélgica). Todos os estudos foram conduzidos em países onde a dengue é uma doença endêmica, excetuando-se o realizado no continente europeu. O estudo conduzido na Bélgica (HUIITS et al., 2017) avaliou um TR com amostras de viajantes que apresentaram febre ao retornarem dos trópicos, tipicamente de áreas endêmicas da doença.

Tabela 3 – Características dos estudos incluídos na revisão sistemática da acurácia de testes rápidos (TRs) para diagnóstico da dengue através da detecção de NS1, IgM e IgG

AUTOR, ANO	IDIOMA	LOCALIZAÇÃO	TIPO DE ESTUDO	NÚMERO DE TRs AVALIADOS	CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DA POPULAÇÃO	MÉDIA DE IDADE (ANOS)
BISORDI et al., 2011	Inglês	Brasil	Prospectivo	1 ^a	Pacientes suspeitos de dengue de acordo com critérios da OMS (1997)	NI
BUONORA et al., 2016	Inglês	Brasil	Prospectivo	1 ^a	Pacientes (> 18 anos) com até 72 horas de uma doença febril aguda sem foco evidente de infecção	DEN: 36,6 ND: 36,5
CARTER et al., 2015	Inglês	Camboja	Prospectivo	1 ^b	Pacientes (< 16 anos) com doença febril ($\geq 38^{\circ}\text{C}$) não localizada	3,4
GAIKWAD et al., 2017	Inglês	Índia	Prospectivo	1 ^a	Pacientes suspeitos de dengue, com 1-9 dias de febre e sintomatologia clínica	22,7
GAN et al., 2014	Inglês	Cingapura	Prospectivo	1 ^b	Pacientes (≥ 18 anos) com uma doença febril aguda indiferenciada	34
HANG et al., 2009	Inglês	Vietnã	Prospectivo	1 ^a	Pacientes (> 2 anos) com suspeita clínica de dengue	DEN: 16 ND: 12
HUITS et al., 2017	Inglês	Bélgica	Retrospectivo	1 ^a	Viajantes com < 7 dias de febre ($> 37,8^{\circ}\text{C}$) e sem causa clínica óbvia	NI
JINDAL et al., 2014	Inglês	Índia	Retrospectivo	1 ^b	Casos clínicos suspeitos de dengue	NI
JUSOH et al., 2017	Inglês	Malásia	Prospectivo	2 ^b	Pacientes com suspeita clínica de dengue	NI
MATA et al., 2017	Inglês	Brasil	Prospectivo	1 ^a	Pacientes (> 18 anos) com até 4 dias de uma síndrome febril aguda sem diagnóstico estabelecido	34,5
NAJIOULLAH et al., 2011	Inglês	Martinica	Prospectivo	1 ^a	Pacientes com doença febril aguda (febre $\geq 38,4^{\circ}\text{C}$), com duração de até 8 dias	26
PAL et al., 2014	Inglês	Peru	Prospectivo	3 ^a	Pacientes com doença febril aguda (febre $\geq 38^{\circ}\text{C}$) por 5 dias ou menos e sintomatologia clínica	DEN: 30,5 ND: 29
PARANAVITANE et al., 2014	Inglês	Sri Lanka	Prospectivo	1 ^a	Pacientes (> 18 anos) com suspeita de infecção aguda por dengue	NI
PUN et al., 2012	Inglês	Nepal	Prospectivo	1 ^c	Pacientes febris com sintomas clínicos e suspeitos de infecção por DENV	35,5
SÁENZ-BOLAÑOS et al., 2008	Espanhol	Costa Rica	Prospectivo	1 ^c	Pacientes com suspeita de dengue	NI
SHRIVASTAVA et al., 2011	Inglês	Índia	Prospectivo	1 ^a	Pacientes clinicamente suspeitos de dengue	NI
SIMONNET et al., 2017	Inglês	Guiana Francesa	Prospectivo	1 ^b	Pacientes com dengue provável de acordo com os critérios da OMS (2009)	17
TRICOU et al., 2010	Inglês	Vietnã	Prospectivo	2 (1 ^a , 1 ^b)	Pacientes (> 6 meses) com suspeita clínica de dengue e febre por menos de 7 dias	DEN: 12 ND: 9
VICKERS et al., 2017	Inglês	Jamaica	Prospectivo	1 ^a	Pacientes com doença febril	13
VIVEK et al., 2017	Inglês	Índia	Prospectivo	1 ^a	Crianças com dengue suspeita ou provável, de acordo com diretrizes da OMS (2009)	6,8

^aTR para detecção de NS1; ^bTR para detecção de NS1 e IgG/ IgM; ^cTR para detecção de IgG/ IgM; DEN: Dengue; ND: Não dengue; NI: Não informado.

Fonte: (Do autor, 2019).

A população foi constituída por indivíduos de ambos os sexos (dados não mostrados) em todos os estudos que relataram esta característica, 7 deles não o fizeram (BISORDI et al., 2011; BUONORA et al., 2016; HUIITS et al., 2017; JINDAL et al., 2014; JUSOH et al., 2017; PARANAVITANE et al., 2014; SÁENZ-BOLAÑOS et al., 2008).

A idade foi utilizada como fator de elegibilidade para alguns autores, que selecionaram apenas indivíduos adultos (maiores de 18 anos) para seus estudos (BUONORA et al., 2016; GAN et al., 2014; MATA et al., 2017; PARANAVITANE et al., 2014), apenas crianças (CARTER et al., 2015; VIVEK et al., 2017), ou ambos (HANG et al., 2009; TRICOU et al., 2010). Os demais 12 autores, não determinaram idade como critério de seleção da população estudada. Pode-se observar a grande variabilidade da faixa deste parâmetro entre os estudos, porém aqui cabe destacar que apesar de alguns estudos (ANTONY; CELINE, 2014; EL-GILANY; ELDEIB; HAMMAD, 2010; GUILARDE et al., 2008; YEW et al., 2009) constatarem que a dengue afeta principalmente determinados grupos (como adultos jovens), esta é uma doença viral que pode acometer todo e qualquer indivíduo, independente do sexo e idade, afetando em maior índice aqueles que estejam mais susceptíveis ao vetor.

Com relação às características clínicas da população, os estudos utilizaram como critério de seleção para amostragem, pacientes definidos com suspeita clínica de infecção por DENV. A febre, uma das principais características clínicas desta doença (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2009), é um critério citado e utilizado para elegibilidade da população em grande parte dos estudos, variando seu grau e sua duração. Alguns autores (GAIKWAD et al., 2017; PAL et al., 2014) também utilizam outros sintomas para definição de casos suspeitos, como cefaleia, mialgia, dor retro-orbital. Outros autores (BISORDI et al., 2011; SIMONNET et al., 2017; VIVEK et al., 2017) utilizaram critérios definidos pelas diretrizes publicadas pela OMS, nos anos de 1997, 2009 e 2012. Cabe salientar que, apesar da infecção pelo DENV não possuir sintomas específicos e que estes podem ser confundidos com outras infecções, os estudos foram conduzidos em áreas endêmicas da doença, e alguns ainda em momentos de ocorrência de surtos, sendo a dengue a principal causa suspeita da sintomatologia apresentada pelos pacientes.

As Tabelas 4 e 5 mostram as características dos estudos separados por marcador avaliado (NS1 e IgM, respectivamente), frente a parâmetros como TR avaliado, com seu nome e respectivo fabricante; matriz de análise utilizada para realização do TR; número amostral utilizado e o padrão de referência empregado para comparação e avaliação da sensibilidade e especificidade de cada TR.

Tabela 4 – Características dos estudos que avaliaram testes rápidos (TRs) para detecção do antígeno NS1 na revisão sistemática da acurácia de TRs para diagnóstico da dengue

TESTE AVALIADO (Fabricante)	ESTUDOS	MATRIZ DE ANÁLISE	Nº	PADRÃO DE REFERÊNCIA
<i>Dengue NS1 Ag STRIP</i> (Bio-Rad)	BISORDI et al., 2011	Soro	266	Isolamento Viral
	HANG et al., 2009	Plasma	138	Real-time RT-PCR
	NAJIOULLAH et al., 2011	Soro	525	RT-PCR
	PAL et al., 2014	Soro	193	Isolamento Viral
	TRICOU et al., 2010	Plasma	292	Real-time RT-PCR
<i>SD Bioline Dengue Duo NS1 and IgG/IgM</i> (Standard Diagnostic Inc.)	CARTER et al., 2015	Sangue Total / Soro	328	ELISA NS1
	GAN et al., 2014	Sangue Total	197	Real time RT-PCR, isolamento viral, ELISA NS1
	JUSOH et al., 2017	Soro	86	ELISA NS1
	SIMONNET et al., 2017	Soro	3347	ELISA NS1
	TRICOU et al., 2010	Plasma	292	Real-time RT-PCR
<i>SD Bioline Dengue</i> (Standard Diagnostic Inc.)	HUITS et al., 2017	NI	308	RT-PCR
	PAL et al., 2014	Soro	192	Isolamento Viral
	PARANAVITANE et al., 2014	Soro	156	ELISA NS1
	SHRIVASTAVA et al., 2011	Soro	91	ELISA NS1
<i>Dengue Eden Test Bioeasy</i> (Standard Diagnostic Inc.)	BUONORA et al., 2016	Soro	325	RT-PCR
	MATA et al., 2017	Soro	142	RT-PCR, ELISA NS1
<i>Dengue Day 1 Test</i> (J Mitra and Co.)	JINDAL et al., 2014	Soro	1787	ELISA NS1
	VIVEK et al., 2017	Soro	211	RT-PCR
<i>PANBIO - Dengue Early Rapid</i> (Inverness Medical)	PAL et al., 2014	Soro	193	Isolamento Viral
<i>Dengue NS1 Antigen Card Test</i> (Bhat Bio-Scan)	GAIKWAD et al., 2017	Soro	200	Real-time RT-PCR
<i>ProDetect Dengue Duo NS1 Ag IgG/IgM Rapid Test</i> (Mediven)	JUSOH et al., 2017	Soro	86	ELISA NS1
<i>OneStep Dengue NS1 RapiDip™ InstaTest</i> (Diagnostic Automation Cortez Diagnostics, Inc.)	VICKERS et al., 2017	Soro	339	ELISA NS1

ELISA: ensaio imunoenzimático; RT-PCR: reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa; NI – Não informado.

Fonte: (Do autor, 2019)

Tabela 5 – Características dos estudos que avaliaram testes rápidos (TRs) para detecção do anticorpo IgM na revisão sistemática da acurácia de TRs para diagnóstico da dengue

TESTE AVALIADO (Fabricante)	ESTUDOS	MATRIZ DE ANÁLISE	Nº	PADRÃO DE REFERÊNCIA
<i>SD Bioline Dengue Duo NS1 and IgG/IgM</i> (Standard Diagnostic Inc.)	CARTER et al., 2015	Sangue Total / Soro	324	ELISA de captura IgM
	SIMONNET et al., 2017	Soro	3347	ELISA de captura IgM
<i>SD dengue IgG/IgM</i> (Standard Diagnostics)	PUN et al., 2012	Soro	131	ELISA de captura IgM
<i>Dengue Duo cassette IgM/IgG</i> (Pambio Diagnostics)	SÁENZ-BOLAÑOS et al., 2008	Soro	828	ELISA de captura IgM
<i>Dengue Day 1 Test</i> (J Mitra and Co.)	JINDAL et al., 2014	Soro	1787	ELISA de captura IgM

ELISA: ensaio imunoenzimático.

Fonte: (Do autor, 2019).

Um total de 16.111 amostras e pacientes foram incluídos, sendo 6.417 em estudos que avaliaram TRs para detecção de IgM e 9.694 em estudos que avaliaram TRs para detecção de NS1.

Com relação a avaliação de TRs comerciais para detecção de antígeno NS1, 12 avaliaram somente 1 TR, 2 avaliaram 2 TRs (JUSOH et al., 2017; TRICOU et al., 2010) e 1 estudo, de PAL e colaboradores (2014), avaliou simultaneamente 4 TRs, porém 1 deles era destinado apenas para pesquisa, não se tratando de um TR comercial, sendo somente considerados nesta revisão os outros 3 TRs avaliados (Tabela 4).

Em relação aos estudos referentes à avaliação da sensibilidade e especificidade de TRs para detecção do anticorpo IgM (Tabela 5), 2 estudos avaliaram 1 TR frente a este parâmetro (PUN et al., 2012; SÁENZ-BOLAÑOS et al., 2008).

Três estudos avaliaram a sensibilidade e especificidade de ambos os parâmetros, NS1 e IgM, de 1 TR que possibilita a detecção simultânea desses marcadores (CARTER et al., 2015; JINDAL et al., 2014; SIMONNET et al., 2017).

Para a síntese quantitativa, uma vez que um mesmo estudo pode ter analisado mais de um TRs ou empregado na detecção de mais de um marcador de um mesmo TR, a avaliação de cada marcador (NS1 e IgM) por TR foi considerado como um estudo independente.

4.3 Avaliação da qualidade dos estudos

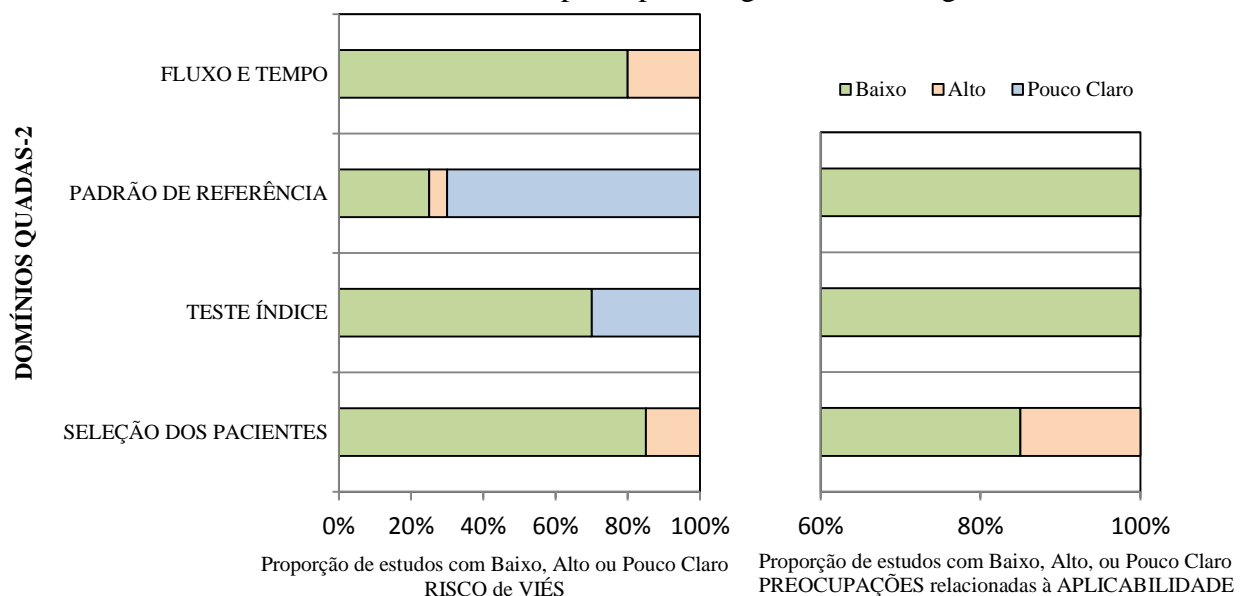
A qualidade metodológica de um estudo tem sido definida como a extensão pela qual todos os aspectos do desenho e condução do estudo podem conferir proteção contra vieses sistemáticos e não sistemáticos que podem induzir a um pobre desempenho do estudo e erros de inferências (TATSIONI et al., 2005).

RS de estudos de acurácia diagnóstica são muitas vezes caracterizadas por resultados marcadamente heterogêneos provenientes de diferenças no desenho e na realização dos estudos incluídos. A avaliação cuidadosa da qualidade dos estudos incluídos é, portanto, essencial (WHITING et al., 2011).

As análises da qualidade, dos riscos de vieses no desenho e condução dos estudos selecionados foram realizadas através do instrumento QUADAS-2 proposto por Whiting e colaboradores (2011), com adaptações realizadas para o presente estudo, empregando um formulário padronizado, APÊNDICE C. Os resultados da avaliação dos estudos são mostrados no Gráfico 3 e na Tabela 6.

Quanto à qualidade metodológica dos estudos incluídos, apenas 10% (2/20) deles (BUONORA et al., 2016; MATA et al., 2017) cumpriram todos os critérios do QUADAS-2, os demais apresentaram pelos menos um dos critérios avaliados como “incerto”, Tabela 6.

Gráfico 3 – Resultado da avaliação da qualidade (QUADAS-2) de estudos selecionados na revisão sistemática da acurácia de testes rápidos para diagnóstico da dengue



Fonte: (Do autor, 2019).

Tabela 6 – Resultados da aplicação dos critérios QUADAS-2 por estudo selecionado na revisão sistemática da acurácia de testes rápidos para diagnóstico da dengue

ESTUDO	RISCO DE VIESES				APLICABILIDADE		
	Seleção dos pacientes	Teste índice	Padrão de referência	Fluxo e tempo	Seleção dos pacientes	Teste índice	Padrão de referência
BISORDI et al., 2011	▼	?	?	▼	▼	▼	▼
BUONORA et al., 2016	▼	▼	▼	▼	▼	▼	▼
CARTER et al., 2015	▼	?	?	▼	▼	▼	▼
GAIKWAD et al., 2017	▼	▼	?	▼	▼	▼	▼
GAN et al., 2014	▼	▼	▼	▲	▼	▼	▼
HANG et al., 2009	▲	▼	?	▼	▲	▼	▼
HUITS et al., 2017	▼	?	▲	▼	▼	▼	▼
JINDAL et al., 2014	▼	▼	?	▼	▼	▼	▼
JUSOH et al., 2017	▲	?	?	▼	▲	▼	▼
MATA et al., 2017	▼	▼	▼	▼	▼	▼	▼
NAJIOULLAH et al., 2011	▼	▼	▼	▲	▼	▼	▼
PAL et al., 2014	▼	▼	?	▲	▼	▼	▼
PARANAVITANE et al., 2014	▼	▼	?	▲	▼	▼	▼
PUN et al., 2012	▼	?	▼	▼	▼	▼	▼
SÁENZ-BOLAÑOS et al., 2008	▼	▼	?	▼	▼	▼	▼
SHRIVASTAVA et al., 2011	▼	?	?	▼	▼	▼	▼
SIMONNET et al., 2017	▼	▼	?	▼	▼	▼	▼
TRICOU et al., 2010	▼	▼	?	▼	▼	▼	▼
VICKERS et al., 2017	▼	▼	?	▼	▼	▼	▼
VIVEK et al., 2017	▲	▼	?	▼	▲	▼	▼

▲ = Alto Risco, ▼ = Baixo Risco, ? = Risco Incerto.

Fonte: (Do autor, 2019).

O risco de viés referente ao domínio *Seleção dos Pacientes* dos estudos selecionados foi tido como baixo em 85% (17/20), sendo alto em apenas 15% dos estudos (3/20), que utilizaram determinados grupos de amostras nas análises, além daquelas amostras de pacientes suspeitos de infecção por DENV, cuja condição era de conhecimento prévio, Gráfico 3. Hang e colaboradores (2009) selecionaram amostras congeladas de plasma de pacientes provenientes de outros estudos, com diagnósticos confirmados para outras doenças (malária, leptospirose e febre entérica); Jusoh e colaboradores (2017) obtiveram amostras negativas de indivíduos normais saudáveis vivendo em áreas não-endêmicas e Vivek e colaboradores (2017) utilizaram amostras de voluntários saudáveis assintomáticos.

No domínio *Teste Índice*, o risco de viés foi baixo em 70% (14/20) dos estudos e incerto nos outros 30% (6/20). No domínio *Padrão de Referência*, foi predominantemente incerto em 70% (14/20), baixo em 25% (5/20), e alto em 5% (1/20) dos estudos. O número considerável de risco de viés “*incerto*” nestes 2 domínios deve-se unicamente ao fato de os autores não mencionarem ou não ficar claro na descrição de suas metodologias o cegamento da interpretação dos resultados do teste índice em relação ao padrão de referência, e vice-versa. Interpretar os resultados do teste de referência quando já se conhece os resultados do teste índice (sendo o contrário também verdadeiro) pode ser tendencioso e levar a uma superestimação da precisão do teste índice (LIJMER et al., 1999). O cegamento é importante para evitar a influência e viés nos resultados, principalmente quando a interpretação é subjetiva, caso dos TR imunocromatográficos, cuja leitura é realizada visualmente, através da identificação do surgimento de coloração. Huits e colaboradores (2017) tiveram alto risco de viés no domínio *Padrão de Referência*, pois utilizaram como padrão de referência para comparação com um TR para detecção de NS1 um conjunto composto tanto por PCR para demonstração do DENV quanto ELISAs para detecção de anticorpos IgM e IgG, marcadores não presentes no TR em avaliação.

Com relação ao risco de viés do domínio *Fluxo e Tempo*, 20% (4/20) dos estudos apresentaram risco de viés alto. Gan e colaboradores (2014) excluíram 47 amostras com resultados inconclusivos obtidos pelo padrão de referência; Najioullah e colaboradores (2011) não consideraram nas análises amostras de 12 pacientes com resultados ambíguos no TR; Pal e colaboradores (2014) excluíram das análises amostras de 9 pacientes com resultados positivos para IgM (TR em avaliação era referente a identificação de NS1) e finalmente, Paranavitane e colaboradores (2014) não avaliaram o TR em amostras de 30 pacientes (sem menção ao motivo ou alguma explicação).

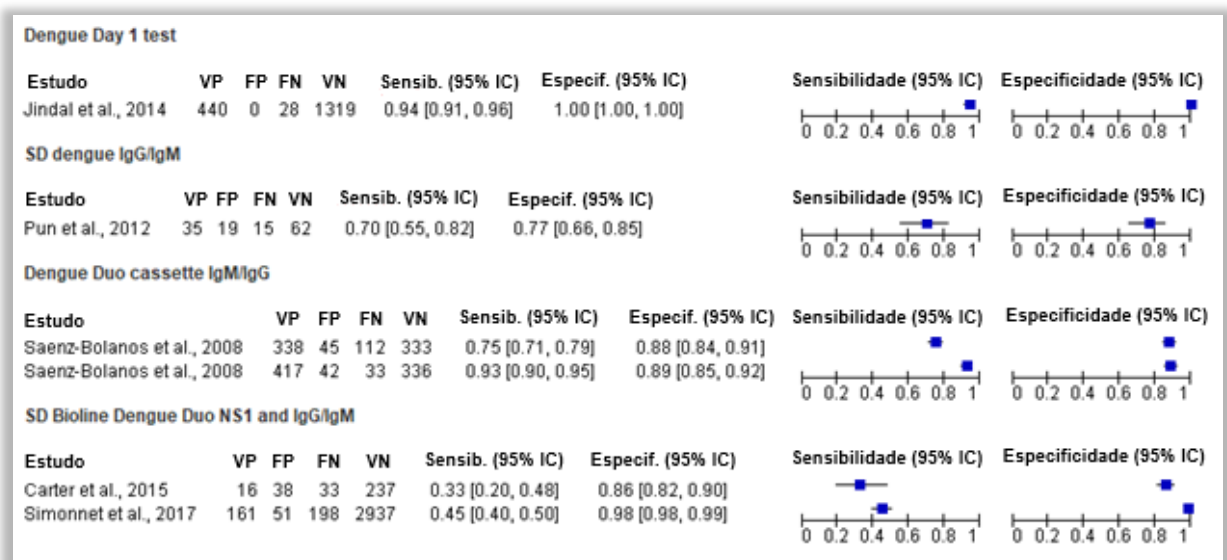
Todos os estudos apresentaram conceitos satisfatórios com baixo risco de viés em questão de aplicabilidade nos domínios *Teste Índice* e *Padrão de Referência*. O domínio *Seleção dos Pacientes* obteve risco de viés alto em 15% (3/20) dos estudos. Em 3 estudos (HANG et al., 2009; JUSOH et al., 2017 e VIVEK et al., 2017) existe uma preocupação que os pacientes incluídos não correspondem à questão de pesquisa, uma vez que tais autores utilizaram diferentes grupos de amostras além daqueles de pacientes clinicamente suspeitos de terem infecção pelo DENV.

4.4 Síntese e sumarização dos estudos que avaliaram testes rápidos para detecção de anticorpos IgM

Quatro TRs imunocromatográficos comerciais para a detecção de anticorpos IgM contra o DENV foram empregados. Os estudos de Carter e colaboradores (2015) e Simonnet e colaboradores (2017) avaliaram o teste *SD Bioline Dengue Duo NS1 and IgG/IgM* (Standard Diagnostic Inc.). Pun e colaboradores (2012) avaliaram o teste *SD dengue IgG/IgM* (Standard Diagnostics). Sáenz-Bolaños e colaboradores (2008) avaliaram o teste *Dengue Duo cassette IgM/IgG* (Panbio Diagnostics). E finalmente, Jindal e colaboradores (2014) avaliaram o teste *Dengue Day 1 Test* (J Mitra and Co.).

A Figura 16 apresenta os dados de VP, FP, FN e VN, os valores de sensibilidade e especificidade expressos em valores médios e intervalos de confiança de 95% e os respectivos gráficos floresta obtidos para cada um dos estudos que avaliaram os TRs para detecção de anticorpos IgM contra o DENV.

Figura 16 – Sensibilidade e especificidade diagnóstica de testes rápidos para detecção de IgM contra o vírus da dengue e respectiva representação em forma de gráficos floresta



Valores de sensibilidade (Sensib.) e especificidade (Especif.) obtidos a partir de estudos por teste rápido analisado foram expressos como média e intervalo de confiança (IC) de 95%.

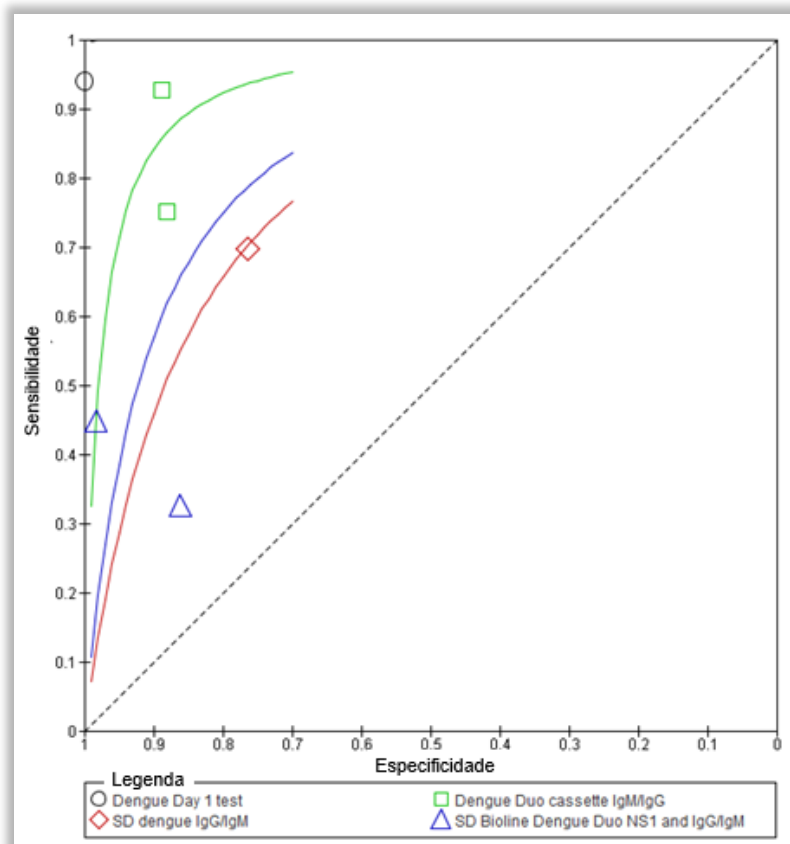
Fonte: (Do autor, 2019).

A sensibilidade e especificidade da detecção de IgM da dengue pelos TRs variou de 33% (20–48%) a 94% (91–96%) e 77% (66–85%) a 100% (100–100%), respectivamente. O teste padrão de referência utilizado para determinar a acurácia diagnóstica dos TRs avaliados em todos os estudos foi o ELISA de captura de IgM, de diferentes fabricantes (Tabela 5). As

amostras sanguíneas de pacientes foram oriundas da Ásia (Camboja, Índia, Nepal) e Américas (Costa Rica, Guiana Francesa) e o quantitativo utilizado por estudo variou de 131 a 3.347 amostras (Tabelas 3 e 5). Apenas Jindal e colaboradores (2014) realizaram um estudo retrospectivo, os demais foram todos prospectivos (Tabela 3).

Aqueles testes em que só foi possível a identificação e seleção de um único estudo apenas foram discutidos qualitativamente, uma vez que o sumário das evidências não foi possível. A Figura 17 mostra os valores de sensibilidade e especificidade de cada estudo individual realizado por TR representados graficamente por um modelo de curva ROC. Curvas ROC são empregadas em RS's para exibir os resultados de uma série de estudos permitindo que a sensibilidade e especificidade de cada estudo seja plotada como um ponto separado nesta curva. Testes com melhor desempenho apresentam linhas próximas ao canto superior esquerdo das curvas ROC (DEEKS, 2001).

Figura 17 – Curva receptor operador (ROC) de valores de sensibilidade e especificidade de estudos individuais por teste rápido imunocromatográfico analisado para detecção de IgM contra o vírus da dengue



Fonte: (Do autor, 2019).

Através da inspeção visual desta curva observamos que o TR *SD Bioline Dengue Duo NS1 and IgG/IgM* no estudo realizado por Carter e colaboradores (2015) e do TR *SD dengue IgG/IgM* analisado por Pun e colaboradores (2012) apresentaram os menores valores de sensibilidade e especificidade, respectivamente. Diferentemente, *Dengue Day 1 Test* analisado por Jindal e colaboradores (2014), apresentou a maior sensibilidade e especificidade.

4.4.1 Dengue Day 1 test (J Mitra and Co.)

O *Dengue Day 1 test* trata-se de um TR imunocromatográfico de fase sólida que consiste em dois dispositivos, um para detecção qualitativa do antígeno NS1 da dengue e um segundo dispositivo para detecção diferencial de anticorpos IgM e IgG para o DENV no soro/plasma humano. Para teste de anticorpos IgM/IgG sua sensibilidade é de 95% e sua especificidade de 97% (J MITRA, 2018).

Jindal e colaboradores (2014) avaliaram tanto a detecção do anticorpo IgM, quanto a do antígeno NS1 (discutida mais adiante). Para a avaliação da detecção de IgM, utilizaram 1.787 amostras de soro de pacientes clinicamente suspeitos de dengue durante um surto da doença na Índia em 2011, e utilizaram como teste de referência um ELISA de captura IgM (Tabelas 3 e 5).

Obtiveram valores de sensibilidade de 94,1% (91–96%) e de especificidade de 100% (100–100%) ambos expressos como valores médios e limites de confiança de 95% (Figuras 16 e 17), condizentes com os valores informados pelo fabricante do produto.

4.4.2 SD Dengue IgG/IgM (Standard Diagnostics)

O teste *SD Dengue IgG/IgM* é um teste imunocromatográfico *in vitro* em fase sólida para a detecção qualitativa e diferencial de anticorpos IgG e IgM para os sorotipos do DENV-1, 2, 3 e 4, em soro, plasma ou sangue total humano. A sensibilidade e especificidade do teste declaradas pelo fabricante é de 91,2% e 92%, respectivamente (STANDARD DIAGNOSTICS, 2009).

Pun e colaboradores (2012) avaliaram o TR com 131 amostras de soro de pacientes nepaleses febris clinicamente suspeitos de infecção por DENV durante epidemia da doença em 2010 (Tabelas 3 e 5) e utilizaram como teste de referência o *SD Dengue IgM Capture ELISA* (Standard Diagnostics).

A sensibilidade encontrada do TR foi de 70% (55–82%) e a especificidade foi de 76,5% (66–85%) (Figuras 16 e 17), ambos expressos como valores médios e limites de confiança de 95%, sendo os valores obtidos bem abaixo dos especificados pelo fabricante, portanto não sendo altamente sensível para detectar casos de dengue.

Os autores relatam como possível justificativa para a variação na sensibilidade e especificidade do *kit* de diagnóstico, as condições de temperatura do armazenamento e transporte, a prevalência de outras doenças endêmicas febris (como malária, leptospirose, brucelose e até influenza), podendo levar a uma reatividade falso-positiva do TR, e a coleta de amostra no momento adequado após o início da doença, uma vez que o anticorpo IgM da dengue é produzido cerca de cinco dias após o início da doença (PUN et al., 2012).

4.4.3 Dengue Duo cassette IgM/IgG (Panbio Diagnostics)

Dengue Duo cassette IgM/IgG é um TR de imunocromatografia usado para detectar anticorpos IgM e IgG de alto título para o DENV no soro, plasma e sangue total humano. A sensibilidade na dengue primária é de 85,1% e a especificidade é de 91,6%, conforme declarado pelo fabricante (ABBOTT, 2019a).

Sáenz-Bolaños e colaboradores (2008) avaliaram o TR com amostras de soro de 828 pacientes suspeitos de dengue da Costa Rica, entre 2005 e 2006 (Tabelas 3 e 5). O TR foi realizado em diferentes estabelecimentos de saúde locais, e os resultados foram comparados com aqueles obtidos pelo padrão de referência, um ELISA de captura de IgM, realizado em um laboratório de referência do país. Neste mesmo laboratório, o TR foi realizado novamente com as mesmas amostras e mais uma vez comparado com os resultados do ELISA (Tabela 5). Por se tratar das mesmas amostras, a síntese e sumarização dos valores não foi possível, sendo feita apenas uma análise descritiva.

A sensibilidade e especificidade, obtidas pelos autores nos TRs realizados nos estabelecimentos de saúde locais e expressos como valores médios e limites de confiança de 95%, foram de 75% (71–79%) e 88% (84–91%), respectivamente, valores mais baixos do que aqueles relatados pelo fabricante. Já os valores obtidos no laboratório de referência foram de 93% (90–95%) e 89% (85–92%) para sensibilidade e especificidade, respectivamente (Figuras 16 e 17), estando de acordo com os relatados pelo fabricante. Vale destacar que neste estudo não se diferenciou dengue primária da secundária.

Apesar das condições locais adequadas para realização do teste, a diferença observada nos resultados pode ser devida a condições inerentes ao próprio método e o desempenho

diário do pessoal que trabalha nos diferentes dias, realizando outros exames laboratoriais e atendendo a múltiplas tarefas simultaneamente. Os resultados da determinação de anticorpos IgM devem sempre ser interpretados com cautela, pois o nível de anticorpos detectáveis depende dos dias de evolução da doença em que se coletou a amostra analisada, e se o paciente está sofrendo uma infecção primária ou secundária. Além disso, pode ocorrer reatividade cruzada com outros flavivírus (SÁENZ-BOLAÑOS et al., 2008).

Numa RS e metanálise realizada por Blacksell e colaboradores (2006) para determinar a acurácia de TRs para o diagnóstico da infecção aguda por dengue, os valores agrupados de sensibilidade e especificidade do TR da Panbio foram de 86% (74–92%) e 88% (78–94%) respectivamente, expressos como valores médios e limites de confiança de 95%. Os autores conduziram a pesquisa nas bases de dados MEDLINE, EMBASE, Cochrane Library, Web of Science e SCIRUS, sem restrições de idioma e ao final 11 estudos foram incluídos na metanálise, sendo 5 anteriores ao ano de 2000. Cabe salientar que nenhum desses estudos cumpriu os critérios de seleção estabelecidos nesta RS.

4.4.4 SD Bioline Dengue Duo NS1 and IgG/IgM (Standard Diagnostic Inc.)

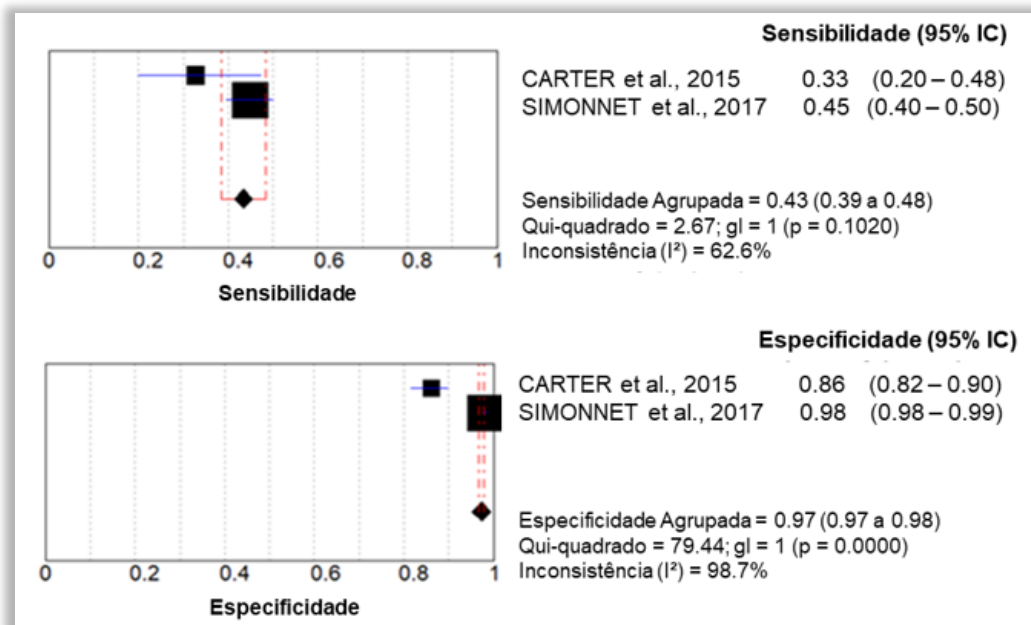
O *SD Bioline Dengue Duo kit* é um ensaio rápido imunocromatográfico, de uma etapa, que contém dois dispositivos de teste, desenvolvidos para detectar tanto o antígeno NS1 quanto os anticorpos IgG/IgM do DENV em soro, plasma e sangue total humano. A sensibilidade é de 94,2% e a especificidade é de 96,4% para detecção de IgM/IgG, conforme declarado pelo fabricante (ABBOTT, 2019b).

Carter e colaboradores (2015) avaliaram tanto a detecção do anticorpo IgM, quanto a do antígeno NS1 (discutida mais adiante). Referente a avaliação do TR para detecção de IgM, utilizaram 324 amostras de sangue total e/ou soro de pacientes (menores de 16 anos) com doença febril não localizada, durante o ano de 2010 no Camboja (Tabelas 3 e 5). O teste de referência escolhido utilizado para avaliação do desempenho da detecção de IgM foi ELISA *Panbio Dengue IgM Combo* (Panbio). Os valores de sensibilidade e especificidade expressos como valores médios e limites de confiança de 95% obtidos foram de 32,7% (20–48%) e 86,2% (82–90%), respectivamente. Os valores declarados pelo fabricante à época da realização do estudo foram: sensibilidade de 99,4% e especificidade de 93%. A baixa sensibilidade para o diagnóstico de infecção pelo DENV, provavelmente deve-se a alta co-prevalência de outras infecções (bacterianas), indicando a necessidade também de uma ampla avaliação microbiológica das doenças febris não localizadas.

Simonnet e colaboradores (2017) também avaliaram tanto a detecção do anticorpo IgM, quanto a do antígeno NS1 (discutida mais adiante). Referente a avaliação do TR para detecção de IgM, utilizaram 3.347 amostras de soro de pacientes da Guiana Francesa diagnosticados com dengue provável, de acordo com os critérios da OMS de 2009, durante pico da epidemia em 2013 (Tabelas 3 e 5). O teste de referência utilizado foi o ELISA *Dengue Fever Virus IgM Capture DxSelect™* (Focus Diagnostics). Os valores de sensibilidade e especificidade expressos como valores médios e limites de confiança de 95% obtidos foram de 45% (40–50%) e 98% (98–99%), respectivamente. Uma das razões para o fraco desempenho pode ser o número de dias desde o início dos sintomas, pois a maioria dos pacientes foi testada antes do dia 5, na janela de soroconversão. Uma segunda razão poderia ser, uma proporção significativa de infecções secundárias por dengue com baixos títulos IgM anti-DENV não detectado pelo teste utilizado (SIMONNET et al., 2017).

Os valores dos estudos individuais e resultados agrupados (efeito aleatório) de sensibilidade e especificidade encontram-se representados na Figura 18.

Figura 18 – Valores de sensibilidade e especificidade individuais e agrupados do teste rápido imunocromatográfico SD Bioline Dengue Duo NS1 and IgG/IgM



Valores de sensibilidade e especificidade individuais e agrupados expressos como média e limites de confiança de 95%. Modelo de efeitos aleatórios DerSimonian e Laird empregado para o cálculo dos valores agrupados de sensibilidade e especificidade representados como losango nos gráficos floresta. Valores dos índices I^2 de Higgins indicam heterogeneidade significativa ($I^2=62,6\%$) e considerável ($I^2=98,7\%$) para valores de sensibilidade e especificidade, respectivamente.

Fonte: (Do autor, 2019).

Os estudos mostram heterogeneidade para valores de sensibilidade, com Qui-quadrado = 2,67 (1gl) $p = 0,102$ e $I^2 = 62,6\%$ (heterogeneidade significativa) e para valores de especificidade, com Qui-quadrado = 79,44 (1gl) $p = 0,000$ e $I^2 = 98,7\%$, representando heterogeneidade considerável. O resultado da sensibilidade agrupada foi de 43% (38–48%) e da especificidade foi de 97% (97–98%) ambas expressas como valores médios e limites de confiança de 95%.

O reduzido número de estudos dificulta a inferência de conclusões a respeito dos valores agrupados e das possíveis causas de heterogeneidade entre os estudos. A detecção de anticorpos IgM anti-dengue é influenciada, entre outros fatores, pelo tempo do surgimento dos sintomas até a coleta da amostra para análise. O início dos sintomas ocorre geralmente 5 dias após a infecção, momento em que os pacientes procuram os serviços de saúde, podendo ser muito cedo para a detecção de anticorpos IgM (GUBLER, 1998). Uma análise mais profunda a respeito não pode ser realizada por falta de dados a respeito.

4.5 Síntese e sumarização dos estudos que avaliaram testes rápidos para detecção do antígeno NS1

Nove TRs imunocromatográficos comerciais baseados na detecção de NS1 foram usados. Cinco estudos (HANG et al., 2009; TRICOU et al., 2010; BISORDI et al., 2011; NAJIOULLAH et al., 2011; PAL et al., 2014) avaliaram o teste *Dengue NS1 Ag STRIP* (Bio-Rad) e cinco estudos (TRICOU et al., 2010; GAN et al., 2014; CARTER et al., 2015; JUSOH et al., 2017; SIMONNET et al., 2017) empregaram o TR *SD Bioline Dengue Duo NS1 and IgG/IgM* (Standard Diagnostic Inc.). Quatro estudos (SHRIVASTAVA et al., 2011; PAL et al., 2014; PARANAVITANE et al., 2014; HUIITS et al., 2017) avaliaram o teste *SD Bioline Dengue* (Standard Diagnostic Inc.). Dois estudos (BUONORA et al., 2016; MATA et al., 2017) avaliaram o teste *Bioeasy - Dengue Eden Test Bioeasy* (Standard Diagnostic Inc.) e dois estudos (JINDAL et al., 2014; VIVEK et al., 2017) o teste *Dengue Day 1 Test* (J Mitra and Co.). Pal e colaboradores (2014) avaliaram o teste *PANBIO - Dengue Early Rapid* (Inverness Medical); Gaikwad e colaboradores (2017), o teste *Dengue NS1 Antigen Card Test* (Bhat Bio-Scan); Jusoh e colaboradores (2017), o teste *ProDetect Dengue Duo NS1 Ag IgG/IgM rapid test* (Mediven); e Vickers e colaboradores (2017) avaliaram o nono TR *OneStep Dengue NS1 RapiDip™ InstaTest* (Diagnostic Automation Cortez Diagnostics, Inc.).

A Figura 19 apresenta os dados de VP, FP, FN e VN, os valores de sensibilidade e especificidade expressos em valores médios e intervalos de confiança de 95% e os respectivos

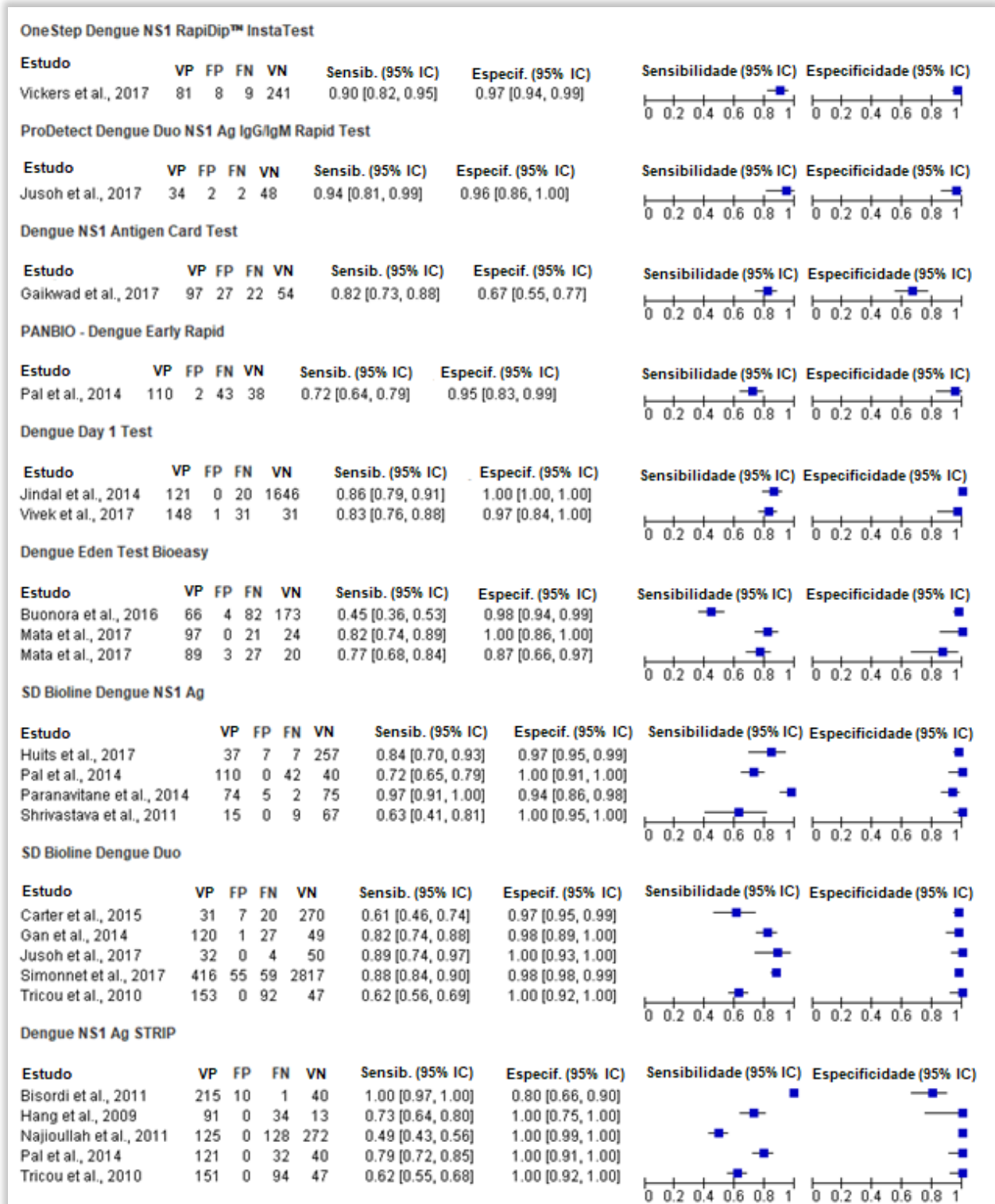
gráficos floresta de cada um dos estudos que avaliaram os TRs para detecção do antígeno NS1.

A sensibilidade e especificidade da detecção do NS1 da dengue variou de 45% (36–53%) a 100% (97–100%) e 67% (55–77%) a 100% (100–100%), respectivamente. Quatro diferentes metodologias foram usadas (algumas em combinação) como testes padrão de referência para determinar a acurácia diagnóstica dos TRs avaliados nos estudos, a saber: isolamento viral, RT-PCR, *real time* RT-PCR e ELISA de diferentes fabricantes (Tabela 4). As amostras de pacientes foram oriundas da Ásia (Camboja, Cingapura, Índia, Malásia, Sri Lanka, Vietnã) e Américas (Brasil, Guiana Francesa, Jamaica, Martinica, Peru) e o quantitativo utilizado variou de 86 a 3.347 amostras por estudo (Tabelas 3 e 4). Apenas Jindal e colaboradores (2014) e Huits e colaboradores (2017) realizaram um estudo retrospectivo, os demais foram todos prospectivos. Aqueles testes em que só foi possível a identificação e seleção de um único estudo apenas foram discutidos qualitativamente, uma vez que o sumário das evidências não foi possível.

A Figura 20 mostra os valores de sensibilidade e especificidade de cada estudo individual realizado por TR representados graficamente por um modelo de curva ROC.

Através da inspeção visual desta curva observamos que o TR Bioeasy - Dengue Eden Test Bioeasy no estudo de Buonora e colaboradores de 2016 e o TR Dengue NS1 Antigen Card Test analisado por Gaikwad e colaboradores (2017) apresentaram os menores valores de sensibilidade e especificidade, respectivamente. Diferentemente, o TR Dengue NS1 Ag STRIP analisado por Bisordi e colaboradores (2011) apresentou o maior valor de sensibilidade, enquanto o Dengue Day 1 Test avaliado por Jindal e colaboradores (2014) apresentou a melhor especificidade.

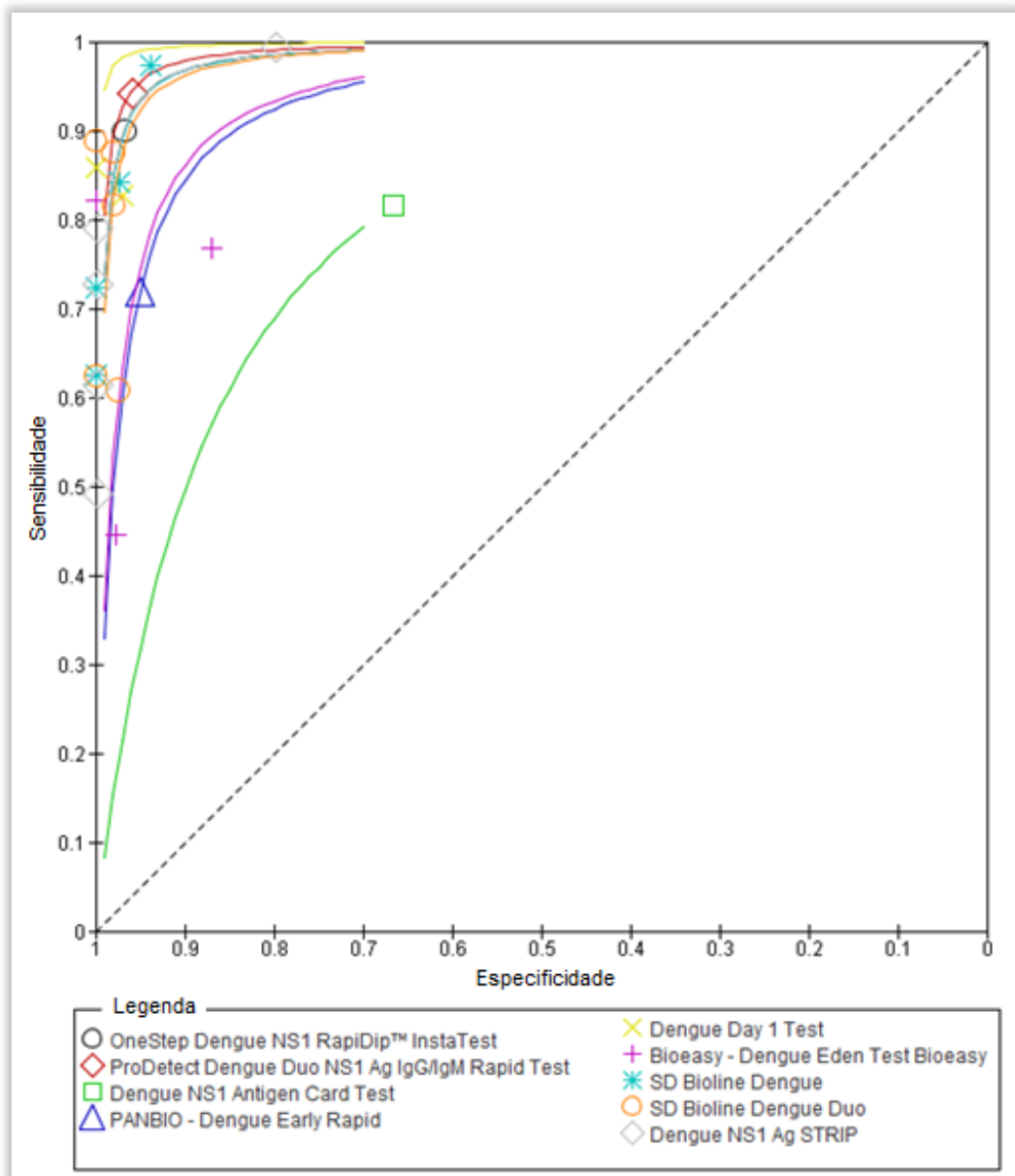
Figura 19 – Sensibilidade, especificidade diagnóstica de testes rápidos (TRs) para detecção de NS1 do vírus da dengue e respectiva representação em forma de gráficos floresta.



Sensibilidade (Sensib.) e especificidade (Especif.) de cada estudo de TR expressas como médias e intervalos de confiança (IC) de 95%.

Fonte: (Do autor, 2019).

Figura 20 – Curva receptor operador (ROC) de valores de sensibilidade e especificidade de estudos individuais por teste rápido imunocromatográfico analisado para detecção do antígeno NSI do vírus da dengue



Fonte: (Do autor, 2019).

4.5.1 OneStep Dengue NS1 RapiDip™ InstaTest (Diagnostic Automation Cortez Diagnostics, Inc.)

OneStep Dengue NS1 RapiDip™ InstaTest é um imunoensaio qualitativo de membrana para a detecção do antígeno NS1 no soro humano. Os valores de sensibilidade e especificidade declarados pelo fabricante são 76,5% e 95,3%, respectivamente (DIAGNOSTIC AUTOMATION, 2017).

Vickers e colaboradores (2017) avaliaram o teste com amostras de soro congeladas obtidas de pacientes com doenças febris que procuraram serviços de saúde durante o ano de 2012 na Jamaica e utilizaram como teste padrão de referência o ELISA *SD Dengue NS1 AG*, da Standard Diagnostics Inc (Tabelas 3 e 4).

O TR identificou corretamente 81 das 90 amostras de dengue positivas para o ELISA, dando uma sensibilidade de 90% (82–95%). Das 249 amostras negativas no ELISA, o resultado do TR foi negativo em 241 amostras, com uma especificidade de 97% (94–99%) (Figuras 19 e 20). Os citados valores de sensibilidade e especificidade foram expressos como valores médios e intervalos de confiança de 95%. O TR apresentou neste estudo valores de sensibilidade e especificidade mais altos em relação aos declarados pelo fabricante.

O ensaio foi capaz de detectar o antígeno NS1 do dia 0 ao 13º dia após o início do sintoma. Os autores também avaliaram a sensibilidade na infecção primária (89,8%) e na infecção secundária (90,3%), não sendo significativamente diferente, contudo estudos relatam maiores sensibilidades de NS1 em infecções primárias do que em secundárias e estas são explicadas pela presença de anticorpos IgG anti-NS1 que formam complexos com antígenos NS1 (ANDRIES et al., 2012; OSORIO et al., 2010). A utilização apenas de métodos sorológicos para definir casos positivos e negativos poderia ter sido melhorada pelo uso de métodos moleculares e/ou isolamento de vírus, sendo um possível ponto questionável do estudo (VICKERS et al., 2017).

4.5.2 ProDetect Dengue Duo NS1 Ag IgG/IgM Rapid Test (Mediven)

O *ProDetect Dengue Duo NS1 Ag IgG/IgM Rapid Test* é um teste imunocromatográfico para a triagem visual do antígeno NS1 e anticorpos IgG/IgM da dengue no sangue total humano, soro ou plasma, como uma ajuda no diagnóstico da infecção por dengue. Apresenta 95.8% de sensibilidade e 96.1% de especificidade para detecção de NS1 (MEDIVEN, 2018).

Jusoh e colaboradores (2017) realizaram um estudo na Malásia com 81 amostras de soro de pacientes suspeitos de dengue, além de outras 5 amostras negativas, obtidas de pessoas normais e saudáveis que vivem em áreas não endêmicas de dengue (Tabelas 3 e 4). Foi utilizado como teste de referência o ELISA *Platelia™ Dengue NS1 antigen capture test* (Bio-Rad), resultando em valores de sensibilidade de 94% (81–99%) e de especificidade de 96% (86–100%) expressos em valores médios e intervalos de confiança de 95% (Figuras 19 e 20). O TR apresentou sensibilidade e especificidade condizentes com os informados pelo

fabricante, e o desempenho geral do método foi satisfatório quando comparado com o ELISA NS1.

4.5.3 Dengue NS1 Antigen Card Test (Bhat Bio-Scan)

Dengue NS1 Antigen Card Test é um imunoenensaio cromatográfico rápido para a detecção do antígeno NS1 da dengue em plasma ou soro humano, gerando resultados em 20 minutos. Sua sensibilidade é 93,4%, e sua especificidade de 99% (BHAT BIO-TECH, 2013).

Gaikwad e colaboradores (2017) realizaram um estudo em 2015, na Índia, com 200 amostras de soro de pacientes clinicamente suspeitos de dengue, com febre de 1 a 9 dias, juntamente com sintomas como cefaleia, mialgia, dor retro-orbital, erupção cutânea e manifestações hemorrágicas (Tabela 3). Os autores avaliaram o TR em comparação com *Real Time* RT-PCR para o diagnóstico precoce da dengue (Tabela 4), e os valores de sensibilidade e especificidade, expressos em valores médios e intervalos de confiança de 95%, obtidos foram de 82% (73–88%) e 67% (55–77%), respectivamente (Figuras 19 e 20). Os valores encontrados foram bem abaixo daqueles declarados pelo fabricante, principalmente no que se refere à especificidade.

O TR apresentou maiores valores de sensibilidade nos dias 3-5 da febre: no 3º dia da febre, a sensibilidade foi de 96,6%, no 4º dia foi de 90,5% e no 5º dia foi de 80%. No 1º dia da febre o TR apresentou apenas 20% de sensibilidade, contudo com 8 pacientes enquadrados nesta categoria, foi um número estatisticamente insignificante para chegar à alguma conclusão (GAIKWAD et al., 2017).

4.5.4 PANBIO® Dengue Early Rapid (Inverness Medical)

O *Panbio® Dengue Early Rapid* é um ensaio imunocromatográfico *in vitro*, em um único estágio, desenvolvido para a determinação qualitativa do antígeno NS1 do DENV no soro, plasma ou sangue total humano para o diagnóstico da infecção aguda precoce por dengue. Apresenta sensibilidade de 91,89% e especificidade de 98,39% (ABBOTT, 2019c).

Pal e colaboradores (2014) avaliaram 3 TRs, dentre eles o teste Panbio. Devido a restrições de volume das amostras, nem todas foram testadas em todos os testes avaliados. Para a avaliação deste teste, utilizaram 106 amostras de soro de pacientes do Peru, com doença febril aguda (febre por até cinco dias), acompanhada de dor de cabeça, dor muscular, ocular e/ou articular (Tabela 3). Isolamento viral foi o método escolhido como padrão de

referência (Tabela 4), e os resultados obtidos para sensibilidade expressos em valores médios e intervalos de confiança de 95%, foram 72% (64–79%) e para especificidade, 95% (83–99%) (Figuras 19 e 20). O valor de especificidade ficou dentro do esperado em comparação com aquele declarado pelo fabricante, enquanto a sensibilidade ficou abaixo do declarado.

Três fatores poderiam ser correlacionados com a probabilidade de uma determinada amostra produzir um resultado FN: alterações temporais nos níveis de NS1 no soro de pacientes, com pico em torno do 4º ao 5º dia; *status* da infecção, com sensibilidade geral menor em infecções secundárias; devido ao fato da formação de complexos antígeno-anticorpo reduzindo o acesso aos epítomos-alvo para os artigos de teste; e ao sorotipo infectante do DENV: a perda da sensibilidade geral ocorreu devido à baixa sensibilidade (44%) ao DENV-4, DENV-1 mostrou maior sensibilidade (93%), seguido do DENV-2 (81%) e DENV-3 (74%) (PAL et al., 2014).

4.5.5 Dengue Day 1 Test (J Mitra and Co.)

A descrição detalhada bem como as características do teste *Dengue Day 1 Test* encontram-se no item 4.4.1. A sensibilidade e especificidade declaradas pelo fabricante do teste para detecção de NS1 é de 96% e 98%, respectivamente (J MITRA, 2018).

Como já descrito no mesmo item (4.4.1), Jindal e colaboradores (2014) também avaliaram a detecção do antígeno NS1 deste TR. Com o mesmo quantitativo de amostras (1.787) e utilizando como padrão de referência para a detecção de NS1 o ELISA *Dengue Early* (Panbio) (Tabela 4) obtiveram sensibilidade de 86% (79–91%), valor inferior ao descrito pelo fabricante, e especificidade de 100% (100–100%) expressas em valores médios e intervalos de confiança de 95% (Figuras 19 e 20).

Algumas limitações do estudo foram o grande número de pacientes que recebeu tratamento antes de chegar ao hospital de referência onde o TR foi realizado, e o fato de não estar claro o dia exato da febre no momento da realização do teste (JINDAL et al., 2014).

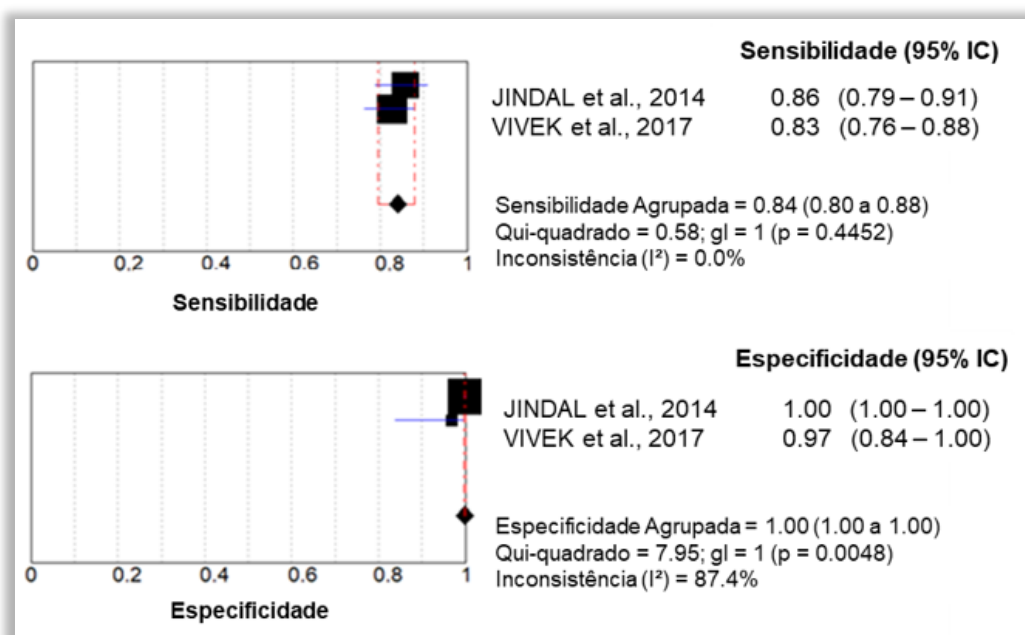
Vivek e colaboradores (2017) avaliaram o TR em questão durante o ano de 2015 na Índia, com 190 amostras de soro de pacientes, crianças com dengue suspeita ou provável segundo classificação da OMS de 2012, e com 21 amostras de voluntários saudáveis, totalizando 211 amostras (Tabelas 3 e 4). RT-PCR foi o teste padrão de referência utilizado, e a sensibilidade e especificidade, expressos em valores médios e intervalos de confiança de 95%, obtidas foram 83% (76–88%) e 97% (84–100%), respectivamente (Figuras 19 e 20). A

sensibilidade do TR para a detecção de NS1 foi inferior àquela declarada pelo fabricante do teste.

Nas infecções primárias, a sensibilidade foi de 90% e 67,9% nas infecções secundárias. Nos dias 1 e 2 após o início dos sintomas, a sensibilidade do teste foi de 100%, e então começou a cair: dia 3 (90,2%), dia 5 (75,6%), e dia 10 (66,6%). A sensibilidade para os diferentes sorotipos foi: DENV-1 (76,8%), DENV-2 (89,1%), DENV-3 (81%) e DENV-4 (100%), apesar de as amostras de DENV-3 e DENV-4 usadas não terem sido grandes o suficiente para determinar o desempenho real desses sorotipos. A menor sensibilidade para DENV-1 pode ser devido a um novo genótipo deste sorotipo circulante na região onde o estudo foi realizado (VIVEK et al., 2017).

Os valores dos dois estudos individuais e resultados agrupados de sensibilidade (modelo de efeitos fixos) e especificidade (modelo de efeitos aleatórios) encontram-se representados na Figura 21.

Figura 21 – Valores de sensibilidade e especificidade individuais e agrupados do teste rápido imunocromatográfico Dengue Day 1 Test



Valores de sensibilidade e especificidade individuais e agrupados expressos como média e limites de confiança de 95%. Modelos de efeitos fixos Mantel e Haenszel e de efeitos aleatórios DerSimonian e Laird foram empregados para o cálculo dos valores agrupados de sensibilidade e especificidade, respectivamente e representados como losango nos gráficos floresta. Valores dos índices I² de Higgins indicam homogeneidade para resultados de sensibilidade (I²=0) e heterogeneidade considerável para valores de especificidade (I²=87,4%).

Fonte: (Do autor, 2019).

Os estudos mostraram heterogeneidade não significativa para valores de sensibilidade, com Qui-quadrado = 0,58 (1gl) $p = 0,4452$ e $I^2 = 0,0\%$, representando homogeneidade nos resultados de sensibilidade e heterogeneidade significativa para valores de especificidade, com Qui-quadrado = 7,95 (1gl) $p = 0,0048$ e $I^2 = 87,4\%$ (heterogeneidade considerável). O resultado da sensibilidade agrupada foi de 84% (80–88%) e da especificidade foi de 100% (100–100%) ambas expressas como valores médios e limites de confiança de 95%.

Com o agrupamento dos estudos, a especificidade atingiu o valor máximo de 100%. Contudo, a sensibilidade agrupada de 84% continuou aquém daquela declarada pelo fabricante (96%).

4.5.6 Dengue Eden Test Bioeasy (Standard Diagnostic Inc.)

O *Dengue Eden Test Bioeasy* é um ensaio imunocromatográfico rápido, em um só passo, para detecção qualitativa do antígeno NS1 do DENV em amostras de soro, plasma e sangue total. Os valores declarados pelo fabricante para sensibilidade são de 92,8% e especificidade, de 100% (STANDARD DIAGNOSTIC, 2013a).

Buonora e colaboradores (2016) conduziram um estudo com 325 amostras de soro de pacientes que apresentaram até 72 horas de doença febril aguda, sem foco evidente de infecção, durante a epidemia de DENV-4 de 2013, no Brasil (Tabelas 3 e 4). O teste padrão de referência utilizado para comparação com o TR foi o RT-PCR, e os valores de sensibilidade e especificidade expressos como valores médios e limites de confiança de 95% obtidos foram de 45% (36–53%) e 98% (94–99%) respectivamente (Figura 19).

Embora altamente específico, a sensibilidade foi bem inferior àquela declarada pelo fabricante. Os possíveis motivos seriam a presença de apenas um sorotipo (DENV-4) na população estudada, e a maioria dos casos serem infecções secundárias, com sensibilidade de 42%, do que casos primários de dengue, com sensibilidade de 62,5%, podendo ter contribuído para o mau desempenho do teste.

Mata e colaboradores (2017) realizaram um estudo com pacientes com até 4 dias de síndrome febril aguda sem diagnóstico estabelecido, durante uma epidemia de dengue em 2015 no Brasil (Tabela 3). O objetivo do estudo foi avaliar a precisão do TR em amostras de sangue total realizadas no ponto de atendimento e amostras de soro (dos mesmos pacientes) realizadas em um laboratório de referência, com leituras realizadas em 15 e 30 min (testes com resultados inválidos aos 15 min foram lidos novamente aos 30 min). Entretanto, os

resultados referentes às leituras realizadas aos 30 min não foram considerados nesta RS, uma vez que o manual de instruções do produto preconiza leitura apenas entre 15-20 min.

O conjunto de testes RT-PCR e *Dengue NS1 Ag-ELISA* (Bio-Rad) foram usados como testes padrão de referência para comparação com o TR (casos de dengue foram definidos por um resultado positivo em pelo menos um deles e não-dengue por resultados negativos em ambos) como mostrado na Tabela 4. Com a utilização de 139 amostras de sangue total, a sensibilidade obtida foi de 77% (68–84%) e a especificidade de 87% (66–97%), já com 142 amostras de soro, a sensibilidade foi de 82% (74–89%) e a especificidade de 100% (86–100%), com valores de sensibilidade e especificidade expressos como valores médios e limites de confiança de 95% (MATA et al., 2017).

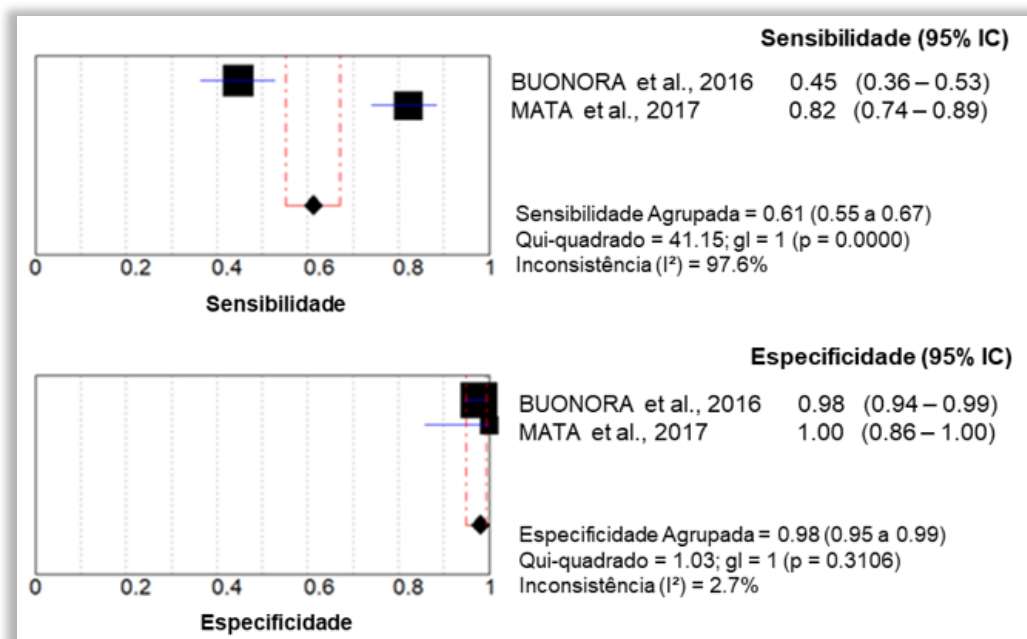
Mesmo utilizando matrizes de amostras diferentes, a sensibilidade em ambos os casos foi inferior ao declarado pelo fabricante. A especificidade utilizando como matriz sangue total também foi inferior, contudo, a matriz soro foi condizente com o declarado. A avaliação de um único sorotipo (DENV-1), pode ter sido uma limitação do estudo.

Os valores dos estudos individuais e resultados agrupados de sensibilidade (modelo de efeitos aleatórios) e de especificidade (modelo de efeitos fixos) encontram-se representados na Figura 22. Para o agrupamento dos estudos, apenas foi considerado o estudo de Mata e colaboradores (2017) utilizando soro, uma vez que a avaliação dos autores usando sangue total referia-se aos mesmos pacientes e o estudo de Buonora e colaboradores (2016) também utilizou amostras de soro, minimizando assim a possível interferência da matriz no desempenho do TR.

Os estudos mostraram heterogeneidade significativa para valores de sensibilidade, com Qui-quadrado = 41,15 (1gl) $p = 0,0000$ e $I^2 = 97,6\%$, representando heterogeneidade considerável e não apresentam heterogeneidade para valores de especificidade, com Qui-quadrado = 1,03 (1gl) $p = 0,3106$ e $I^2 = 2,7\%$, representando que a heterogeneidade pode não ser importante. O resultado da sensibilidade agrupada foi de 61% (55–67%) e da especificidade foi de 98% (95–99%) ambas expressas como valores médios e limites de confiança de 95%.

Com o agrupamento dos estudos, a especificidade atingiu o valor de 98%. Contudo, a sensibilidade agrupada de 61% continuou muito inferior daquela declarada pelo fabricante (92,8%).

Figura 22 – Valores de sensibilidade e especificidade individuais e agrupados do teste rápido imunocromatográfico Dengue Eden Test Bioeasy



Valores de sensibilidade e especificidade individuais e agrupados expressos como média e limites de confiança de 95%. Modelos de efeitos aleatórios DerSimonian e Laird e de efeitos fixos Mantel e Haenszel foram empregados para o cálculo dos valores agrupados de sensibilidade e especificidade, respectivamente representados como losango nos gráficos floresta. Valores dos índices I² de Higgins indicam heterogeneidade considerável (I²=97,6%) e heterogeneidade não importante (I²=2,7%) para valores de sensibilidade e especificidade, respectivamente.

Fonte: (Do autor, 2019).

4.5.7 SD Bioline Dengue NS1 Ag (Standard Diagnostic Inc.)

O *SD BIOLINE Dengue NS1 Ag* é um ensaio imunocromatográfico *in vitro*, em um único estágio, desenvolvido para detectar o antígeno NS1 do DENV no soro, plasma ou sangue total humano. Apresenta sensibilidade de 92,4% e especificidade de 98,4%, conforme declarado pelo fabricante (STANDARD DIAGNOSTIC, 2013b).

Huits e colaboradores (2017) avaliaram retrospectivamente o TR, com os resultados de 308 amostras de viajantes internacionais que apresentaram febre por até 7 dias sem causa clínica óbvia ao retornarem dos trópicos, entre os anos de 2012-2016 na Bélgica (Tabelas 3 e 4). Um conjunto de testes foi utilizado como padrão de referência, sendo eles: *Real Time RT-PCR*, e ELISAs *Dengue Virus IgM Capture Dx Select* e *Dengue Virus IgG Dx Select* (Focus Diagnostica). Para uso nesta RS apenas foi considerado os resultados caracterizados pelo *Real Time RT-PCR*, visto que o TR analisado refere-se à detecção de NS1. A sensibilidade obtida foi de 84% (70–93%), enquanto a especificidade foi de 97% (95–99%), expressos como valores médios e limites de confiança de 95% (Figura 19).

SD BIOLINE foi o segundo TR avaliado por Pal e colaboradores (2014) (características do estudo já foram descritas no item 4.5.4). Para esta avaliação, utilizaram 192 amostras de soro e na comparação com o isolamento viral como padrão de referência (Tabela 4), obtiveram valor de sensibilidade de 72% (65–79%) e especificidade de 100% (91–100%), expressos como valores médios e limites de confiança de 95%.

Paranavitane e colaboradores (2014) avaliaram o TR com amostras de soro de 156 pacientes adultos do Sri Lanka, com suspeita de infecção aguda por dengue, no ano de 2013 (Tabelas 3 e 4). *Dengue Early ELISA* (Panbio) foi o teste escolhido como padrão de referência, e os valores obtidos, expressos como valores médios e limites de confiança de 95%, de sensibilidade e especificidade foram 97% (91–100%) e 94% (86–98%), respectivamente (Figura 19).

Shrivastava e colaboradores (2011) conduziram um estudo na Índia com 91 amostras de soro de pacientes clinicamente suspeitos de dengue durante o ano de 2008. A avaliação do TR foi feita em comparação com o padrão de referência *Dengue Early ELISA* (Panbio) (Tabelas 3 e 4). A sensibilidade obtida foi de 63% (41–81%), e a especificidade foi de 100% (95–100%), expressos como valores médios e limites de confiança de 95% (Figura 19).

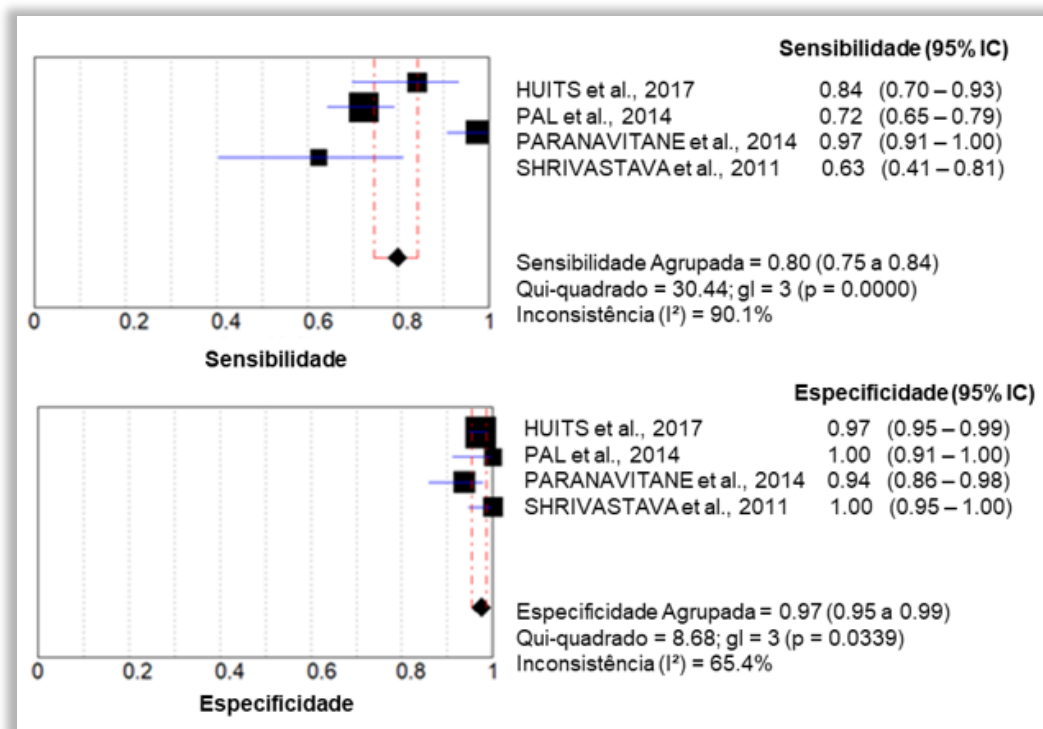
Todos os estudos apresentaram valores de especificidade de acordo com aquele que foi declarado pelo fabricante do produto. Com relação à sensibilidade, apenas o estudo conduzido por Paranavitane e colaboradores (2014) obteve valor (97%) acima do declarado pelo fabricante do produto (92,4%), o estudo de Huits e colaboradores (2017), considerando o intervalo de confiança, estava dentro da especificação (84%), e os demais estudos obtiveram valores inferiores: Pal e colaboradores, 2014 (72%) e Shrivastava e colaboradores, 2011 (63%).

Os valores dos estudos individuais e resultados agrupados (efeitos aleatórios) de sensibilidade e especificidade encontram-se representados na Figura 23.

Os estudos mostram heterogeneidade significativa para valores de sensibilidade, com Qui-quadrado = 30,44 (3gl) $p = 0,000$ e $I^2 = 90,1\%$ representando heterogeneidade considerável e para valores de especificidade, com Qui-quadrado = 8,68 (3gl) $p = 0,0339$ e $I^2 = 65,4\%$, representando heterogeneidade significativa.

O resultado da sensibilidade agrupada foi de 80% (75–84%) e da especificidade foi de 97% (95–99%) ambas expressas como valores médios e limites de confiança de 95%. O mesmo padrão observado nos estudos individuais é mantido mesmo após o agrupamento dos estudos, no qual a especificidade encontra-se condizente com a declarada, mas a sensibilidade encontra-se abaixo do que é especificado pelo fabricante.

Figura 23 – Valores de sensibilidade e especificidade individuais e agrupados do teste rápido imunocromatográfico SD Bioline Dengue NS1 Ag



Valores de sensibilidade e especificidade individuais e agrupados expressos como média e limites de confiança de 95%. Modelo de efeitos aleatórios DerSimonian e Laird empregado para o cálculo dos valores agrupados de sensibilidade e especificidade representadas como losango nos gráficos floresta. Valores dos índices I² de Higgins indicam heterogeneidade considerável para valores de sensibilidade (I²=90,1%) e heterogeneidade significativa para especificidade (I²=65,4%).

Fonte: (Do autor, 2019).

4.5.8 SD Bioline Dengue Duo NS1 and IgG/IgM (Standard Diagnostic Inc.)

A descrição e características do Teste *SD Bioline Dengue Duo NS1 and IgG/IgM* já foram apresentadas no item 4.4.4. Para a detecção de NS1, os valores de sensibilidade e especificidade declarados pelo fabricante são de 92,4% e 98,4%, respectivamente (ABBOTT, 2019b).

O estudo de Carter e colaboradores (2015), também descrito no item 4.4.4, referente a avaliação do TR frente a detecção do antígeno NS1 foi realizado com 328 amostras de sangue total e/ou soro e utilizado como padrão de referência o ELISA *SD Dengue NS1 Ag* (Standard Diagnostics) (Tabelas 3 e 4). Os resultados obtidos, com valores médios e limites de confiança de 95%, de sensibilidade foram de 61% (46–74%) e especificidade de 97% (95–99%) (Figura 19).

Gan e colaboradores (2014) avaliaram o TR com 197 amostras de sangue total de pacientes adultos (≥ 18 anos) com uma doença febril aguda indiferenciada, durante os anos de 2011 e 2012, em Cingapura (Tabela 3). Como padrão de referência foi utilizado um conjunto de testes: *Real time RT-PCR*, *Platelia™ NS1 ELISA* (Bio-Rad) e isolamento viral (Tabela 4). A sensibilidade obtida foi de 82% (74–88%), e a especificidade foi de 98% (89–100%), com valores médios e limites de confiança de 95% (Figuras 19 e 20).

O estudo de Jusoh e colaboradores (2017), já descrito no item 4.5.2, também avaliou o TR *SD Bioline Dengue Duo*. Para esta avaliação, utilizou 86 amostras de soro e utilizou como padrão de referência o ELISA *Platelia™ Dengue NS1 antigen capture test* (Bio-Rad) (Tabelas 3 e 4). A sensibilidade encontrada foi de 89% (74–97%) e a especificidade foi de 100% (93–100%), ambos expressos como valores médios e limites de confiança de 95% (Figuras 19 e 20).

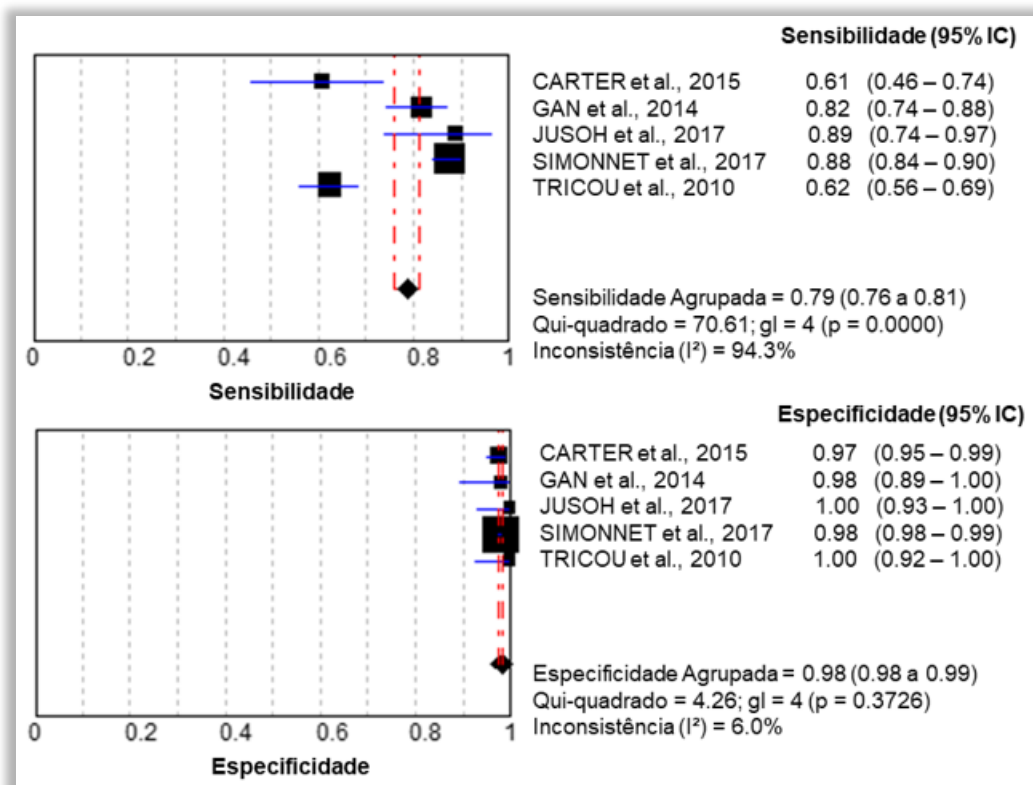
O estudo de Simonnet e colaboradores (2017), já descrito no item 4.4.4, também avaliou o TR *SD Bioline Dengue Duo* frente a detecção do antígeno NS1. Nesta avaliação foram utilizadas 3.347 amostras de soro, e o padrão de referência escolhido foi o ELISA *Platelia™ Dengue NS1 Ag* (Bio-Rad) (Tabelas 3 e 4). Os resultados de sensibilidade e especificidade foram de 88% (84–90%) e 98% (98–99%), ambos expressos como valores médios e limites de confiança de 95% (Figuras 19 e 20).

Tricou e colaboradores (2010) desenvolveram um estudo no Vietnã, no qual avaliaram 2 TRs, entre eles o *SD Bioline Dengue Duo*. Para esta avaliação utilizaram 292 amostras de plasma de pacientes com mais de 6 meses de idade com suspeita clínica de dengue e febre por menos de 7 dias (Tabelas 3 e 4). *Real time RT-PCR* foi usado como padrão de referência e os resultados comparados com aqueles obtidos pelo TR, produzindo valores de sensibilidade de 62% (56–69%) e de especificidade de 100% (92–100%), ambos expressos como valores médios e limites de confiança de 95% (Figuras 19 e 20).

Apenas o estudo de Jusoh e colaboradores (2017), considerando o intervalo de confiança, apresentou valor (89%) de sensibilidade de acordo como declarado pelo fabricante (92,4%). Nos demais estudos, os valores foram inferiores, com valores médios variando de 61% a 89%. Já os valores de especificidade, foram condizentes com a especificação do fabricante, e pouco variaram entre os estudos, ficando entre 97% a 100%.

Os valores dos estudos individuais e resultados agrupados (efeito aleatório) de sensibilidade (modelo de efeitos aleatórios) e especificidade (modelo de efeitos fixos) encontram-se representados na Figura 24.

Figura 24 – Valores de sensibilidade e especificidade individuais e agrupados do teste rápido imunocromatográfico SD Bioline Dengue Duo NS1 and IgG/IgM



Valores de sensibilidade e especificidade individuais e agrupados expressos como média e limites de confiança de 95%. Modelo de efeitos aleatórios DerSimonian e Laird e de efeitos fixos Mantel e Haenszel foram empregados para o cálculo dos valores agrupados de sensibilidade e especificidade, respectivamente e representadas como losango nos gráficos floresta. Valores dos índices I^2 de Higgins indicam heterogeneidade considerável para valores de sensibilidade ($I^2=94,3\%$) e heterogeneidade pode não ser importante para valores de especificidade ($I^2=6,0\%$).

Fonte: (Do autor, 2019).

Os estudos mostraram heterogeneidade significativa para valores de sensibilidade, com Qui-quadrado = 70,61 (4gl) $p = 0,000$ e $I^2 = 94,3\%$ representando heterogeneidade considerável e não mostraram heterogeneidade para valores de especificidade, com Qui-quadrado = 4,26 (4gl) $p = 0,3726$ e $I^2 = 6,0\%$, representando heterogeneidade não importante.

O resultado da sensibilidade agrupada foi de 79% (76–81%) e da especificidade foi de 98% (98–99%) ambas expressas como valores médios e limites de confiança de 95%. Novamente, com o agrupamento dos estudos individuais, o valor da sensibilidade encontra-se inferior àquela declarada pelo fabricante e a especificidade encontra-se concordante com a que é especificada pelo fabricante.

4.5.9 Dengue NS1 Ag STRIP (Bio-Rad)

O teste *Dengue NS1 Ag STRIP* é um teste individual que utiliza imunocromatografia de fluxo lateral para a detecção qualitativa do antígeno NS1 do DENV no soro ou plasma humano, como uma ajuda no diagnóstico da infecção aguda por dengue. Os valores de sensibilidade e especificidade declarados pelo fabricante são de 92,3% e 100%, respectivamente (BIO-RAD, 2012).

Bisordi e colaboradores (2011) conduziram em 2009 um estudo no Brasil, no qual avaliaram o TR com 266 amostras de soro coletadas até o terceiro dia após o início dos sintomas de pacientes clinicamente suspeitos de infecção por dengue. Isolamento viral foi o padrão de referência utilizado (Tabelas 3 e 4) e os valores obtidos de sensibilidade foram de 100% (97–100%) e de especificidade, de 80% (66–90%), ambas expressas como valores médios e limites de confiança de 95% (Figuras 19 e 20).

Hang e colaboradores (2009) avaliaram o TR entre 2007 e 2008 no Vietnã, com 138 amostras de plasma de pacientes com mais de 2 anos de idade com suspeita clínica de dengue e pacientes com outras doenças confirmadas (malária, leptospirose e febre entérica). O padrão de referência utilizado foi o *Real-time* RT-PCR (Tabelas 3 e 4), e os valores de sensibilidade e especificidade obtidos, expressos como valores médios e limites de confiança de 95%, foram de 73% (64–80%) e 100% (75–100%), respectivamente (Figuras 19 e 20).

Najioullah e colaboradores (2011) conduziram um estudo na Martinica, no qual avaliaram o TR com 525 amostras de soro de pacientes com doença febril aguda, com duração inferior a 8 dias. RT-PCR foi o padrão de referência de escolha para comparação com o TR (Tabelas 3 e 4). Os resultados obtidos de sensibilidade foram de 49% (43–56%) e de especificidade foram de 100% (99–100%), ambos expressos como valores médios e limites de confiança de 95% (Figuras 19 e 20).

Dengue NS1 Ag STRIP foi o terceiro TR avaliado por Pal e colaboradores (2014) (características do estudo já foram descritas no item 4.5.4). Para esta avaliação, utilizaram 193 amostras de soro e o padrão de referência utilizado foi o isolamento viral, produzindo resultados de sensibilidade de 79% (72–85%) e especificidade de 100% (91–100%), ambos expressos como valores médios e limites de confiança de 95% (Figuras 19 e 20).

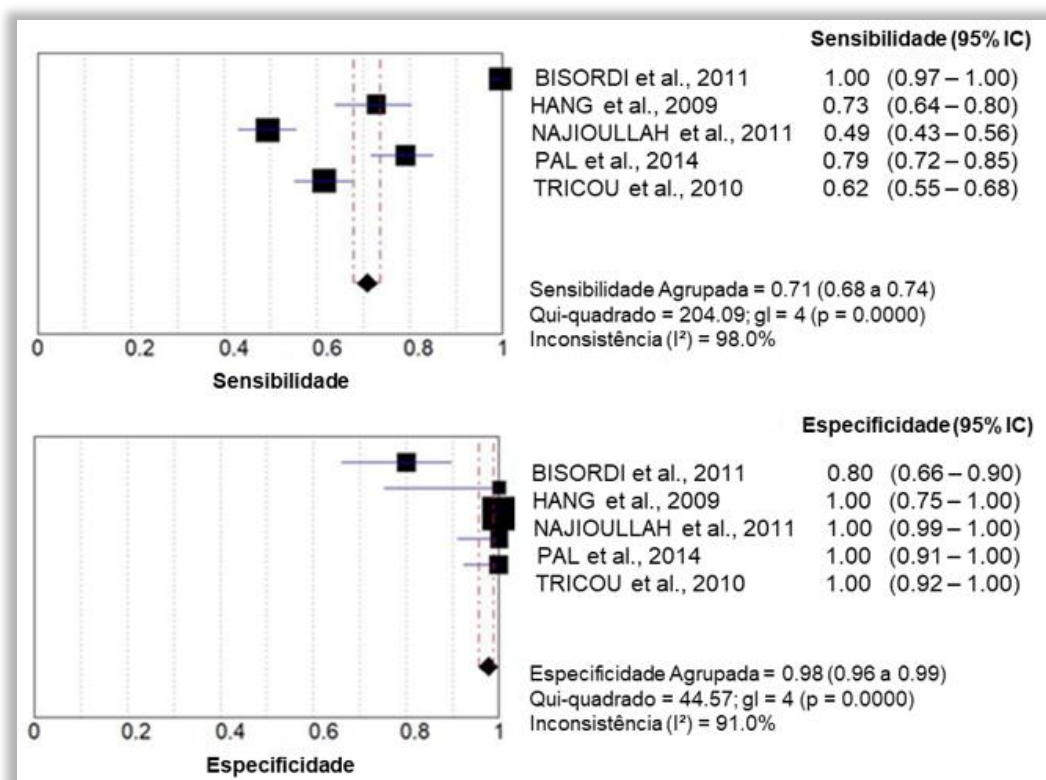
Dengue NS1 Ag STRIP foi o outro TR avaliado por Tricou e colaboradores (2010) (características do estudo já foram descritas no item 4.5.8). Para esta avaliação, os autores utilizaram 292 amostras de plasma e o *Real time* RT-PCR (Tabelas 3 e 4) e os valores obtidos de sensibilidade e especificidade foram de 62% (55–68%) e 100% (92–100%),

respectivamente, ambos expressos como valores médios e limites de confiança de 95% (Figuras 19 e 20).

Com exceção do estudo de Bisordi e colaboradores (2011), no qual o valor da sensibilidade foi superior, sendo condizente ao declarado pelo fabricante e a especificidade apresentou valor inferior, todos os demais estudos apresentaram padrão contrário a este: os valores obtidos de sensibilidade foram menores e os valores de especificidade estavam dentro do que foi especificado pelo fabricante.

Os valores dos estudos individuais e resultados agrupados (efeito aleatório) de sensibilidade e especificidade encontram-se representados na Figura 25.

Figura 25 – Valores de sensibilidade e especificidade individuais e agrupados do teste rápido imunocromatográfico Dengue NS1 Ag STRIP



Valores de sensibilidade e especificidade individuais e agrupados expressos como média e limites de confiança de 95%. Modelo de efeitos aleatórios DerSimonian e Laird empregado para o cálculo dos valores agrupados de sensibilidade e especificidade representadas como losango nos gráficos floresta. Valores dos índices I^2 de Higgins indicam heterogeneidade considerável para valores de sensibilidade ($I^2=98\%$) e especificidade ($I^2=91\%$).

Fonte: (Do autor, 2019).

Os estudos mostram heterogeneidade significativa para valores de sensibilidade, com Qui-quadrado = 204,09 (4gl) $p = 0,000$ e $I^2 = 98\%$ representando heterogeneidade

considerável e para valores de especificidade, com Qui-quadrado = 44,57 (4gl) $p = 0,0000$ e $I^2 = 91,0\%$, também representando heterogeneidade considerável.

O resultado da sensibilidade agrupada foi de 71% (68–74%) e da especificidade foi de 98% (96–99%) ambas expressas como valores médios e limites de confiança de 95%. Com o agrupamento dos estudos individuais, o valor da sensibilidade foi inferior àquela declarada pelo fabricante (92,3%) e a especificidade encontra-se concordante com a que é especificada pelo fabricante (100%). Os resultados obtidos na avaliação deste TR são similares a outras metanálises realizadas com este mesmo produto (SHAN et al, 2015; ZHANG et al., 2014).

Zhang e colaboradores (2014) conduziram uma metanálise para avaliar de forma abrangente o desempenho da detecção de testes baseados em NS1 para o diagnóstico da dengue. As pesquisas foram realizadas nas bases de dados PubMed, ISI *Web of Science*, *Google Scholar* e *Chinese National Knowledge Infrastructure* para estudos publicados antes de 1 de outubro de 2012. O TR Dengue NS1 Ag STRIP foi avaliado por oito estudos selecionados, e apresentou sensibilidade e especificidade agrupada, expressos como valores médios e limites de confiança de 95%, de 71% (64–82%) e 99% (98–100%), respectivamente. Apenas o estudo de Najioullah e colaboradores (2011) também estava presente nesta RS.

Shan e colaboradores (2015) realizaram uma metanálise para obter o desempenho dos testes baseados na detecção do antígeno NS1 do DENV apenas na população asiática. Foram utilizadas as bases de dados PubMed, Medline e Embase para citações relevantes publicadas em inglês, de janeiro de 1990 a novembro de 2014. Sete estudos selecionados avaliaram o TR Dengue NS1 Ag STRIP, utilizando um total de 1.896 amostras. A sensibilidade agrupada obtida foi de 72,9% (70,1–75,5%) e a especificidade agrupada foi de 99,1 % (98,2–99,6%), expressos como valores médios e limites de confiança de 95%.

4.6 Limitações

Uma das principais limitações desta RS diz respeito a não identificação das possíveis fontes de heterogeneidade entre os estudos. A heterogeneidade já é esperada nos resultados dos estudos de acurácia de testes diagnósticos (LEEFLANG et al., 2008) e na metanálise desses estudos (MACASKILL et al., 2010), e sempre que possível, sua fonte e efeitos nas estimativas geradas devem ser investigadas (BRASIL, 2014). Contudo, pelo reduzido número de estudos incluídos e por não ser possível reestimar os parâmetros considerando subgrupos pelas informações limitadas na maioria dos artigos, não foi viável uma investigação.

E com relação a dengue, existem fatores que podem levar a variações nos resultados dos testes diagnósticos, a depender da cinética do surgimento do antígeno NS1 e dos anticorpos IgM e IgG – do tipo de infecção (primária ou secundária) e do tempo de infecção no qual foi coletada a amostra para análise – e do sorotipo infectante do DENV, o que influencia diretamente a acurácia dos testes.

Outro importante fator limitante está relacionado ao método padrão de referência, não sendo escolhido nesta RS um único método de comparação, mas sim várias técnicas que apresentam diferentes valores de sensibilidade e especificidade, uma vez que o isolamento viral (considerado o método padrão-ouro) e técnicas moleculares são relativamente mais caras, não estando disponíveis em muitos dos laboratórios (GUZMÁN; HARRIS, 2015) o que também restringiria o número de estudos selecionados.

Apesar desta limitação, esta RS foi planejada a priori conforme protocolo PROSPERO (nº CRD42018086517) e realizada seguindo critérios rigorosos e as diretrizes do guia PRISMA-DTA (MCINNES et al., 2018), bem como envolvendo uma estratégia de busca ampla, minuciosa e exaustiva, sem restrições de idioma, abrangendo a maior quantidade de artigos possíveis.

5 CONCLUSÕES

- Em relação à qualidade metodológica dos estudos incluídos na RS, apenas 10% cumpriram todos os critérios recomendados pela ferramenta QUADAS-2.
- Nenhum estudo avaliando TRs frente à detecção do anticorpo IgG foi incluído nesta RS devido ao não cumprimento dos critérios de elegibilidade estabelecidos. Dos 101 estudos que passaram para etapa de leitura completa do artigo, apenas oito avaliaram a detecção deste anticorpo, contudo seis não apresentavam dados de VP, VN, FP e FN, um era um estudo de caso-controle e outro era um artigo no formato de comunicação breve.
- O único TR para detecção de IgM avaliado por dois estudos nesta RS apresentou heterogeneidade significativa ($I^2=62,6\%$) para os resultados de sensibilidade e heterogeneidade considerável para resultados de especificidade ($I^2=98,7\%$) obtidos dos estudos individuais.
- Para 80% dos TRs para detecção de NS1 avaliados por dois ou mais estudos, os resultados de sensibilidade obtidos a partir dos estudos individuais mostraram uma heterogeneidade considerável com valores de I^2 variando de 90,1% a 98%. Em relação aos valores de especificidade, 60% dos TRs para detecção de NS1 apresentaram heterogeneidade significativa, com I^2 variando de 65,4% a 91,0%.
- Os TRs para detecção de NSI apresentaram sensibilidade média de 79%, com valores variando de 61 a 94% e especificidade média de 94% variando de 67 a 100%. Os TRs para detecção de IgM apresentaram sensibilidade média de 70%, variando de 43 a 94% e especificidade média de 90% variando de 76% a 100%.
- Os valores médios de sensibilidade e especificidade declarados pelos fabricantes dos TRs para NS1 foram respectivamente, 90,4% variando de 76,5 a 96,0% e 98,2% variando de 96,1 a 100%.
- Os valores médios de sensibilidade e especificidade declarados pelos fabricantes dos TRs para IgM foram, respectivamente, 91,0% variando de 85,1 a 95% e 94,8% variando de 91,6 a 98,4%.

- Os valores de sensibilidade e especificidade dos TRs para detecção de IgM foram inferiores aos valores declarados pelos fabricantes do produto em 75% dos testes diagnósticos. Com relação aos TRs para detecção de NS1, os valores de sensibilidade foram inferiores ao declarado em 78% dos testes, diferentemente, 11% dos testes apresentaram especificidade abaixo do declarado pelos fabricantes.
- Valores de sensibilidade dos TRs para detecção de NS1 e IgM foram mais discordantes do que os valores de especificidade, daqueles declarados pelos fabricantes do produto.
- O agrupamento de estudos individuais de acurácia diagnóstica é uma ferramenta importante, pois aumenta a população estudada e a precisão dos resultados, especialmente na avaliação de doenças negligenciadas como a dengue à qual grande parte da população está exposta, principalmente em países em desenvolvimento de regiões tropicais, com alto risco de contrair a infecção.
- Os resultados obtidos reforçam e corroboram a importância da análise da acurácia dos TRs, bem como de um controle de qualidade e uma regulamentação rigorosa por parte das instituições governamentais, permitindo assim, que apenas os produtos com eficácia comprovada e que atendam requisitos mínimos de qualidade, sejam comercializados, ressaltando mais uma vez o papel primordial da vigilância sanitária na promoção e proteção à saúde da população.

6 PERSPECTIVAS

- Devido à impossibilidade de avaliação de TRs para detecção de IgG, é imprescindível a realização de RS's periódicas para identificação de estudos que cumpram os critérios de elegibilidade definidos nesta RS.
- Determinação da sensibilidade e especificidade global dos *kits* de TRs imunocromatográficos comerciais em relação aos sorotipos do DENV e tipo de infecção (primária e secundária).
- Comparação da acurácia diagnóstica dos TRs com testes baseados na metodologia ELISA.

REFERÊNCIAS

- ABBOTT. **Panbio® Dengue Duo Cassette**. 2019a. Disponível em: <https://www.alere.com/en/home/product-details/panbio-dengue-duo-cassette.html>. Acesso em: 10 fev. 2019.
- ABBOTT. **SD Bioline Dengue Duo (Dengue NS1 Ag + IgG/IgM)**. 2019b. Disponível em: <https://www.alere.com/pt/home/product-details/sd-bioline-dengue-duo-ns1-ag-ab-combo.html>. Acesso em: 14 fev. 2019.
- ABBOTT. **PANBIO® Dengue Early Rapid**. 2019c. Disponível em: <https://www.alere.com/en/home/product-details/panbio-dengue-early-rapid-au.html>. Acesso: 12 fev. 2019.
- ABREU, M. M. V. **Produtos para diagnóstico de uso *in vitro* no Brasil: uma avaliação do cenário na ANVISA dos últimos cinco anos (2004-2008)**. 2009. 68 f. Monografia (Especialização em Vigilância Sanitária) –Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Brasília, 2009.
- ALCON, S. *et al.* Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Specific to Dengue Virus Type 1 Nonstructural Protein NS1 Reveals Circulation of the Antigen in the Blood during the Acute Phase of Disease in Patients Experiencing Primary or Secondary Infections. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 2, p. 376-381, 2002.
- ALTMAN, D. G.; BLAND, J. M. Diagnostic tests. 1: Sensitivity and specificity. **Bmj**, v. 308, n. 6943, p. 1552, 1994.
- AMARASINGHE, A. *et al.* Dengue virus infection in Africa. **Emerg Infect Dis**, v. 17, p. 1349-54, 2011.
- ANTONY, J.; CELINE, T. M. A descriptive study on dengue fever reported in a medical college hospital. **Sahel Med J.**, v. 17, p. 83-86, 2014.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Anvisa registra primeira vacina contra dengue no Brasil**. 2016. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/noticias/-/asset_publisher/FXrpx9qY7FbU/content/anvisa-registra-primeira-vacina-contra-dengue-no-brasil/219201/pop_up?inheritRedirect=false. Acesso em: 26 set. 2017.
- ARAÚJO, V. E. M. *et al.* Increase in the burden of dengue in Brazil and federated units, 2000 and 2015: analysis of the Global Burden of Disease Study 2015. **Rev. bras. epidemiol.**, São Paulo, v. 20, supl. 1, p. 205-216, 2017.
- ARBUTHNOT, P. **Gene therapy for viral infections**. Londres: Elsevier Academic Press, 2015.
- ATALLAH, A. N.; CASTRO, A. A. Revisão sistemática e metanálises. *In*: ATALLAH, A. N.; CASTRO, A. A. **Evidências para melhores decisões clínicas**. São Paulo: Lemos Editorial, 1998. p. 20-28.

BRASIL. Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976. Dispõe sobre a vigilância sanitária a que ficam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos e correlatos, cosméticos saneantes e outros produtos, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 1976. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L6360.htm. Acesso em: 28 fev. 2017.

BRASIL. Lei nº 6.437, de 20 de agosto de 1977. Configura infrações à legislação sanitária federal, estabelece as sanções respectivas, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 1977. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L6437.htm. Acesso em: 01 mar. 2017.

BRASIL. Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 20 de set. 1990. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l8080.htm. Acesso em: 27 abr. 2017.

BRASIL. Lei nº 9.782, de 26 de janeiro de 1999. Define o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, cria a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 1999. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L9782.htm. Acesso em: 28 fev. 2017.

BRASIL. Decreto nº 74.170, de 10 de junho de 1974. Regulamenta a Lei número 5.991, de 17 de dezembro de 1973, que dispõe sobre o controle sanitário do comércio de drogas, medicamentos, insumos farmacêuticos e correlatos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 1974. Disponível em: <https://presrepublica.jusbrasil.com.br/legislacao/109691/decreto-74170-74>. Acesso em: 25 abr. 2017.

BRASIL. Decreto nº 8.077, de 14 de agosto de 2013. Regulamenta as condições para o funcionamento de empresas sujeitas ao licenciamento sanitário, e o registro, controle e monitoramento, no âmbito da vigilância sanitária, dos produtos de que trata a Lei no 6.360, de 23 de setembro de 1976, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 2013. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2011-2014/2013/decreto/d8077.htm. Acesso em: 28 fev. 2017.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 185, de 22 de outubro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico que consta no anexo desta Resolução, que trata do registro, alteração, revalidação e cancelamento do registro de produtos médicos na Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 2001. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/anvisalegis/resol/2001/185_01rdc.htm. Acesso em: 26 abr. 2017.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 36, de 26 de agosto de 2015. Dispõe sobre a classificação de risco, os regimes de controle de cadastro e registro e os requisitos de rotulagem e instruções de uso de produtos para diagnóstico *in vitro*, inclusive seus instrumentos e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, 2015. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2862781/RDC_36_2015_COMP.pdf/7c073709-b482-4493-b486-16e9940b1665?version=1.0. Acesso em: 01 mar. 2017.

BRASIL. Conselho Nacional de Secretários de Saúde/CONASS. **Vigilância em saúde**. Brasília: CONASS, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Diretrizes nacionais para prevenção e controle de epidemias de dengue**. Brasília: Ministério da Saúde, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Ciência e Tecnologia. **Diretrizes metodológicas**: elaboração de revisão sistemática e metanálise de ensaios clínicos randomizados. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2012. 92 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Ciência e Tecnologia. **Diretrizes metodológicas**: elaboração de revisão sistemática e metanálise de estudos de acurácia diagnóstica. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2014. 116 p.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Gerência de Produtos Diagnósticos de Uso *in vitro*. **Manual para regularização de produtos para diagnóstico de uso *in vitro* na ANVISA**. Brasília, 2016. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33912/264673/Manual+para+Regulariza%C3%A7%C3%A3o+de+Produtos+para+Diagn%C3%B3stico+de+uso+in+vitro/8e4c2b5d-d145-4216-a680-c442a5bd746b>. Acesso em: 27 abr. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. TELELAB. **Infecções sexualmente transmissíveis**: cuidados na execução dos testes rápidos. 2017. Disponível em: http://telelab.aids.gov.br/moodle/pluginfile.php/105443/mod_resource/content/2/Manual_M%C3%B3dulo%201_V%20FINAL%20FINAL.pdf. Acesso em: 20 set. 2017.

BUONORA, S. N. *et al.* Accuracy of clinical criteria and an immunochromatographic strip test for dengue diagnosis in a DENV-4 epidemic. **BMC Infectious Diseases**, v. 16, n. 1, p. 1-9, 2016.

CARNEIRO, T. C. **Interação vírus-vetor**: caracterização da região 3' não codificante (NC) de vírus dengue tipo 3 (DENV-3), isolados de mosquitos e humanos, após a infecção experimental sucessiva e simultânea em mosquitos. 2014. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2014.

CASENGHI, M. *et al.* NS1 antigen detecting assays for diagnosing acute dengue infection in people living in or returning from endemic countries. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, n. 6, 2014.

CAVALCANTI, L. P. D. G. *et al.* Surveillance of deaths caused by arboviruses in Brazil: from dengue to chikungunya. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 112, n. 8, p. 583-585, 2017.

CENTRE FOR HEALTH COMMUNICATION AND PARTICIPATION. **Exploring Systematic Reviews**. 2012. Disponível em: http://navigatingeffectivetreatments.org.au/exploring_systematic_reviews.html. Acesso em: 24 abr. 2018.

CENTROS DE CONTROLE E PREVENÇÃO DE DOENÇAS. **MAC-ELISA para zika - Instruções de uso**. 2016. Disponível em: http://portugues.cdc.gov/img/cdc/PT_49672.pdf. Acesso em: 29 set. 2017

CHAMBERS, T. J. *et al.* Flavivirus Genome, Organization, Expression and Replication. **Annual Reviews of Microbiology**, v. 40, p. 649-688, 1990.

CHATERJI, S. *et al.* Evaluation of the NS1 rapid test and the WHO dengue classification schemes for use as bedside diagnosis of acute dengue fever in adults. **Am J Trop Med Hyg**, v. 84, n. 2, p. 224-228, 2011.

COHEN, M. M. **Produção científica e inovação na gestão do Sistema Nacional de Vigilância Sanitária: rede de autoria e complexo industrial da saúde (1999-2009)**. 2011. 200 f. Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2011.

COSTA, E. A. Fundamentos da vigilância sanitária. *In*: COSTA, E. A. (Org.). **Vigilância Sanitária: temas para debate**. Salvador: EDUFBA, 2009, p. 11-36.

COSTA, E. A. **Vigilância sanitária: proteção e defesa da saúde**. 2. ed. São Paulo: Editora Hucitec, 1999.

COSTA, E. A.; FERNANDES, T. M.; PIMENTA, T. S. A vigilância sanitária nas políticas de saúde no Brasil e a construção da identidade de seus trabalhadores (1976-1999). **Ciênc. saúde coletiva**, v. 13, n. 3, 2008.

COSTA, E. A.; ROZENFELD, S. Constituição da vigilância sanitária no Brasil. *In*: ROZENFELD, S. (Org.). **Fundamentos da vigilância sanitária**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2000. p.15-40.

CRUSOÉ, E. L. **Práticas gerenciais em serviços de vigilância à saúde**. 2006. 67 f. Monografia (Especialização em Gestão Pública) – Escola de Administração, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2006.

CRUZEIRO, J. A. **Análise crítica da legislação brasileira referente ao registro de produtos para diagnóstico de uso *in vitro* com enfoque nos testes rápidos**. 2015. 86 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade) – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2015.

DE-LA-TORRE-UGARTE-GUANILO, M. C.; TAKAHASHI, R. F.; BERTOLOZZI, M. R. Revisão sistemática: noções gerais. **Revista da Escola de Enfermagem USP**, São Paulo, v. 45, n. 5, p. 1260-1266, 2011.

DEEKS, J. J. Systematic reviews of evaluations of diagnostic and screening tests. **BMJ: British Medical Journal**, v. 323, n. 7305, p. 157-162, 2001.

DERSIMONIAN, R., LAIRD, N. Meta-analysis in clinical trials. **Control Clin. Trials** v. 7, 177-188, 1986.

DIAGNOSTIC AUTOMATION. **One Step Dengue NS1 RapiDip™ InstaTest**. 2017. Disponível em: [http://www.rapidtest.com/pdf/Dengue_NS1_RapiDip_173110-25-25\(09-22-2017\).pdf](http://www.rapidtest.com/pdf/Dengue_NS1_RapiDip_173110-25-25(09-22-2017).pdf). Acesso em: 10 fev. 2019.

DINNES, J. *et al.* A methodological review of how heterogeneity has been examined in systematic reviews of diagnostic test accuracy. **Health Technol Assess**, v. 9, n. 12, 2005.

EL-GILANY, A-H.; ELDEIB, A.; HAMMAD, S. Clinico-epidemiological features of dengue fever in Saudi Arabia. **Asian Pac J Trop Med**. v. 3, p. 220-223, 2010.

EVANS, D. Hierarchy of evidence: a framework for ranking evidence evaluating healthcare interventions. **J Clin Nurs.**, v. 12, n. 1, p.77-84, 2003.

FARES, R. C. G. *et al.* Epidemiological Scenario of Dengue in Brazil. **BioMed Research International**, v. 2015, p. 1-13, 2015.

FRY, S. R. *et al.* The Diagnostic Sensitivity of Dengue Rapid Test Assays Is Significantly Enhanced by Using a Combined Antigen and Antibody Testing Approach. **PLoS Negl Trop Dis.**, v. 5, 6, e.1199, 2011.

GALVÃO, C. M.; SAWADA, N. O.; TREVIZAN, M. A. Revisão sistemática: Recurso que proporciona a incorporação das evidências na prática da enfermagem. **Rev. Latino-Am. Enfermagem**, v. 12, n. 3, p. 549-556, 2004.

GONÇALVES, H. A.; NASCIMENTO, M. B. C.; NASCIMENTO, K. C. S. Revisão sistemática e metanálise: níveis de evidência e aplicabilidade em pesquisa científica. *In*: CONGRESSO IBERO-AMERICANO EM INVESTIGAÇÃO QUALITATIVA, 4.; SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE EDUCAÇÃO E COMUNICAÇÃO, 6., 2015, Aracaju. **Atas CIAIQ2015**. Aracaju, 2015. Disponível: <http://proceedings.ciaiq.org/index.php/ciaiq2015/article/view/281/277>. Acesso em: 14 mar. 2017.

GREINER, M.; GARDNER, I. A. Application of diagnostic tests in veterinary epidemiologic studies. **Prev Vet Med**, v. 45, n. 1-2, p. 43-59, 2000.

GUBLER, D. J. *Aedes aegypti* and *Aedes aegypti*-borne disease control in the 1990s: top down or bottom up. **Am J Trop Med Hyg**, v. 40, p. 571-578, 1989.

GUBLER, D. J. Dengue and dengue hemorrhagic fever. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 11, n. 3, p. 480-496, 1998.

GUBLER, D. J. Epidemic dengue/dengue haemorrhagic fever: a global public health problem in the 21st century. **Dengue Bulletin**, v. 21, 1997.

GUBLER, D. J. Epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health, social and economic problem in the 21st century. **TRENDS in Microbiology**, v. 10, n. 2, p. 100-103, 2002.

GUBLER, D. J.; KUNO, G.; MARKOFF, L. Flaviviruses. *In*: KNIPE, D. M. *et al.* **Field's Virology**. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007, p. 1153-1252.

GUILARDE, A. O. *et al.* Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever among adults. Clinical outcomes related to Viremia, Serotypes and Antibody response. **J Infect Dis.**, v. 197, p. 817-824, 2008

GUZMÁN, M. G. *et al.* Dengue: a continuing global threat. **Nat Rev Microbiol.**, v. 8, S7-16, 2010.

GUZMÁN, M. G. *et al.* Laboratory Diagnosis of Dengue. *In*: GUBLER, D. J.; OOI, E. E.; VASUDEVAN, S.; FARRAR, J. (Eds). **Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever**. 2. ed. Wallingford, U.K.: CABI, 2014. p. 184-213.

GUZMÁN, M. G. *et al.* Dengue infection. **Nat Rev Dis Primers**, v. 2, p. 1-25, 2016.

GUZMÁN, M. G.; HARRIS, E. Dengue. **Lancet**, v. 385, n. 9966, p. 453-65, 2015.

GUZMÁN, M. G.; KOURI, G. Dengue diagnosis, advances and challenges. **Int J Infect Dis.**, v. 8, p. 69-80, 2004.

GYAWALI, N.; BRADBURY, R. S.; TAYLOR-ROBINSON, A. W. The epidemiology of dengue infection: Harnessing past experience and current knowledge to support implementation of future control strategies. **J Vector Borne Dis**, v. 53, p. 293-304, 2016.

GYAWALI, N.; TAYLOR-ROBINSON, A. W. Diagnosis of Dengue: Strengths and Limitations of Current Techniques and Prospects for Future Improvements. *In*: SPERANÇA, M. A. (Ed.). **Dengue - Immunopathology and Control Strategies**. London: InTech, 2017.

HALSTEAD, S. B. Dengue. **The Lancet**, v. 370, n. 9599, p. 1644-1652, 2007.

HAYASHIDE, J. M.; BUSCHINELLI, J. T. P. Critérios de decisão para a definição de exames médicos ocupacionais em atividades críticas: proposição de modelo e exemplos de aplicação no trabalho em altura. **Rev. bras. saúde ocup.**, São Paulo, v. 42, e. 1, 2017.

HENCHAL, E. A.; PUTNAK, J. R. The Dengue Viruses. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 3, p. 376-396, 1990.

HERINGER, M. *et al.* Impact of the emergence and re-emergence of different dengue viruses' serotypes in Rio de Janeiro, Brazil, 2010 to 2012. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 109, p. 268-274, 2015.

HIGGINS, J. P. T.; GREEN, S. **Cochrane handbook for systematic reviews of interventions**. Londres: The Cochrane Collaboration, 2008. (Cochrane Book Series).

HIGGINS, J. P. T.; GREEN, S. **Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0**. The Cochrane Collaboration, 2011. Disponível em: www.handbook.cochrane.org. Acesso em: 30 out. 2017.

HIGGINS, J. P. T. *et al.* Measuring inconsistency in meta-analyses. **BMJ**, v. 327, p. 557-560, 2003.

HOLMES, E. C. Molecular epidemiology of dengue virus: the time for big science. **Trop Med Int Health**, v. 3, n. 11, p. 855-6, 1998.

HOLMES, E. C.; TWIDDY, S. S. The origin, emergence and evolutionary genetics of dengue virus. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 3, n. 1, p. 19-28, 2003.

HOMBACH, J. Vaccines against dengue: a review of current candidate vaccines at advanced development stages. **Rev Panam Salud Publica**, v. 21, n. 4, p. 254-260, 2007.

HOTTZ, E. *et al.* Platelets in dengue infection. **Drug Discovery Today: Disease Mechanisms**, v. 8, p. 33-38, 2011.

HU, D. *et al.* Kinetics of non-structural protein 1, IgM and IgG antibodies in dengue type 1 primary infection. **Virology Journal**, v. 8, p. 47-47, 2011.

IARED, W.; VALENTE, O. Revisões sistemáticas de estudos de acurácia. **Diagn Tratamento**, v. 14, n. 2, p. 85-8, 2009.

INNIS, B. L. *et al.* An enzyme-linked immunosorbent assay to characterize dengue infections where dengue and Japanese encephalitis co-circulate. **Am J Trop Med Hyg**, v. 40, n. 4, p. 418-427, 1989.

INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. **Manual de coleta de amostras**. Rio de Janeiro, 2003, 46 p. Disponível em: http://www.incqs.fiocruz.br/images/stories/incqs/manual/manual_de_coleta.pdf. Acesso em: 10 jun. 2017.

MITRA, J. **Dengue day 1 test**. 2018. Disponível em: http://jmitra.co.in/download/Procedure/Manual-Dengue_Day_1_Test.pdf. Acesso em: 10 fev. 2019.

JESSIE, K. *et al.* Localization of dengue virus in naturally infected human tissues, by immunohistochemistry and in situ hybridization, **J. Infect. Dis.**, v. 189, p. 1411-1418, 2004.

KATZ, T. M.; MILLER, J. H.; HEBERT, A. A. Insect repellents: historical perspectives and new developments. **J Am Acad Dermatol**, v. 58, n. 5, p. 865-71, 2008.

KESSLER, N. E. **Revisão sistemática e metanálise da acurácia diagnóstica de testes laboratoriais para giardíase**: contribuição para a gestão do conhecimento. 2007. 121 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Gestão do Conhecimento) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2007.

- KOCZULA, K. M.; GALLOTTA, A. Lateral flow assays. **Essays in Biochemistry**, v. 60, n. 1, p. 111-120, 2016.
- KORAKA, P. *et al.* Kinetics of dengue virus-specific serum immunoglobulin classes and subclasses correlate with clinical outcome of infection. **J. Clin. Microbiol.**, v. 39, p. 4332-4338, 2001.
- LAMBRECHTS, L. *et al.* Dengue-1 virus clade replacement in Thailand associated with enhanced mosquito transmission. **J Virol**, v. 86, p. 1853-61, 2012.
- LEEFLANG, M. M. G. Systematic reviews and meta-analyses of diagnostic test accuracy. **Clin Microbiol Infect**, v. 20, n. 2, p. 105-13, 2014.
- LEEFLANG, M. M. G. *et al.* Systematic Reviews of Diagnostic Test Accuracy. **Annals of internal medicine**, v. 149, n. 12, p. 889-897, 2008.
- LEEFLANG, M. M. G. *et al.* Cochrane diagnostic test accuracy reviews. **Syst Rev**, v. 2, p. 82, 2013.
- LIBERATI, A. *et al.* The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration. **BMJ**, v. 339, 2009.
- LIBRATY, D. H. *et al.* High circulating levels of the dengue virus nonstructural protein NS1 early in dengue illness correlate with the development of dengue hemorrhagic fever. **J. Infect. Dis.**, v. 186, p. 1165-1168, 2002.
- LIJMER, J. G. *et al.* Empirical Evidence of Design-Related Bias in Studies of Diagnostic Tests. **JAMA**, v. 282, n. 11, p. 1061–1066, 1999.
- LIMA, M. R. Q. **Avaliação de testes de captura de antígeno NS1 no diagnóstico precoce das infecções por dengue.** 2009. 79 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2009.
- LINDENBACH, B. D.; THIEL, H.; RICE, C. M. Flaviviridae: the viruses and their replication. *In*: KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M. (Eds). **Fields virology**. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007. p. 1101-1152.
- LOW, J. G. *et al.* The early clinical features of dengue in adults: challenges for early clinical diagnosis. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v. 5, e. 1191, 2011.
- LUCCHESI, G. **Globalização e regulação sanitária: os rumos da vigilância sanitária no Brasil.** 2001. 245 f. Tese (Doutorado em Saúde Pública) – Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2001.
- MACASKILL, P. *et al.* Analysing and Presenting Results. *In*: DEEKS, J. J.; BOSSUYT, P. M.; GATSONIS, C. (Ed.), **Cochran Handbook for Systematic Reviews of Diagnostic Test Accuracy Version 1.0.** The Cochran Collaboration, 2010, cap. 10.

- MADEIRA, K. **Importância da heterogeneidade em meta-análise e acurácia da mesotelina no diagnóstico de câncer de ovário.** 2015. 99 f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) – Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2015.
- MANTEL, N., HAENSZEL, W. Statistical aspects of the analysis of data from retrospective studies of disease. **J. Natl. Cancer Inst.** v.22, p. 719-748, 1959.
- MARK, D. *et al.* Microfluidic lab-on-a-chip platforms: requirements, characteristics and applications. **Chem. Soc. Rev.**, v. 39, p. 1153-1182, 2010.
- MARTELLI, C. M. T. *et al.* Economic impact of dengue: multicenter study across four Brazilian Regions. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 9, n. 9, p. e0004042, 2015.
- MCINNES, M. D. F. *et al.* Preferred reporting items for a systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy studies The PRISMA-DTA Statement. **JAMA**, v. 319, n. 4, p. 388-396, 2018.
- MEDEIROS, L. R. F. **Revisão sistemática com enfoque diagnóstico e terapêutico das tumorações ovarianas.** 2008. 288 f. Tese (Doutorado em Epidemiologia) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.
- MEDEIROS, L. R. *et al.* Revisão sistemática e metanálise com enfoque na acurácia de testes diagnósticos. **Arq. Catarin. Med.**, v. 41, n. 3, p. 81-88, 2012.
- MEDIVEN. *ProDetect Dengue Rapid Test Series.* 2018. Disponível em: <http://www.clearbridgemedical.com/wp-content/uploads/2018/08/PD-Dengue-Brochure.pdf>. Acesso em: 09 fev. 2019.
- MEDRONHO, R. A.; PEREZ, M. A. Testes diagnósticos. *In:* Medronho, R. A.; Carvalho, D. M. (Ed.). **Epidemiologia.** 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2009, p. 389-402.
- MESSINA, J. P. *et al.* Global spread of dengue vírus types: mapping the 70 year history. **Trends Microbiol.**, v. 22, n. 3, p. 138-146, 2014.
- MOHER, D. *et al.* Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA Statement. **BMJ**, v. 339, 2009.
- MOHER, D. *et al.* Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. **Systematic Reviews**, v. 4, n. 1, p. 1, 2015.
- MOREIRA, L. A. *et al.* A Wolbachia symbiont in Aedes aegypti limits infection with dengue, Chikungunya, and Plasmodium. **Cell**, v. 139, n. 7, p. 1268-1278, 2009.
- MULROW, C. D. Rationale for systematic reviews. **BMJ**, v. 309, p. 597-599, 1994.
- MURRAY, N. E. A.; QUAM, M. B.; WILDER-SMITH, A. Epidemiology of dengue: past, present and future prospects. **Clinical Epidemiology**, v. 5, p. 299-309, 2013.

- MUSTAFA, M. S. *et al.* Discovery of Fifth Serotype of Dengue Virus (DENV-5): a new public health dilemma in dengue control. **Med J Armed Forces India**, v. 71 (1), p. 67-70, 2015.
- NUNES, A. A. *et al.* Testes diagnósticos no contexto da avaliação de tecnologias em saúde: abordagens, métodos e interpretação. **Medicina (Ribeirão Preto Online)**, v. 48, n. 1, p. 8-18, 2015.
- OHAINLE, M. *et al.* Dynamics of dengue disease severity determined by the interplay between viral genetics and serotype-specific immunity. **Sci Transl Med**, v. 3, p. 114-28, 2011.
- OLIVEIRA, G. M. *et al.* Revisão sistemática da acurácia dos testes diagnósticos: uma revisão narrativa. **Rev. Col. Bras. Cir.**, Rio de Janeiro, v. 37, n. 2, p. 153-156, 2010.
- OSANAI, C. H. *et al.* Dengue outbreak in Boa Vista, Roraima. Preliminary report. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 25, p. 53-4, 1983.
- OSORIO, L. *et al.* Comparison of the diagnostic accuracy of commercial NS1-based diagnostic tests for early dengue infection. **Virol J**, v. 7, p. 361, 2010.
- PAIXÃO, E. S. *et al.* Trends and factors associated with dengue mortality and fatality in Brazil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 48, n. 4, p. 399-405, 2015.
- PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. **Description of the current epidemiological trends of dengue in the Americas**. 2015. Disponível em: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=4494&Itemid=2481&lang=en. Acesso em: 16 ago. 2017.
- PANG, J. *et al.* Progress and challenges towards point-of-care diagnostic development for dengue. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 55, n. 12, p. 3339-3349, 2017.
- PATH. **Diagnostic Technologies**. Lateral flow tests: how they work. 2008. Disponível em: <http://sites.path.org/dx/rapid-dx/technologies/lateral-flow/how-it-works-2/>. Acesso em: 23 set. 2017.
- PEELING, R. W. *et al.* Evaluation of diagnostic tests: dengue. **Nat. Rev. Microbiol.**, v. 8, S30-S38, 2010.
- PETERS, Micah *et al.* The systematic review of studies of diagnostic test accuracy. *In*: PETERS, Micah *et al.* **Joanna Briggs Institute Reviewers' Manual 2015: methodology for JBI scoping reviews**. Australia: Joanna Briggs Institute, 2015.
- PINHEIRO, F. P.; CORBER, S. J. Global situation of dengue and dengue haemorrhagic fever, and its emergence in the Americas. **World Health Stat Q.**, v. 50, p. 161-169, 1997.
- PINHO, A. C. O. **Diagnóstico e caracterização molecular do vírus dengue circulante na cidade de Salvador**. 2013. 75 f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2013.

POLONI, T. R. R. S. **Estudo das características clínicas e laboratoriais da infecção pelo vírus da dengue em crianças atendidas em uma unidade de saúde no município de Ribeirão Preto, São Paulo**. 2013. 78 f. Tese (Doutorado em Biociências Aplicadas à Farmácia) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2013.

PORTAL DA SAÚDE. Ministério da Saúde. **Casos de dengue: Brasil, grandes regiões e unidades federadas, 1990 a 2016**. 2017a. Disponível em: <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/fevereiro/10/Dengue-classica-ate-2016.pdf>. Acesso em: 15 set. 2017.

PORTAL DA SAÚDE. Ministério da Saúde. **Óbitos por dengue: Brasil, grandes regiões e unidades federadas 1990 a 2016**. 2017b. Disponível em: <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/fevereiro/10/obitos-ate-2016.pdf>. Acesso em: 15 set. 2017.

POSTHUMA-TRUMPIE, G. A.; KORF, J.; VAN AMERONGEN, A. Lateral flow (immuno) assay: its strengths, weaknesses, opportunities and threats. A literature survey. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 393, n. 2, p. 569-582, 2009.

PUCHNICK, A. *et al.* Considerações sobre revisões sistemáticas de testes diagnósticos. **Diagn Tratamento**, v. 17, n. 3, p. 130-2, 2012.

REITSMA J. B., *et al.* Assessing methodological quality. *In*: DEEKS, J. J.; BOSSUYT, P. M.; GATSONIS, C. (Ed.). **Cochrane handbook for systematic reviews of diagnostic test accuracy version 1.0.0**. The Cochrane Collaboration, 2009. Capítulo 9. Disponível em: <http://srdta.cochrane.org/>. Acesso em: 05 abr. 2018.

RIBAS-SILVA, R.; EID, A. A. Pesquisa de anticorpos antidengue em doadores de sangue. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, São Paulo, v. 34, n. 3, p. 193-195, 2012.

RODRIGUES, C. L.; ZIEGELMANN, P. K. Metanálise: um guia prático. **Rev HCPA**, v. 30, n. 4, p. 435-46, 2010.

ROSS, T. M. Dengue virus. **Clin Lab Med**, v. 30, n. 1, p. 149-60, 2010.

RUTJES, A. W. S. *et al.* Case–Control and two-gate designs in diagnostic accuracy studies. **Clinical Chemistry**, v. 51, n. 8, p. 1335-1341, 2005.

SAMPAIO, R. F.; MANCINI, M. C. Estudos de revisão sistemática: um guia para síntese criteriosa da evidência científica. **Rev. bras. fisioter.**, v. 11, n. 1, p. 83-89, 2007.

SAMUEL, P. P.; TYAGI, B. K. Diagnostic methods for detection & isolation of dengue viruses from vector mosquitoes. **Indian J Med Res**, v. 123, n. 5, p. 615-28, 2006.

SAN MARTÍN, J. L. *et al.* The epidemiology of dengue in the Americas over the last three decades: a worrisome reality. **Am J Trop Med Hyg**, v. 82, n. 1, p. 128-135, 2010.

SANCHEZ, M. C. A. Testes sorológicos. In: FERREIRA, A. W.; ÁVILA, S. L. M. **Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p. 9-48.

SANTOS, F. L. N. **Caracterização do potencial diagnóstico de poliantígenos para detecção do *Trypanosoma cruzi* na fase crônica da doença de Chagas**. 2016. 196 f. Tese (Doutorado em Biociências e Biotecnologia em Saúde) – Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, Pernambuco, 2016.

SCHAFFNER, F.; MATHIS, A. Dengue and dengue vectors in the WHO European region: past, present, and scenarios for the future. **Lancet Infect Dis**, v. 14, p. 1271-1280, 2014.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico**, v. 47, n. 3, 2016. Disponível em: <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2016/janeiro/15/svs2016-be003-dengue-se52.pdf>. Acesso em: 25 set. 2017.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico**, v. 48, n. 3, 2017. Disponível em: <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/abril/06/2017-002-Monitoramento-dos-casos-de-dengue--febre-de-chikungunya-e-febre-pelo-v--rus-Zika-ate-a-Semana-Epidemiologica-52--2016.pdf>. Acesso em: 25 set. 2017.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico**, v. 50, n. 04, 2019. Disponível em: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/janeiro/28/2019-002.pdf>. Acesso em: 04 fev. 2019.

SEKARAN, S. D.; RATHAKRISHNAN, A.; YEO, A. S. L. Dengue: an overview. **Journal of Health and Translational Medicine**, v. 17, n. 2, p. 1-10, 2014.

SHAN, X. *et al.* Evaluation of the diagnostic accuracy of nonstructural protein 1 Ag-based tests for dengue virus in Asian population: a meta-analysis. **BMC Infectious Diseases**, v. 15, 2015.

SHEPARD, D. S. *et al.* Economic Impact of Dengue Illness in the Americas. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 84, n. 2, p. 200-207, 2011.

SHEPARD, D. S. *et al.* The global economic burden of dengue: a systematic analysis. **Lancet Infect. Dis.**, v. 16, n. 8, p. 935-941, 2016.

SHU, P-Y.; HUANG, J-H. Current advances in dengue diagnosis. **Clin Vaccine Immunol**, v. 11, p. 642-650, 2004.

SHUQAIR, N. S. M. S. A. Q. **A Política de Vigilância Sanitária de Medicamentos: um estudo de caso na região da Lapa – Município de São Paulo**. 1996. 109 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

SILVEIRA, L. C. **Ciência, Tecnologia, Inovação e Vigilância Sanitária**. 2006. 105 f. Dissertação (Mestrado em Política e Gestão em Ciência e Tecnologia) – Centro de Desenvolvimento Sustentável, Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

SIMMONS, C. P. *et al.* Dengue. **N Engl J Med**, v. 366, p. 1423-1432, 2012.

SOUSA, M. R.; RIBEIRO, A. L. P. Revisão Sistemática e Meta-análise de Estudos de Diagnóstico e Prognóstico: um Tutorial. **Arq Bras Cardiol**, v. 92, n. 3, p. 241-251, 2009.

SPERANÇA, M. A.; CAPURRO, M. L. Perspectives in the control of infectious diseases by transgenic mosquitoes in the post-genomic era: a review. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 4, p. 425-433, 2007.

STANAWAY, J. D. *et al.* The global burden of dengue: an analysis from the Global Burden of Disease Study 2013. **Lancet Infect Dis**, v. 16, n. 6, p. 712-23, 2016.

STANDARD DIAGNOSTIC. *Dengue Eden Test Bioeasy*. 2013a. Disponível em: <http://www.masterdiagnostica.com.br/public/files/produtos/139421463113942146313263116009.pdf>. Acesso em:

STANDARD DIAGNOSTIC. *SD BIOLINE Dengue RDT Series*. 2013b. Disponível em: <https://3.imimg.com/data3/BQ/QS/MY-4675182/dengue-duo-engue-ns1-ag-igg-igm-sd-bioline.pdf>. Acesso em: 12 fev. 2019.

STANDARD DIAGNOSTIC. *SD Dengue IgG/IgM*. 2009. Disponível em: http://www.mddoctorsdirect.com/sites/default/files/product-pdf/11FK20_Dengue.pdf. Acesso em: 15 fev. 2019.

STIASNY, K.; HEINZ, F. X. Flavivirus membrane fusion. **Journal of General Virology**, v. 87, p. 2755-2766, 2006.

SUBEDI, D.; TAYLOR-ROBINSON, A. Laboratory Diagnosis of Dengue Infection: Current Techniques and Future Strategies. **Open Journal of Clinical Diagnostics**, v. 4, p. 63-70, 2014.

TAMBYAH, P. A. *et al.* Dengue hemorrhagic fever transmitted by blood transfusion. **N Engl J Med**, v. 359, n. 14, p. 1526-7, 2008.

TANG, K. F.; OOI, E. E. Diagnosis of dengue: an update. **Expert Rev. Anti Infect. Ther.**, v. 10, p. 895-907, 2012.

TATSIONI, A. *et al.* Challenges in Systematic Reviews of Diagnostic Technologies. **Ann. Intern. Med.**, v. 142, n. 12, p.1048-1055, 2005.

TEIXEIRA, M. G. *et al.* Dengue: twenty-five years since reemergence in Brazil. **Cad. Saúde Pública**, v. 25, p. S7-S18, 2009.

TEMPORÃO, J. G. *et al.* Dengue virus serotype 4, Roraima State, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 5, p. 938-940, 2011.

TEO, D.; NG, L. C.; LAM, S. Is dengue a threat to the blood supply? **Transfus Med.**, v. 19, p. 66-77, 2009.

THOMBS, B. D. et al. Reducing Waste and Increasing the Usability of Psychiatry Research: The Family of EQUATOR Reporting Guidelines and One of Its Newest Members: The PRISMA-DTA Statement. **The Canadian Journal of Psychiatry**, v. 63, n. 8, p. 509-512, 2018.

VASILAKIS, N. *et al.* The daemon in the forest-emergence of a new dengue serotype in South East Asia. *In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON DENGUE AND DENGUE HAEMORRHAGIC FEVER*, 3., 2013, Bangkok, Thailand. [Anais]. Bangkok, Thailand: MIVEGEC, 2013.

VERDEAL, J. C. R. *et al.* Recomendações para o manejo de pacientes com formas graves de dengue. **Rev. bras. ter. intensiva**, v. 23, n. 2, p. 125-133, 2011.

VIRGILI, et al. Systematic reviews of diagnostic test accuracy and the Cochrane collaboration. **Intern Emerg Med**, v. 9, n. 3, p. 255-258, 2009.

VORNDAM, V.; KUNO, G. Laboratory diagnosis of dengue virus infection. *In: GUBLER, D. J.; KUNO, G. (Ed.). Dengue and dengue hemorrhagic fever*. New York: CAB International, 1997. p. 313-33.

WAHALA, W. M.; DE SILVA, A. M. The human antibody response to dengue virus infection. **Viruses**, v. 3, p. 2374-2395, 2011.

WALDMAN, E. A. **Vigilância em saúde pública**. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 1998. v. 7. (Série Saúde & Cidadania).

WEAVER, S.C.; REISEN, W. K. Present and Future Arboviral Threats. **Antiviral Res.**, v. 85, n. 2, p. 328-45, 2010.

WHITING, P. F. *et al.* The development of QUADAS: a tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews. **BMC Medical Research Methodology**, v. 3, n. 1, p. 25, 2003.

WHITING, P. F. *et al.* Sources of variation and bias in studies of diagnostic accuracy: a systematic review. **Ann. Intern. Med.**, v. 140, p.189-202, 2004.

WHITING, P. F. *et al.* QUADAS-2: a revised tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies. **Ann Intern Med**, v. 155, n. 8, p. 529-36, 2011.

WHITING, P. F. *et al.* A systematic review classifies sources of bias and variation in diagnostic test accuracy studies. **J Clin Epidemiol**, v. 66, p. 1093-1104, 2013.

WILDER-SMITH, A. *et al.* Threat of Dengue to Blood Safety in Dengue-Endemic Countries. **Emerging Infectious Diseases**, v. 15, n. 1, p. 8–11, 2009.

WILDER-SMITH, A.; GUBLER, D. J. Geographic expansion of dengue: the impact of international travel. **Med Clin North Am**, v. 92, n. 6, p. 1377-90, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Dengue hemorrhagic fever**: diagnosis, treatment, prevention and control. 2. ed. Geneva: World Health Organization, 1997.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Dengue**: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control: new edition. Geneva: WHO, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global strategy for dengue prevention and control 2012–2020**. Geneva: WHO, 2012. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/75303/1/9789241504034_eng.pdf?ua=1. Acesso em: 09 ago. 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Dengue vaccine: WHO position paper, July 2016. **Weekly epidemiological record**, v. 91, n. 30, p. 349-364, jul. 2016. Disponível em: <http://www.who.int/wer/2016/wer9130.pdf?ua=1>. Acesso em: 26 set. 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Dengue control – epidemiology**. 2017. Disponível em: <http://www.who.int/denguecontrol/epidemiology/en/>. Acesso em: 02 ago. 2017.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Dengue and severe dengue**. 2018. Disponível em: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>. Acesso em: 13 dez. 2018.

WU, S. J. *et al.* Detection of Dengue Viral RNA Using a Nucleic Acid Sequence-Based Amplification Assay. **J. Clin. Microbiol.**, v. 39, n. 8, p. 2794-2798, 2001.

YEW, Y. W. *et al.* Sero-epidemiology of dengue virus infection among adults in Singapore. **Ann Acad Med.**, v. 38, p. 667-675, 2009.

YOUNG, P. R. *et al.* An antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay reveals high levels of the dengue virus protein NS1 in the sera of infected patients. **J Clin Microbiol.**, v. 38, p. 1053-7, 2000.

ZAMORA, J. *et al.* Meta-DiSc: a software for meta-analysis of test accuracy data. **BMC Medical Research Methodology**, v. 6, n. 31, 2006.

ZARA, A. L. S. A. *et al.* Estratégias de controle do *Aedes aegypti*: uma revisão. **Epidemiol. Serv. Saúde**, Brasília, v. 25, n. 2, p. 391-404, 2016.

ZHANG, B. *et al.* Diagnosing dengue virus infection: rapid tests and the role of micro/nanotechnologies. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, v. 11, n. 7, p. 1745-1761, 2015.

ZHANG, H. *et al.* NS1-based tests supplying a diagnostic utility for confirming dengue infection: a meta-analysis. **Int J Infect Dis**, v. 26, p. 57–66, 2014.

APÊNDICE A – ESTRATÉGIAS DE BUSCAS UTILIZADAS EM CADA BASE DE DADOS

BASE DE DADOS	ESTRATÉGIA DE BUSCA	RESULTADOS
PubMed	(((((((((diagnostic reagent kit[MeSH Terms]) OR immunoassay[MeSH Terms]) OR immunochromatographic assay[MeSH Terms]) OR in vitro diagnostic device[MeSH Terms]) OR (((((((((((("Diagnostic Reagent Kit") OR "Diagnostic Test Kit") OR "Immunochromatographic test") OR "Immunochromatographic Assay") OR "Immunochromatographic rapid test") OR "Lateral flow") OR "Rapid test") OR "Rapid diagnostic test") OR Dipstick) OR "Quick test") OR "Test strip") OR "Point-of-care test") OR "Point-of-care testing") OR ((((((((((LFT) OR LFD) OR LFA) OR LFIA) OR RDT) OR RDTs) OR RADT) OR RADTs) OR POC) OR POCT)))) AND ((((((((((sensitivity and specificity[MeSH Terms])) OR diagnosis[MeSH Terms]) OR (((((((((((Sensitivity) OR Specificity) OR "False positive") OR "False positives") OR "False negative") OR "False negatives") OR "True positive") OR "True positives") OR "True negative") OR "True negatives") OR Accuracy) OR evaluation)))) AND ((((((((((dengue[MeSH Terms]) OR dengue virus[MeSH Terms]) OR (((((((((((dengue[Title/Abstract]) OR "dengue virus"[Title/Abstract]) OR DENV[Title/Abstract]) OR "dengue viruses") OR "dengue fever") OR "break bone fever") OR "breakbone fever") OR DHF) OR DSS)))) AND ((((((((((viral nonstructural proteins ns1[MeSH Terms]) OR immunoglobulin m[MeSH Terms]) OR immunoglobulin g[MeSH Terms]) OR (((((((((((("non structural protein 1") OR "nonstructural protein 1") OR "non-structural protein 1") OR NS1) OR NS-1) OR "Immunoglobulin m") OR IgM) OR Ig-M) OR "Immunoglobulin G") OR IgG) OR Ig-G))))	516
SCOPUS	((ALL("Diagnostic Reagent Kit" OR "Diagnostic Test Kit" OR "Immunochromatographic Assay" OR "Immunochromatographic test" OR "Immunochromatographic rapid test" OR "Lateral flow" OR "Rapid test" OR "Rapid diagnostic test" OR Dipstick OR "Quick test" OR "Test strip" OR "Point-of-care test" OR "Point-of-care testing")) AND (ALL(Sensitivity OR Specificity OR "False Positive" OR "False Positives" OR "False negative" OR "False negatives" OR "True positive" OR "True positives" OR "True negative" OR "True negatives" OR Accuracy) OR TITLE-ABS-KEY(evaluation))) AND ((TITLE-ABS-KEY(dengue OR "dengue virus" OR "dengue viruses" OR "dengue fever" OR DENV) AND (ALL("non structural protein 1" OR "nonstructural protein 1" OR "non-structural protein 1" OR NS1 OR NS-1 OR "Immunoglobulin m" OR IgM OR Ig-M OR "Immunoglobulin G" OR IgG OR Ig-G))))	643
Web of Science	("immunochromatographic" OR "immunochromatographic assay" OR "immunochromatographic test" OR "immunochromatographic rapid test" OR "rapid immunochromatographic" OR "lateral flow" OR "rapid test" OR "rapid diagnostic test" OR dipstick OR "quick test" OR "test strip" OR "point-of-care test" OR "point-of-care testing") AND (evaluation OR sensitivity OR specificity OR "false positive" OR "false positives" OR "false negative" OR "false negatives" OR "true positive" OR "true positives" OR "true negative" OR "true negatives" OR accuracy) AND (dengue OR "dengue virus" OR "dengue viruses" OR DENV) AND ("viral nonstructural protein ns1" OR "nonstructural protein 1" OR "non structural protein 1" OR "non-structural protein 1" OR NS1 OR "NS-1" OR "immunoglobulin m" OR "IgM" OR "Ig-M" OR "immunoglobulin g" OR "IgG" OR "Ig-G")	174
CENTRAL Cochrane	(immunochromatographic OR "rapid test" OR "rapid diagnostic test") AND dengue	13
LILACS	(tw:(imunocromatografico OR "teste rápido")) AND (tw:(dengue))	11

APÊNDICE B – FORMULÁRIO PARA EXTRAÇÃO DE DADOS

FORMULÁRIO PARA EXTRAÇÃO DOS DADOS

REVISOR

Nome: _____

DADOS BIBLIOGRÁFICOS (Identificação do artigo)

Autor: _____

Revista/jornal: _____

Volume: _____ Número: _____ Páginas: _____

Ano: _____ ID do artigo: _____ Idioma: _____

CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

PERÍODO (Artigos publicados a partir do ano 2000)

Sim Não

DESIGN DO ESTUDO (Estudos observacionais – prospectivos e retrospectivos – transversais e de coorte).

Sim Não

AVALIAÇÃO (marcadores de diagnóstico da infecção pelo DENV – NS1, IgM e IgG).

Sim Não

POPULAÇÃO (pacientes com suspeita clínica de infecção por dengue).

Sim Não

TESTE AVALIADO (TRs imunocromatográficos comerciais, com execução, leitura e interpretação de resultados dentro de 30 minutos).

Sim Não

PADRÃO-OURO (Isolamento viral como comparação ou outro teste padrão de referência como confirmação - PCR convencional, real time PCR, ELISA).

Sim Não

DADOS PARA CONFECÇÃO TABELA 2x2 (valores de VP, VN, FP e FN disponíveis).

Sim Não

Notas: Qualquer negativa marcada acima, exclui automaticamente o estudo.

Número	Sexo	Idade	Infecção	
			1ª	2ª

AMOSTRA

Amostras frescas Congeladas (*stored*) NI

Tipo de amostra utilizada?

Sangue total Plasma Soro NI

Condições de armazenamento de amostras: _____

Transporte de amostra: _____

TESTE ÍNDICE

Nome Comercial /Fabricante: _____

Marcador(es) avaliado(s): NS1 IgM IgG

Local onde o teste foi realizado? _____

Testes realizados de acordo com as instruções do fabricante?

Sim Não NI

Houve cegamento do operador em relação aos resultados do teste padrão de referência? Sim Não NI

Utilizou amostras controle (positiva/negativa)? Sim Não NI

Número de observadores: _____

Método de resolução de discrepância entre observadores: _____

Número de testes repetidos: _____

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

CONFIRMAÇÃO DE ELEGIBILIDADE

Considerando o desenho do estudo, a população envolvida, o teste índice, o padrão de referência, o estudo pode ser incluído na revisão?

Elegível

Não Elegível

Inconclusivo

APÊNDICE C – FORMULÁRIO PARA AVALIAÇÃO DA QUALIDADE

QUADAS-2

RISCO DE VIÉS E JULGAMENTOS DE APLICABILIDADE

DOMÍNIO 1: SELEÇÃO DOS PACIENTES

A. Risco de viés

Descrever os métodos de seleção de pacientes:

Os pacientes foram recrutados de maneira consecutiva ou através de amostras aleatórias? Sim Não Incerto

O desenho caso-controle foi evitado?

Sim Não Incerto

O estudo evitou exclusões inapropriadas?

Sim Não Incerto

A seleção dos pacientes pode ter introduzido viés? Risco:

Alto Baixo Incerto

B. Preocupações relacionadas à aplicabilidade

Descreva os pacientes incluídos (testes prévios, apresentação, uso pretendido do teste índice e cenário clínico):

Existe uma preocupação que os pacientes incluídos não correspondem à questão de pesquisa? Alto Baixo Incerto

DOMÍNIO 2: TESTE ÍNDICE**A. Risco de viés**

Descreva o teste do índice e como ele foi conduzido e interpretado:

Os resultados do teste índice foram interpretados sem o conhecimento dos resultados do teste padrão de referência?

Sim Não Incerto

Pode a condução ou interpretação do teste índice ter introduzido vieses? Risco:

Alto Baixo Incerto

B. Preocupações relacionadas à aplicabilidade

Há preocupações de que o teste índice, sua condução ou interpretação difere da questão de pesquisa da revisão?

Alto Baixo Incerto

DOMÍNIO 3: PADRÃO DE REFERÊNCIA**A. Risco de viés**

Descreva o padrão de referência e como ele foi conduzido e interpretado:

O padrão de referência provavelmente classificou corretamente a condição-alvo?

Sim Não Incerto

Os resultados do padrão de referência foram interpretados sem o conhecimento dos resultados do teste índice?

Sim Não Incerto

Pode o padrão de referência, sua condução ou interpretação ter introduzido vieses? Risco: **Alto** **Baixo** **Incerto**

B. Preocupações relacionadas à aplicabilidade

Há uma preocupação que a condição-alvo como definida pelo padrão de referência não corresponde à questão de pesquisa da revisão?

Alto **Baixo** **Incerto**

DOMÍNIO 4: FLUXO E TEMPO

A. Risco de viés

Descreva qualquer paciente que não tenha recebido o teste índice e/ou o padrão de referência ou que foi excluído da tabela 2x2:

Todos os pacientes receberam um padrão de referência?

Sim Não Incerto

Todos os pacientes receberam o mesmo padrão de referência?

Sim Não Incerto

Todos os pacientes foram incluídos nas análises?

Sim Não Incerto

Os resultados não interpretáveis foram relatados (o nº de participantes na tabela 2 x 2 corresponde ao nº de participantes recrutados no estudo ou se forem fornecidas explicações suficientes para discrepâncias, incluindo notificação de resultados não interpretáveis)?

Sim Não Incerto

Pode o fluxo dos pacientes ter introduzido viés? Risco:

Alto **Baixo** **Incerto**

APÊNDICE D – LISTA DE REFERÊNCIAS DOS ESTUDOS EXCLUÍDOS

ACOSTA, P. O. A. et al. False-negative dengue cases in Roraima, Brazil: An approach regarding the high number of negative results by NS1 AG kits. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 56, n. 5, p. 447-450, 2014.

ANDRIES, A. C. et al. Field evaluation and impact on clinical management of a rapid diagnostic kit that detects dengue NS1, IgM and IgG. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 6, n. 12, p. e1993, 2012.

ANDRIES, A. C. et al. Evaluation of the performances of six commercial kits designed for dengue NS1 and anti-dengue IgM, IgG and IgA detection in urine and saliva clinical specimens. **BMC Infect Dis**, v. 16, p. 201, 2016.

BERLIOZ-ARTHAUD, A. et al. Evaluation of a new anti-dengue virus IgM particle agglutination kit in the context of the Pacific islands. **Dengue Bulletin**, v. 29, p. 70-78, 2005.

BIBHAS, S. D. et al. A comparative study on the performance of two commercial serological dengue kits. **Journal of Evolution of Medical and Dental Sciences-Jemds**, v. 4, n. 10, p. 1659-1665, 2015.

BLACKSELL, S. D. et al. The comparative accuracy of 8 commercial rapid immunochromatographic assays for the diagnosis of acute dengue virus infection. **Clinical Infectious Diseases**, v. 42, n. 8, p. 1127-1134, 2006.

BLACKSELL, S. D. et al. Prospective study to determine accuracy of rapid serological assays for diagnosis of acute dengue virus infection in Laos. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 14, n. 11, p. 1458-1464, 2007.

BLACKSELL, S. D. et al. Evaluation of six commercial point-of-care tests for diagnosis of acute dengue infections: The need for combining NS1 antigen and IgM/IgG antibody detection to achieve acceptable levels of accuracy. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 18, n. 12, p. 2095-2101, 2011.

CALLERI, G. et al. Imported dengue in two tertiary Italian hospitals: Use of rapid diagnostic tests. **Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique**, v. 110, n. 1, p. 13-19, 2017.

CAMPBELL, C. A. et al. Seroprevalence of dengue in Trinidad using rapid test kits: a cord blood survey. **Acta Trop**, v. 101, n. 2, p. 153-8, 2007.

CHAIYARATANA, W. et al. Evaluation of dengue nonstructural protein 1 antigen strip for the rapid diagnosis of patients with dengue infection. **Diagn Microbiol Infect Dis**, v. 64, n. 1, p. 83-4, 2009.

CHAKRAVARTI, A. et al. Evaluation of three commercially available kits for serological diagnosis of dengue haemorrhagic fever. **Diagn Microbiol Infect Dis**, v. 36, n. 4, p. 273-4, 2000.

CHARREL, R. N.; et al.. Low specificity of an immunochromatographic serological assay for diagnosis of dengue fever in travelers returning with malaria. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 9, n. 6, p. 1400-1400, 2002.

CHATERJI, S. et al. Evaluation of the NS1 rapid test and the WHO dengue classification schemes for use as bedside diagnosis of acute dengue fever in adults. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 84, n. 2, p. 224-228, 2011.

CHEN, X. et al. Clinical evaluation of dengue RNA, NS1, and IgM for diagnosis of dengue in Southern China. **Journal of Medical Virology**, v. 88, n. 1, p. 28-34, 2016.

COHEN, A. L. et al. Rapid diagnostic tests for dengue and leptospirosis: Antibody detection is insensitive at presentation. **Tropical Medicine and International Health**, v. 12, n. 1, p. 47-51, 2007.

CUZZUBBO, A. J. et al. Use of recombinant envelope proteins for serological diagnosis of Dengue virus infection in an immunochromatographic assay. **Clin Diagn Lab Immunol**, v. 8, n. 6, p. 1150-5, 2001.

DUSSART, P. et al. Evaluation of two new commercial tests for the diagnosis of acute dengue virus infection using NS1 antigen detection in human serum. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 2, n. 8, p. e280, 2008.

FAGOUR, L.; et al. Rapid tests in the diagnosis of arboviral diseases. **Revue Francophone des Laboratoires**, v. 2015, n. 474, p. 51-62, 2015.

FELIX, A. C. et al. Low sensitivity of NS1 protein tests evidenced during a dengue type 2 virus outbreak in Santos, Brazil, in 2010. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 19, n. 12, p. 1972-1976, 2012.

FERRAZ, F. O. et al. Evaluation of laboratory tests for dengue diagnosis in clinical specimens from consecutive patients with suspected dengue in Belo Horizonte, Brazil. **Journal of Clinical Virology**, v. 58, n. 1, p. 41-46, 2013.

FRY, S. R. et al. The diagnostic sensitivity of dengue rapid test assays is significantly enhanced by using a combined antigen and antibody testing approach. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 5, n. 6, p. e1199, 2011.

GOLJAN, J. et al. Dengue antibodies in Polish travellers returning from the tropics. Evaluation of serological tests. **Int Marit Health**, v. 61, n. 1, p. 36-40, 2010.

GROEN, J. et al. Evaluation of six immunoassays for detection of dengue virus-specific immunoglobulin M and G antibodies. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 7, n. 6, p. 867-871, 2000.

HUANG, C. H. et al. Laboratory diagnostics of dengue fever: an emphasis on the role of commercial dengue virus nonstructural protein 1 antigen rapid test. **J Microbiol Immunol Infect**, v. 46, n. 5, p. 358-65, 2013.

HUNSPERGER, E. A. et al. Evaluation of commercially available anti-dengue virus immunoglobulin M tests. **Emerging Infectious Diseases**, v. 15, n. 3, p. 436-440, 2009.

HUNSPERGER, E. A. et al. Evaluation of commercially available diagnostic tests for the detection of dengue virus NS1 antigen and anti-dengue virus IgM antibody. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 8, n. 10, p. e3171, 2014.

HUNSPERGER, E. A. et al. Use of a Rapid Test for Diagnosis of Dengue during Suspected Dengue Outbreaks in Resource-Limited Regions. **J Clin Microbiol**, v. 54, n. 8, p. 2090-5, 2016.

ILLAMANI, V. et al. Serological analysis of clinically diagnosed dengue virus infection by immunochromatography. **Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences**, v. 5, n. 2, p. 703-706, 2014.

JELINEK, T. et al. Influence of rheumatoid factor on the specificity of a rapid immunochromatographic test for diagnosing dengue infection. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v. 19, n. 7, p. 555-556, 2000.

KASSIM, F. M. et al. Use of dengue NS1 antigen for early diagnosis of dengue virus infection. **Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v. 42, n. 3, p. 562-569, 2011.

KHAN, I. D. et al. Rapid diagnosis of dengue outbreaks in resource limited facilities. **West Indian Medical Journal**, v. 66, n. 1, p. 4-9, 2017.

KITTIGUL, L. et al. Use of a rapid immunochromatographic test for early diagnosis of dengue virus infection. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v. 21, n. 3, p. 224-6, 2002.

KRISHNANANTHASIVAM, S. et al. Evaluation of a commercial rapid test kit for detection of acute dengue infection. **Southeast Asian J Trop Med Public Health**, v. 46, n. 4, p. 602-10, 2015.

KUMARASAMY, V. et al. A comparative study on the performance of two commercial anti-dengue IgM assay kits. **Medical Journal of Malaysia**, v. 62, n. 1, p. 85-86, 2007.

LEE, S. et al. Two-Color Lateral Flow Assay for Multiplex Detection of Causative Agents behind Acute Febrile Illnesses. **Analytical Chemistry**, v. 88, n. 17, p. 8359-8363, 2016.

LIMA, J. R. C. et al. Interpretation of the presence of IgM and IgG antibodies in a rapid test for dengue: Analysis of dengue antibody prevalence in Fortaleza City in the 20th year of the epidemic. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, n. 2, p. 163-167, 2012.

LIMA, M. R. Q. et al. Comparison of three commercially available dengue NS1 antigen capture assays for acute diagnosis of Dengue in Brazil. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 4, n. 7, 2010.

LIMA, M. R. Q. et al. A new approach to dengue fatal cases diagnosis: NS1 antigen capture in tissues. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 5, 2011.

MANTHALKAR, P. S.; PEERAPUR, B. V. Utility of NS1 antigen for diagnosis of dengue virus infection. **Journal of Krishna Institute of Medical Sciences University**, v. 6, n. 1, p. 72-75, 2017.

MARTÍNEZ-VEGA, R. A. et al. Evaluation of PANBIO rapid immunochromatographic cassette for dengue diagnosis in a Colombian endemic area. **Biomedica**, v. 29, n. 4, p. 616-624, 2009.

MAUÉS, F. C. D. J.; RODRIGUES, S. G.; NUNES, M. R. T. Estudo comparativo dos resultados obtidos pelos métodos de imunocromatografia e o ELISA para detecção de anticorpos IgM e IgG anti-vírus dengue. **Rev. bras. anal. clin**, v. 35, n. 1, p. 5-9, 2003.

MAUES, F. C. D.; RODRIGUES, S. G.; NUNES, M. R. T. Comparative study of the results obtained by immunochromatographic methods and ELISA IgM and IgG antibodies detection anti dengue virus. **Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana**, v. 37, n. 3, p. 331-339, 2003.

MISHRA, B. et al. Clinical applicability of various dengue diagnostic tests in resource-limited endemic settings. **Journal of Global Infectious Diseases**, v. 6, n. 3, p. 109-113, 2014.

MITRA, S. et al. Comparative evaluation of validity and cost-benefit analysis of rapid diagnostic test (RDT) kits in diagnosis of dengue infection using composite reference criteria: A cross-sectional study from south India. **Journal of Vector Borne Diseases**, v. 53, n. 1, p. 30-36, 2016.

MOORTHY, M. et al. Evaluation of a rapid immunochromatographic device for the detection of IgM IgG antibodies to Dengue viruses (DENV) in a tertiary care hospital in South India. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 27, n. 3, p. 254-256, 2009.

NAZ, A. et al. Evaluation of efficacy of various immunochromatographic rapid tests for dengue diagnosis. **Pakistan Journal of Medical Sciences**, v. 30, n. 1, p. 166-171, 2014.

NGA, T. T. T. et al. Evaluation of two rapid immunochromatographic assays for diagnosis of dengue among Vietnamese febrile patients. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 14, n. 6, p. 799-801, 2007.

OSORIO, L. et al. Comparison of the diagnostic accuracy of commercial NS1-based diagnostic tests for early dengue infection. **Virol J**, v. 7, p. 361, 2010.

PAL, S. et al. Multicountry prospective clinical evaluation of two enzyme-linked immunosorbent assays and two rapid diagnostic tests for diagnosing dengue fever. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 53, n. 4, p. 1092-1102, 2015.

PANG, J. et al. Assessing changes in knowledge, attitude and practices on dengue diagnosis and management among primary care physicians after the largest dengue epidemic in Singapore. **BMC Infectious Diseases**, v. 17, n. 1, 2017.

PAN-NGUM, W. et al. Estimating the True Accuracy of Diagnostic Tests for Dengue Infection Using Bayesian Latent Class Models. **PLoS ONE**, v. 8, n. 1, 2013.

PIEDRAHITA, L. D. et al. Evaluation of Commercially Available Assays for Diagnosis of Acute Dengue in Schoolchildren During an Epidemic Period in Medellín, Colombia. **Am J Trop Med Hyg**, v. 95, n. 2, p. 315-21, 2016.

POK, K. Y. et al. Evaluation of nonstructural 1 antigen assays for the diagnosis and surveillance of dengue in Singapore. **Vector Borne Zoonotic Dis**, v. 10, n. 10, p. 1009-16, 2010.

RAMIREZ, A. H. et al. Evaluation of dengue NS1 antigen detection tests with acute sera from patients infected with dengue virus in Venezuela. **Diagn Microbiol Infect Dis**, v. 65, n. 3, p. 247-53, 2009.

SÁNCHEZ-VARGAS, L. A. et al. Evaluation of the SD BIOLINE dengue duo rapid test in the course of acute and convalescent dengue infections in a Mexican endemic region. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 78, n. 4, p. 368-372, 2014.

SANDOVAL, J. J. V. et al. Evaluation of the SD Dengue Duo diagnosis system for detection of NS1 protein and IgM and IgG dengue antibodies. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, v. 64, n. 1, p. 27-34, 2012.

SATHISH, N. et al. Comparison of IgM capture ELISA with a commercial rapid immunochromatographic card test & IgM microwell ELISA for the detection of antibodies to dengue viruses. **Indian J Med Res**, v. 115, p. 31-6, 2002.

SATHISH, N. et al. Dengue fever: Its laboratory diagnosis, with special emphasis on IgM detection. **Dengue Bulletin**, v. 27, p. 116-125, 2003.

SEKARAN, S. D. et al. Comparison of five serological diagnostic assays for the detection of IgM and IgG antibodies to dengue virus. **African Journal of Microbiology Research**, v. 2, n. 6, p. 141-147, 2008.

SENGVILAIPISEUTH, O. et al. Temperature of a Dengue Rapid Diagnostic Test under Tropical Climatic Conditions: A Follow Up Study. **PLoS One**, v. 12, n. 1, p. e0170359, 2017.

SHARP, T. M. et al. Characteristics of a dengue outbreak in a remote Pacific Island chain - Republic of the Marshall Islands, 2011-2012. **PLoS ONE**, v. 9, n. 9, 2014.

SHIH, H. I. et al. Applications of a Rapid and Sensitive Dengue DUO Rapid Immunochromatographic Test Kit as a Diagnostic Strategy during a Dengue Type 2 Epidemic in an Urban City. **PLoS One**, v. 11, n. 7, p. e0158437, 2016.

SHU, P. Y. et al. Application of the dengue virus NS1 antigen rapid test for on-site detection of imported dengue cases at airports. **Clin Vaccine Immunol**, v. 16, n. 4, p. 589-91, 2009.

SHUKLA, M. K. et al. Utility of dengue NS1 antigen rapid diagnostic test for use in difficult to reach areas and its comparison with dengue NS1 ELISA and qRT-PCR. **J Med Virol**, v. 89, n. 7, p. 1146-1150, 2017.

STEPHEN, S. et al. Early dengue diagnosis by nonstructural protein 1 antigen detection: Rapid immunochromatography versus two the enzyme-linked immunosorbent assay kits. **Indian Journal of Pathology and Microbiology**, v. 57, n. 1, p. 81-84, 2014.

SUGIMOTO, M. et al. Evaluation of nonstructural 1 protein rapid test for dengue virus at the Narita Airport quarantine station, Japan. **Jpn J Infect Dis**, v. 64, n. 2, p. 169-70, 2011.

TAKASAKI, T. et al. Evaluation of dengue IgM detection tests using sera from patients with autoimmune diseases. **Journal of Virological Methods**, v. 102, n. 1-2, p. 61-66, 2002.

TEOH, B. T. et al. The Use of NS1 Rapid Diagnostic Test and qRT-PCR to Complement IgM ELISA for Improved Dengue Diagnosis from Single Specimen. **Sci Rep**, v. 6, p. 27663, 2016.

TONTULAWAT, P. et al. Evaluation of rapid immunochromatographic NS1 test, anti-dengue IgM test, semi-nested PCR and IgM ELISA for detection of Dengue virus. **Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v. 42, n. 3, p. 570-578, 2011.

VAJPAYEE, M. et al. Comparative evaluation of various commercial assays for diagnosis of dengue fever. **Southeast Asian J Trop Med Public Health**, v. 32, n. 3, p. 472-5, 2001.

VALERO, N. et al. Comparison Between Immunochromatographic and Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) in the Dengue Diagnosis Comparación entre los métodos de inmunocromatografía e inmunoensayo enzimático (ELISA) en el diagnóstico del dengue. **Kasmera**, v. 34, n. 1, p. 53-60, 2006-01 2006.

VICKERS, I. E. et al. The performance of the SD BIOLINE Dengue DUO® rapid immunochromatographic test kit for the detection of NS1 antigen, IgM and IgG antibodies during a dengue type 1 epidemic in Jamaica. **Journal of Biomedical Science**, v. 22, n. 1, 2015.

VIKRAM, K. et al. An epidemiological study of dengue in Delhi, India. **Acta Trop**, v. 153, p. 21-7, 2016.

VONGSOUVATH, M. et al. Using Rapid Diagnostic Tests as a Source of Viral RNA for Dengue Serotyping by RT-PCR - A Novel Epidemiological Tool. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 10, n. 5, p. e0004704, 2016.

WANG, H. K. et al. Cellulose-based diagnostic devices for diagnosing serotype-2 dengue fever in human serum. **Adv Health Mater**, v. 3, n. 2, p. 187-96, 2014.

WANG, S. M. et al. Early diagnosis of Dengue infection using a commercial Dengue Duo rapid test kit for the detection of NS1, IGM, and IGG. **Am J Trop Med Hyg**, v. 83, n. 3, p. 690-5, 2010.

WATTHANAWORAWIT, W. et al. A prospective evaluation of diagnostic methodologies for the acute diagnosis of dengue virus infection on the Thailand-Myanmar border. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, v. 105, n. 1, p. 32-7, 2011.

WU, S. J. L. et al. Comparison of two rapid diagnostic assays for detection of immunoglobulin M antibodies to dengue virus. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 7, n. 1, p. 106-110, 2000.

ZAHOOR, M. et al. The Sensitivity Comparison of Immunodiagnostic Assays for Diagnosing Dengue Fever. **Korean Journal of Clinical Laboratory Science**, v. 48, n. 4, p. 275-279, 2016.

ZAINAH, S. et al. Performance of a commercial rapid dengue NS1 antigen immunochromatography test with reference to dengue NS1 antigen-capture ELISA. **Journal of Virological Methods**, v. 155, n. 2, p. 157-160, 2009.

APÊNDICE E – LISTA DE REFERÊNCIAS DOS ESTUDOS INCLUÍDOS

- BISORDI, I. et al. Evaluation of Dengue NS1 antigen detection for diagnosis in public health laboratories, São Paulo state, 2009. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 53, n. 6, p. 315-320, 2011.
- BUONORA, S. N. et al. Accuracy of clinical criteria and an immunochromatographic strip test for dengue diagnosis in a DENV-4 epidemic. **BMC Infectious Diseases**, v. 16, n. 1, 2016.
- CARTER, M. J. et al. Rapid diagnostic tests for dengue virus infection in febrile Cambodian children: diagnostic accuracy and incorporation into diagnostic algorithms. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 9, n. 2, p. e0003424, 2015.
- GAIKWAD, S.; et al. Comparison of nonstructural protein-1 antigen detection by rapid and enzyme-linked immunosorbent assay test and its correlation with polymerase chain reaction for early diagnosis of dengue. **J Lab Physicians**, v. 9, n. 3, p. 177-181, 2017.
- GAN, V. C. et al. Diagnosing dengue at the point-of-care: utility of a rapid combined diagnostic kit in Singapore. **PLoS One**, v. 9, n. 3, p. e90037, 2014.
- HANG, V. T. et al. Diagnostic accuracy of NS1 ELISA and lateral flow rapid tests for dengue sensitivity, specificity and relationship to viraemia and antibody responses. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 3, n. 1, 2009.
- HUITS, R. et al. Clinical Utility of the Nonstructural 1 Antigen Rapid Diagnostic Test in the Management of Dengue in Returning Travelers With Fever. **Open Forum Infect Dis**, v. 4, n. 1, p. ofw273, 2017.
- JINDAL, N.; et al. The 2011 outbreak of dengue virus infection in Malwa region of Punjab, India-an evaluation of various diagnostic tests. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 4, n. 5, p. 363-366, 2014.
- JUSOH, T. N. A. M.; SHUEB, R. H. Performance Evaluation of Commercial Dengue Diagnostic Tests for Early Detection of Dengue in Clinical Samples. **Journal of Tropical Medicine**, 2017.
- MATA, V. E. et al. Accuracy and reliability of an NS1 rapid immunochromatographic test for DENV-1 diagnosis at point of care and in the laboratory (vol 17, pg 594, 2017). **Bmc Infectious Diseases**, v. 17, 2017.
- NAJIOULLAH, F. et al. Prospective evaluation of nonstructural 1 enzyme-linked immunosorbent assay and rapid immunochromatographic tests to detect dengue virus in patients with acute febrile illness. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 69, n. 2, p. 172-178, 2011.
- PAL, S. et al. Evaluation of dengue NS1 antigen rapid tests and ELISA kits using clinical samples. **PLoS One**, v. 9, n. 11, p. e113411, 2014.
- PARANAVITANE, S. A. et al. Dengue NS1 antigen as a marker of severe clinical disease. **BMC Infect Dis**, v. 14, p. 570, 2014.
- PUN, R. et al. Prognostic value of rapid test for diagnosis of dengue in Nepalese patients during 2010 epidemic. **Kathmandu Univ Med J (KUMJ)**, v. 10, n. 37, p. 7-10, 2012.
- SÁENZ-BOLAÑOS, E. et al. Evaluation of a rapid dengue test at the local level Evaluación de una prueba rápida para diagnóstico de dengue en el nivel local. **Acta Médica Costarricense**, v. 50, n. 4, p. 230-237, 2008.
- SHRIVASTAVA, A. et al. Evaluation of a commercial Dengue NS1 enzyme-linked immunosorbent assay for early diagnosis of dengue infection. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 29, n. 1, p. 51-55, 2011.
- SIMONNET, C. et al. Prospective evaluation of the SD BIOLINE Dengue Duo rapid test during a dengue virus epidemic. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, v. 36, n. 12, p. 2441-2447, 2017.
- TRICOU, V. et al. Comparison of two dengue NS1 rapid tests for sensitivity, specificity and relationship to viraemia and antibody responses. **BMC Infectious Diseases**, v. 10, 2010.
- VICKERS, I. et al. Evaluation of OneStep Dengue NS1 RapiDip™ InstaTest and OneStep Dengue Fever IgG/IgM RapiCard™ InstaTest during the course of a dengue type 1 epidemic. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 89, n. 4, p. 271-275, 2017.
- VIVEK, R. et al. Evaluation of a pan-serotype point-of-care rapid diagnostic assay for accurate detection of acute dengue infection. **Diagn Microbiol Infect Dis**, v. 87, n. 3, p. 229-234, 2017.

ANEXO A – ITENS DO *CHECKLIST* PRISMA-DTA A SEREM INCLUÍDOS NO RELATO DA REVISÃO SISTEMÁTICA OU METANÁLISE

Seção/tópico	#	Lista de Verificação PRISMA-DTA	Pág #
TÍTULO / RESUMO			
Título	1	Identificar o relatório como uma revisão sistemática (+/-metanálise) de estudos de acurácia de testes de diagnósticos.	
Resumo	2	Resumo: Ver PRISMA-DTA para resumos.	
INTRODUÇÃO			
Justificativa	3	Descreva a justificativa para a revisão no contexto do que já é conhecido.	
Papel clínico do teste índice	D1	Indique a base científica e clínica, incluindo o uso pretendido e o papel clínico do teste índice, e, se aplicável, a justificativa para a acurácia do teste minimamente aceitável (ou diferença mínima na acurácia para o desenho comparativo).	
Objetivos	4	Forneça uma declaração explícita de questão(ões) sendo abordada em termos de participantes, teste(s) índice e condição(ões) de destino.	
MÉTODOS			
Protocolo e registro	5	Indique se existe um protocolo de revisão, se e onde ele pode ser acessado (por exemplo, endereço da Web) e, se disponível, forneça informações de registro, incluindo o número de registro.	
Critério de elegibilidade	6	Especificar características do estudo (participantes, cenário, teste(s) índice, padrão(ões) de referência, condição-alvo e desenho do estudo) e características do relatório (por exemplo, anos considerados, idioma, status da publicação) utilizados como critérios de elegibilidade, dando justificativa.	
Fontes de informação	7	Descrever todas as fontes de informação (por exemplo, bancos de dados com datas de cobertura, contato com autores do estudo para identificar estudos adicionais) na pesquisa e data da última pesquisa.	
Pesquisa	8	Apresentar estratégias de pesquisa completas para todas as bases de dados eletrônicas e outras fontes pesquisadas, incluindo quaisquer limites utilizados, de modo que possam ser repetidos.	
Seleção de estudo	9	Declare o processo de seleção de estudos (ou seja, triagem, elegibilidade, incluído na revisão sistemática e, se aplicável, incluído na metanálise).	
Processo de coleta de dados	10	Descreva o método de extração de dados dos relatórios (por exemplo, formulários piloto, independentemente, em duplicata) e quaisquer processos para obter e confirmar dados dos pesquisadores.	
Definições para extração de dados	11	Forneça definições usadas na extração de dados e classificações de condições-alvo, teste(s) índice, padrão(ões) de referência e outras características (por exemplo, desenho do estudo, cenário clínico).	
Risco de viés e aplicabilidade	12	Descrever os métodos utilizados para avaliar o risco de viés em estudos individuais e preocupações sobre a aplicabilidade à questão de revisão	
Medidas de precisão diagnóstica	13	Indicar a(s) principal(is) medida(s) de acurácia diagnóstica relatadas (por exemplo, sensibilidade, especificidade) e indicar a unidade de avaliação (por exemplo, paciente por paciente, por lesão).	
Síntese dos resultados	14	Descrever métodos de manipulação de dados, combinando resultados de estudos e descrevendo a variabilidade entre estudos. Isso pode incluir, mas não está limitado a: a) lidar com várias definições de condição de destino, b) manipulação de múltiplos limiares de positividade de teste, c) manipulação de múltiplos leitores de teste de índice, d) manipulação de resultados de testes indeterminados, e) agrupamento e comparação de testes, f) manipulação de diferentes padrões de referência	
Metanálise	D2	Relate os métodos estatísticos usados para metanálises, se realizados.	
Análises adicionais	16	Descrever métodos de análises adicionais (por exemplo, análises de sensibilidade ou subgrupos, meta-regressão), se feitas, indicando quais foram pré-especificadas.	
RESULTADOS			
Seleção de estudo	17	Forneça números de estudos selecionados, avaliados para elegibilidade, incluídos na revisão (e incluídos na metanálise, se aplicável) com motivos para exclusões em cada estágio, de preferência com um fluxograma.	
Características do estudo	18	Para cada estudo incluído, fornecer citações e apresentar as principais características, incluindo: a) características dos participantes (apresentação, teste anterior), b) cenário clínico, c) desenho do estudo, d) definição da condição alvo, e) teste índice, f) padrão de referência, g) tamanho da amostra, h) fontes de financiamento	
Risco de viés e aplicabilidade	19	Apresentar avaliação do risco de viés e preocupações quanto à aplicabilidade para cada estudo.	
Resultados de estudos individuais	20	Para cada análise em cada estudo (por exemplo, combinação única de teste índice, padrão de referência e limiar de positividade), relate dados 2x2 (TP, FP, FN, TN) com estimativas de precisão diagnóstica e intervalos de confiança, idealmente com um florest plot ou Característica de Operação do Receptor. (ROC).	
Síntese dos resultados	21	Descreva a precisão do teste, incluindo a variabilidade; Se a metanálise foi feita, inclua resultados e intervalos de confiança.	
Análises adicionais	23	Forneça resultados de análises adicionais, se feitas (por exemplo, análises de sensibilidade ou subgrupos, meta-regressão, análise do teste de índice: taxas de falha, proporção de resultados inconclusivos, eventos adversos).	
DISCUSSÃO			
Resumo das evidências	24	Resuma os principais resultados, incluindo a força da evidência.	
Limitações	25	Forneça uma interpretação geral dos resultados no contexto de outras evidências. Discutir as implicações para futuras pesquisas e práticas clínicas (por exemplo, o uso pretendido e o papel clínico do teste de índice).	
Conclusões	26	Forneça uma interpretação geral dos resultados no contexto de outras evidências. Discutir as implicações para futuras pesquisas e práticas clínicas (por exemplo, o uso pretendido e o papel clínico do teste índice).	
FINANCIAMENTO			
Financiamento	27	Para a revisão sistemática, descreva as fontes de financiamento e outros apoios e o papel dos financiadores.	

Fonte: (Adaptado de MCINNES et al., 2018).

ANEXO B – PROTOCOLO PROSPERO

PROSPERO
International prospective register of systematic reviews


National Institute for
Health Research

Systematic review of the accuracy of rapid tests employed in the diagnosis of dengue infection through the detection of NS1, IgM/IgG

Marlon Akio da Silva Issobe, Helena Pereira da Silva Zamith, Marisa Coelho Adati, Helena Cristina Baltazar Guedes Borges

Citation

Marlon Akio da Silva Issobe, Helena Pereira da Silva Zamith, Marisa Coelho Adati, Helena Cristina Baltazar Guedes Borges. Systematic review of the accuracy of rapid tests employed in the diagnosis of dengue infection through the detection of NS1, IgM/IgG. PROSPERO 2018 CRD42018086517 Available from:

http://www.crd.york.ac.uk/PROSPERO/display_record.php?ID=CRD42018086517

Review question

What is the diagnostic accuracy (sensitivity and specificity) of commercial kits of Rapid Immunochromatographic Tests used in the diagnosis of the infectious diseases by dengue virus (DENV) through the detection of non-structural protein 1 (NS1) and the specific antibodies of the dengue envelope (DENV E) protein, immunoglobulin M (IgM) and immunoglobulin G (IgG)?

- Does the sensitivity and specificity of the kits vary according to primary infection and secondary infection?
- Does the sensitivity and specificity of the kits vary depending upon the DENV serotype?

Searches

Two authors will independently carry out the electronic search of the articles in the following databases: PubMed/MEDLINE, Scopus, ISI Web of Science, LILACS and Cochrane Library.

There will be no restrictions in relation to the language or the country in which the studies were conducted. The articles selected were published between 2000 and the time of the electronic search.

If the complete document cannot be accessed online, the authors will be consulted by means of the contact details if available.

Additional references identified by searching manually reference lists of the selected articles may be included in the review.

Types of study to be included

Cross-sectional and cohort observational (prospective and retrospective) studies.

Condition or domain being studied

Currently, dengue stands out as one of the world's top neglected tropical diseases (GUZMÁN et al., 2016). It is an acute systemic infection caused by one of the four serotypes of DENV, antigenically distinct but closely related. The infection with a DENV serotype leads to homologous protective immunity, later the subsequent infection with a different serotype is an important risk factor for severe disease. Any DENV serotype causes a wide spectrum of clinical manifestations, ranging from asymptomatic or subclinical to symptomatic infections, with symptoms including fever, headache, arthralgia, myalgia, retro-orbital pain, skin rash, bleeding, thrombocytopenia or leukopenia, which can lead to death (WHO, 2009). It is transmitted to humans by mosquitoes of the genus *Aedes*, of which the main vector is *Aedes aegypti* (LAMBRECHTS et al., 2012).

Dengue has evolved from a sporadic disease to a major global public health problem with substantial social and economic effects - dengue epidemics impose high costs on individuals, on healthcare services, and on the economic systems of the affected countries - owing to the increased geographical extension, the increasing number of cases and the severity of the disease (GUZMÁN, HARRIS, 2015, GUZMÁN et al., 2016).

PROSPERO International prospective register of systematic reviews



It is the most important and the most common mosquito-borne viral disease that spreads most rapidly in the world; in the last 50 years its incidence has increased 30 times (WHO, 2009). Between 50 and 100 million infections are estimated to occur annually in at least 128 countries from the tropical and subtropical regions, putting almost half of the world's population in jeopardy (BRADY et al., 2012).

Up to this moment, there is no specific antiviral therapy for dengue; the treatment is restricted to supportive care and the main prevention method occurs through surveillance and vector control. Another recently available strategy for prevention depends on the dengue vaccine, with proven safety and efficiency for individuals aged 9–45 years. Early diagnosis and proper handling of dengue prevent fatalities, considering the occurrence of millions of cases and thousands of deaths yearly (GUZMÁN; KOURI, 2004; GUZMÁN et al., 2010; GUZMÁN et al., 2016). Therefore, accurate, efficient, inexpensive, sensitive and specific diagnosis tools are urgently needed to help control the disease (PEELING et al., 2010).

Participants/population

Inclusion criteria: studies using serum samples, plasma or whole blood (fresh or frozen) from patients with clinical suspicion of dengue infection. There are no restrictions on the country of study or even the age and sex of the patients.

Exclusion criteria: individuals without any suspicion of exposure to dengue infection; studies that used animal samples.

Intervention(s), exposure(s)

Inclusion criteria: This review will compare the sensitivity and specificity of different commercially available immunochromatographic assays, of which the outcome performance, reading, and interpretation will be carried out within 30 minutes based on the detection of NS1 protein and IgM and IgG antibodies, in relation to gold-standard or any other standard reference method as confirmation.

Exclusion criteria: assays that are not immunochromatographic or that, after the application of the sample, take more than 30 minutes to read and to interpret the results.

Comparator(s)/control

The gold-standard diagnostic method (viral isolation) or any other standard reference method will be used as confirmation for the detection of RNA, antigens and DENV antibodies by conventional polymerase chain reaction (PCR) or real time PCR and enzyme linked immunosorbent assay (ELISA).

Context

Main outcome(s)

Sensitivity, specificity of the diagnostic tests assessed.

Additional outcome(s)

None.

Data extraction (selection and coding)

Two authors will independently carry out the electronic search of the articles. In the first phase, the authors will analyze the titles and abstracts gathered during the research to identify the studies that qualify. If a summary potentially meets the necessary requirements, its full text will be collected. In the second phase, the same authors will independently evaluate the whole text of the selected studies, and decide whether it meets the requirements for inclusion and exclusion. The same two authors will independently go through with the extraction of the data from the selected studies and document them on a standard form. Consensus will be the key to any disagreement, whenever possible, or a third author may intervene if an agreement cannot be reached.

The relevant data will be extracted from each study and included in the review as follows: name of the main author; year of publication; country of origin of the study; type / design of the study; number of individuals; characteristics of the population (sex, age group); type of sample; information about the index test and the reference standard; type of infection (primary or secondary); data related to sensitivity and specificity: numbers of true-positive (TP), true-negative (TN), false-positive (FP) and false-negative (FN) samples.

PROSPERO International prospective register of systematic reviews



Risk of bias (quality) assessment

Both authors will independently carry through the analysis of the methodological quality of the studies that meet the inclusion requirements by using the Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies tool in its revised version - QUADAS-2 (WHITING et al., 2011), minimizing any inadvertently misleading information and selection. QUADAS-2 consists of four domains: patient selection, index tests, reference pattern, and time and flow. Each quality indicator will be answered with 'yes', 'no' or 'unclear', if the available information is insufficient. To each domain is assigned a certain level of misleading and concern risk about the applicability of the review questions, be them low, high or unclear. The outcomes will be summarized in tabular form and presented in proportional bar graphs.

Strategy for data synthesis

The original data of each study will be summarized in 2x2 contingency tables of TP, FN, TN and FP values to calculate sensitivities and specificities (DEEKS, 2001).

A narrative synthesis will summarize the available evidence, which will answer the proposed review questions.

The heterogeneity will be evaluated statistically using the I² analysis (HIGGINS et al., 2003). Cases in which the available studies do not show significant heterogeneity, pooled diagnostic estimates of sensitivity and specificity will be gathered and represented in a forest plot type chart, in which the corresponding data from each primary study are shown as mean values and 95% confidence intervals (DINNES et al., 2005). If possible, the data will be combined using the Hierarchical Summary Receiver Operating Characteristic (HSROC) curve model (PUCHNICK et al., 2012).

Analysis of subgroups or subsets

The analysis of subgroups or subsets will be performed to answer the secondary questions of review mentioned above.

Contact details for further information

Marlon Akio da Silva Issobe
marlon.akio@gmail.com

Organisational affiliation of the review

National Institute for Quality Control in Health (INCQS) - Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz)

Review team members and their organisational affiliations

Mr Marlon Akio da Silva Issobe. National Institute for Quality Control in Health (INCQS) - Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz)
Dr Helena Pereira da Silva Zamith. National Institute for Quality Control in Health (INCQS) - Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz)
Dr Marisa Coelho Adati. National Institute for Quality Control in Health (INCQS) - Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz)
Dr Helena Cristina Baltazar Guedes Borges. National Institute for Quality Control in Health (INCQS) - Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz)

Anticipated or actual start date

01 February 2018

Anticipated completion date

31 December 2018

Funding sources/sponsors

None specified.

Conflicts of interest

Language

(there is not an English language summary)

PROSPERO
International prospective register of systematic reviews



Country

Brazil

Stage of review

Review_Ongoing

Subject index terms status

Subject indexing assigned by CRD

Subject index terms

Dengue; Dengue Virus; Humans; Immunoglobulin G; Immunoglobulin M

Date of registration in PROSPERO

29 January 2018

Date of publication of this version

10 August 2018

Details of any existing review of the same topic by the same authors

Stage of review at time of this submission

Stage	Started	Completed
Preliminary searches	Yes	No
Piloting of the study selection process	Yes	No
Formal screening of search results against eligibility criteria	No	No
Data extraction	No	No
Risk of bias (quality) assessment	No	No
Data analysis	No	No

Versions

29 January 2018

14 June 2018

10 August 2018

PROSPERO

This information has been provided by the named contact for this review. CRD has accepted this information in good faith and registered the review in PROSPERO. CRD bears no responsibility or liability for the content of this registration record, any associated files or external websites.