



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ  
INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA EVANDRO CHAGAS  
DOUTORADO EM PESQUISA CLÍNICA EM DOENÇAS INFECCIOSAS

VERONICA ELIZABETH MATA

**COMPARAÇÃO DA ACURÁCIA DIAGNÓSTICA DE TESTES DIAGNÓSTICOS  
COMERCIAIS IMUNOCROMATOGRÁFICOS COM NS1 PARA DETECÇÃO DE  
DENGUE**

**Rio de Janeiro**

**2017**

COMPARAÇÃO DA ACURÁCIA DIAGNÓSTICA DE TESTES DIAGNÓSTICOS  
COMERCIAIS IMUNOCROMATOGRÁFICOS COM NS1 PARA DETECÇÃO DE  
DENGUE

VERONICA ELIZABETH MATA

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas para obtenção do grau de Doutor em Ciências, sob a orientação da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sonia Regina Lambert Passos e do Prof. Dr. Carlos Augusto Ferreira de Andrade.

**Rio de Janeiro**

**2017**

VERONICA ELIZABETH MATA

COMPARAÇÃO DA ACURÁCIA DIAGNÓSTICA DE TESTES DIAGNÓSTICOS  
COMERCIAIS IMUNOCROMATOGRÁFICOS COM NS1 PARA DETECÇÃO DE  
DENGUE

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação  
em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas  
do Instituto Nacional de Infectologia Evandro  
Chagas para obtenção do grau de Doutor em  
Ciências.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Sonia Regina Lambert Passos.

Co-orientador: Prof. Dr. Carlos Augusto Ferreira de Andrade.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Dr.<sup>a</sup> Maria Angélica Borges dos Santos (Presidente/Revisora)

---

Dr.<sup>a</sup> Marisa Santos Silva

---

Dr.<sup>a</sup> Rosangela Caetano

---

Dr.<sup>a</sup> Paula Mendes Luz

---

Dr. Fernando Augusto Bozza

---

Dr. Alexandre Gomes Vizzoni (Suplente)

Dedico este trabalho a meu companheiro e melhor amigo Eduardo

## AGRADECIMENTOS

A Deus por não me deixar perder a fé e a esperança, me ensinando a ser perseverante e manter a calma ainda nas horas mais difíceis.

À Professora Sonia Regina Lambert Passos, por ter me dado a honra de trabalhar ao seu lado. Obrigada pelos ensinamentos, competência, incentivo, dedicação durante esta caminhada. Sua contribuição na minha vida profissional e acadêmica foi imensurável.

Ao Professor Carlos Augusto Ferreira de Andrade por ter me dado a graça da sua orientação. Obrigada pelos ensinamentos, paciência e incentivo.

Às Professoras Yara Hahr Marques Hökerberg, Maria Angelica Borges dos Santos e Raquel de Vasconcellos Carvalhaes de Oliveira pelos ensinamentos e o carinho em todas os momentos.

Ao meu querido aluno Guilherme Miguéis Berardinelli por me dar a honra de aprendemos juntos durante a elaboração desta tese. Por seu apoio, a sua humildade, seu carinho e incentivo nas horas mais difíceis. Esta vitória também é sua!

A Letícia Borges, Indiara Firmino, Levy Vilas Boas Fukuoka, Rogério Ferrari, Ana Victória Palagini Viganó, Anna Carolina Fontoura Seixas Rangel Maciel e Betina Moreira, obrigada pelo apoio, o incentivo, a ajuda desmedida. Sem vocês este trabalho não seria possível.

As minhas colegas Sibelle Nogueira Buonora, Erika Cardoso e Maria Cristina de Camargo Fonseca pelo apoio, carinho, amizade e por me ensinarem a não desistir jamais.

À Enfermeira Ana Paula Moraes pelo carinho com que me acolheu no hospital durante o desenvolvimento da pesquisa.

Aos Laboratórios de Flavivírus do Instituto Oswaldo Cruz e do Instituto Nacional de Infectologia por tornar possível essa pesquisa.

Ao meu amigo e amado companheiro que entendeu com sabedoria as minhas ausências, minhas preocupações e medos, me incentivando e respeitando sempre. Sem dúvidas você foi fundamental esta conquista também é tua.

A minha amada filha pela paciência, pela compreensão, pelo amor desmedido, por ser minha fonte de inspiração e coragem. Te amo desde o fundo da alma.

A minha querida sogra pela preocupação, incentivo, apoio e força mesmo nas horas mais difíceis. Obrigada pela sua presença, seu cuidado, seu carinho e por me deixar formar parte da sua vida e da sua/nossa família.

Aos meus amados pais pelo amor eterno e infinito, que tem me ensinado a lutar pelos meus sonhos sempre.

Aos meus queridos avós, pois embora estejamos possamos estar em lugares diferentes sei que o coração de vocês sempre bate com o meu a cada conquista.

Ao meu querido tio que nestes últimos anos tem me mostrado o quanto somos capazes de amar ao próximo, sua presença, suas palavras, seu apoio foi muito importante neste processo.

MATA, VE. **Comparação da acurácia diagnóstica de testes diagnósticos comerciais imunocromatográficos com NS1 para detecção de dengue.** Rio de Janeiro, 2017. 154f. Tese [Doutorado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas] – Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz.

## RESUMO

O vírus da dengue é em um flavivírus com quatro sorotipos: DENV-1, 2, 3 e 4. O Brasil tem o maior número de casos no mundo, onde a classificação epidemiológica é baseada na evolução e presença de sinais clínicos e exames laboratoriais, segundo os critérios da OMS. O teste imunocromatográfico (TRI) para detecção da proteína não estrutural 1 (NS1) é apontado como um método laboratorial simples e útil na identificação da infecção pelo dengue na fase precoce. Todavia, há muita discrepância nos estudos que avaliam o desempenho destes. **Objetivos:** Analisar a acurácia e confiabilidade, e avaliar o custo-efetividade dos TRI NS1 para o diagnóstico do dengue das marcas Bioeasy<sup>®</sup>, BioRad<sup>®</sup>, Bioclin<sup>®</sup> e Orangelige<sup>®</sup>, e analisar a literatura sobre TRI. **Método:** Estudos seccionais, para analisar a acurácia diagnóstica e confiabilidade inter e intra-observador em DENV-1 e 4, e avaliar utilizando sangue total e soro sanguíneo de adultos atendidos em uma unidade de pronto atendimento e um hospital de emergência. Revisão sistemática com meta-análise de TRI, com padrão de referência PCR, ELISA ou isolamento viral. Avaliação de custo-efetividade para comparar quatro TRI durante cenário epidêmico de DENV-1 na perspectiva do Sistema Único de Saúde (SUS) acrescida ou não da perspectiva do indivíduo. **Resultados:** A revisão sistemática incluiu 34 artigos evidenciando sensibilidade (Sn) e especificidade (Sp) combinadas de 75% (IC95% 67 – 82) e 97% (IC95% 95 – 99), respectivamente. Na fase aguda da doença os TRI NS1 apontaram melhor desempenho combinado com Sn=73,2% (IC95% 66,2 – 79,2), Sp=98,8% (IC95% 97,1 – 99,5). Os dois estudos de acurácia confirmam estes achados nos sorotipos 1 e 4, com altas Sp (89,7% - 95,9%) e Sn variando de 14,7% a 45,4% em cenário de DENV-4 e de 40% a 91,2%, em cenário de DENV-1. O desempenho do TRI com sangue total, foi menor (Sn= 76,7% e Sp= 87%) que aquele com soro sanguíneo (Sn= 82,2% e Sp= 100%). A confiabilidade inter e intra-observador evidenciou concordância quase-perfeita, confirmando que profissionais minimamente treinados podem realizar estes testes. Por último, o TRI BioRad<sup>®</sup> foi custo-efetivo durante a epidemia de DENV-1 tanto na perspectiva da do SUS + indivíduo quanto do SUS, com uma razão incremental de R\$ 304,20 e R\$ 83,92 por dia perdido por incapacidade, respectivamente. **Conclusão:** Recomendamos a realização de TRI NS1 BioRad<sup>®</sup> com soro no laboratório em locais com mínima infra-estrutura laboratorial. Em locais remotos, recomendamos triagem com os critérios da OMS seguidos do TRI Bioeasy<sup>®</sup> realizado com sangue total à beira do leito, com leitura aos 15' e releitura apenas dos resultados inválidos em 30 minutos.

**Palavras-chave:** 1.Dengue, 2.Diagnóstico; 3.Revisão Sistemática; 4.Pesquisa Clínica; 5.Custo e análise de custo; 6.Confiabilidade e validade.

MATA, VE. **Comparação da acurácia diagnóstica de testes diagnósticos comerciais imunocromatográficos com NS1 para detecção de dengue.** Rio de Janeiro, 2017. 154f. Tese [Doutorado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas] – Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz.

## ABSTRACT

Dengue virus is a flavivirus with four serotypes: DENV-1, 2, 3 and 4. Brazil has the highest number of cases in the world, where the epidemiological classification is based on the evolution and presence of clinical signs and laboratory tests, according to criteria defined by WHO. The immunochromatographic test (ICT) for the detection of non-structural protein 1 (NS1) is indicated as a simple and useful laboratory method for early stage dengue infection identification. However, there is much discrepancy in studies that evaluate the performance of these tests. **Objectives:** Analyze the accuracy, reliability, and evaluate the cost-effectiveness of ICT NS1 for dengue diagnosis of dengue Bioeasy®, Biorad®, Bioclin® and Orangelige®, and to analyze the literature on ICT. **Methods:** Sectional studies were conducted to analyze the diagnostic accuracy and inter and intraobserver reliability in DENV-1 and 4, and to evaluate the use of whole blood and blood serum from patients in an emergency care unit and an emergency hospital. Systematic review and meta-analysis of ICT against reference standard PCR, ELISA or viral isolation. Cost-effectiveness analyses to compare four ICTs during a scenario of DENV-1 epidemic, taking into account the the Unified Health System's (SUS) whether or not added to the individual's perspective. **Results:** The systematic review included 34 articles showing a combined sensitivity (Sn) and specificity (Sp) of 75% (95% CI: 67-82) and 97% (95% CI: 95 - 99), respectively. In the acute phase of the disease the NS1 ICT showed better performance with Sn = 73.2% (95% CI: 66.2 - 79.2) and Sp = 98.8% (95% CI: 97.1 - 99.5). The two accuracy studies confirm these findings in serotypes 1 and 4, with high Sp (89.7% - 95.9%) and Sn ranging from 14.7% to 45.4% in the DENV-4 and 40 % to 91.2% in the DENV-1 scenario. The performance of ICR with whole blood was lower (Sn = 76.7% and Sp = 87%) when compared with blood serum (Sn = 82.2% and Sp = 100%). The inter and intraobserver reliability showed near-perfect agreement, confirming that minimally trained professionals can perform these tests. Lastly, the BioRad® ICT was cost-effective during the DENV-1 epidemic from both the individual + SUS and SUS perspectives, with an incremental ratio of R\$ 304.20 and R\$ 83.92 per day lost due to disability, respectively. **Conclusion:** We recommend the use of BioRad® NS1 ICT with serum in the laboratory in locations with minimal laboratory infrastructure. At remote sites, we recommend screening, using WHO criteria, followed by Bioeasy® ICT with full blood at the bedside, with a reading at 15' and only re-reading the results that were invalid within 30 minutes.

**Keywords:** 1.Dengue, 2.Diagnosis; 3.Systematic Review; 4.Clinical Research; 5.Costs and cost analysis; 6.Reliability and validity.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

**Figura 1** - Realização dos testes imunocromatográficos mais comuns e sua interpretação 15

## SUMARIO

1	INTRODUÇÃO .....	10
1.1	Epidemiologia Do Dengue.....	10
1.2	Diagnóstico clínico do dengue.....	11
1.3	Diagnóstico laboratorial do dengue .....	12
1.3.1	Testes Imunocromatográficos para Dengue .....	14
1.4	Avaliação de tecnologias em saúde .....	16
2	JUSTIFICATIVA.....	19
3	OBJETIVOS.....	21
3.1	Objetivo Geral.....	21
3.2	Objetivos Específicos .....	21
4	MÉTODO.....	22
4.1	Estudo 1 - Acurácia e confiabilidade diagnóstica de quatro testes rápidos imunocromatográficos em dengue 4.....	22
4.2	ESTUDO 2 - Accuracy and reliability of an NS1 rapid immunochromatographic test for DENV-1 diagnosis at point of care and in the laboratory.....	40
4.3	ESTUDO 3 - Revisão sistemática de testes rápidos imunocromatográficos para o diagnóstico precoce da dengue. ....	48
4.4	ESTUDO 4 - Custo-efetividade do diagnóstico do dengue em um município do Rio de Janeiro. ....	89
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	135
6	CONCLUSÕES.....	139
	REFERÊNCIAS .....	140

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Epidemiologia Do Dengue

O dengue é uma doença viral aguda transmitida por mosquitos *Aedes*, principalmente o *A. aegypti*. O vírus da dengue consiste em um flavivírus carregado por artrópodes que compreende quatro sorotipos distintos: DENV-1, 2, 3 e 4. Infecções por um destes sorotipos induzem imunidade ao longo da vida contra o mesmo sorotipo, mas apenas proteção parcial e transiente contra infecções causadas pelos outros sorotipos (PEELING et al, 2010).

Trata-se de um vírus presente em mais de 100 países: na região do pacífico da Ásia, Américas, Oriente Médio e África. Embora a carga da doença tenha decrescido no Sudeste da Ásia e nas regiões do Pacífico Ocidental, aumentou drasticamente nas Américas durante a última década, o que o tornou um sério problema de Saúde Pública em muitos destes países devido à sua morbidade (SAN MARTÍN et al, 2010; COSTA et al, 2014; ZHANG et al, 2014).

Anualmente, este vírus coloca em risco cerca de três bilhões de pessoas (40% da população mundial) em regiões tropicais e subtropicais, com 50 a cem mil infecções a cada ano (COSTA et al, 2014; ZHANG et al, 2014; WHO, 2015). Dentre estes pacientes, aproximadamente 500.000 evoluem para as formas graves da doença e, cerca de 2,5% destes morrem a cada ano (WHO, 2015).

Na região das Américas, onde 500 milhões de pessoas vivem sob o risco de infecção, o vírus tem disseminado-se ocasionando surtos cíclicos a cada três ou cinco anos. Nesta mesma região, a incidência média do dengue, aumentou de 16,4 por 100 mil habitantes na década de 1980 para 218,3 por 100 mil habitantes entre os anos 2000 e 2010 (TEIXEIRA et al, 2013).

O Brasil apresenta 80% dos casos de dengue do Hemisfério Ocidental. Consiste no país com o maior número de casos de dengue no mundo, com mais de três milhões no período de 2000 a 2004 (TEIXEIRA et al, 2009), onde atualmente circulam todos os quatro sorotipos virais (BRASIL, 2010; BRASIL, 2010; TEIXEIRA et al, 2008; SCHATZMAYR et al, 1986; NOGUEIRA et al, 2011). O primeiro sorotipo (DENV-1)

foi detectado em 1986 (SCHATZMAYR et al, 1986) e, mais recentemente, foi detectado o DENV-4 (NOGUEIRA et al, 2011).

A doença foi descrita pela primeira vez no Estado do Rio de Janeiro (RJ) em 1986, (HALSTEAD, 2008; SIERRA et al, 2007). Entre 2001 e 2002, ocorreu uma grave epidemia (HALSTEAD, 2008), devido principalmente ao sorotipo DENV-3, sendo então associado às formas graves da doença com 1.735 casos a cada 100.000 habitantes no Estado do Rio de Janeiro e óbitos com letalidade de 3,15/10.000 habitantes (SIERRA et al, 2007).

Em 2007-2008 houve outra epidemia, mais grave em crianças (ABE et al, 2012, GIBSON et al, 2013), associada ao sorotipo DENV-2, com índice de letalidade de 9,4/10.000 habitantes. Finalmente, em 2010 (NOGUEIRA & EPPINGHAUS, 2011) houve a introdução do DENV-4 no Rio de Janeiro.

No ano de 2012 no qual predominou o sorotipo 4, 181.257 casos foram notificados no RJ, dos quais 34% foram dengue clássico, 800 com complicação (DCC), 164 com febre hemorrágica do dengue (FHD) e 15 com síndrome do choque do dengue (SCD) (BRASIL, 2012).

Embora no primeiro bimestre de 2014 tenha ocorrido uma redução superior a 80% no número de casos no país, quando comparado a 2013, o Brasil registrou 50,16% dos casos da América e Caribe, tornando esta doença uma prioridade na saúde pública do país (MASSAD et al, 2014; OPAS, 2015).

## **1.2 Diagnóstico clínico do dengue**

As infecções causadas pelo vírus da dengue apresentam um amplo espectro de doença e variam em gravidade desde casos assintomáticos até casos graves que ocasionam a morte dos pacientes (BLACKSELL et al, 2006). Dentre os casos sintomáticos, a apresentação clínica pode ser manifestada por quadros mais brandos de febre do dengue (FD), bem como mais graves de febre hemorrágica do dengue (FHD) / síndrome do choque do dengue (SCD) (NOGUEIRA & EPPINGHAUS, 2011).

A grande maioria das infecções ocorre de forma assintomática ou acarreta sintomas leves, caracterizados por febre com ou sem alterações cutâneas (*rash*). Assim, pode-se verificar que a infecção causada pelo vírus da dengue apresenta semelhança clínica com várias outras doenças febris agudas como malária, tifo, rickettsioses, zika,

chikungunya e leptospirose. Consequentemente, devemos destacar o importante papel que as sorologias desempenham no diagnóstico e no manejo da dengue (KANTOR, 2016).

A classificação epidemiológica dos casos de dengue no Brasil é realizada, desde 2002, retrospectivamente após o desfecho do caso e baseia-se na evolução e presença de sinais clínicos e exames laboratoriais segundo os critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS) (WHO, 2009). Estes critérios apresentam baixa especificidade e não permitem reconhecer precocemente as formas potencialmente graves para as quais é crucial a instituição de tratamento imediato (LOW et al, 2011). Assim, a letalidade permanece elevada e o diagnóstico de dengue nos primeiros dias de doença ainda representa um desafio.

A identificação precoce dos casos de dengue é importante para a tomada de decisões e implantação de medidas de maneira oportuna, visando evitar óbitos e reduzir os custos com tratamentos inadequados.

A falta de preditores prognósticos adequados durante a primeira avaliação do indivíduo com dengue usando os critérios da OMS, sorologia e *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) constitui um problema a ser enfrentado, devido à baixa especificidade dos critérios e a demora do diagnóstico laboratorial (LOW et al, 2011).

Como o diagnóstico baseado exclusivamente em sintomas clínicos tem se mostrado falho, a confirmação laboratorial precoce torna-se fundamental, uma vez que alguns doentes podem progredir das apresentações brandas às graves em um curto intervalo de tempo (HANG et al, 2009).

### **1.3 Diagnóstico laboratorial do dengue**

Os principais exames laboratoriais para o diagnóstico da infecção por dengue são a pesquisa da proteína não estrutural 1 (NS1), a cultura viral, a pesquisa do ácido ribonucleico (RNA) viral e as sorologias pareadas IgM/IgG. O padrão de referência geralmente é o RT-PCR, a cultura viral ou uma combinação destes métodos. São métodos que demandam tempo, infraestrutura, qualificação profissional, além do alto custo para realização rotineira, como numa epidemia, por exemplo (GUZMAN & ISTURIZ, 2010; BLACKSELL et al, 2008).

Métodos rápidos para a detecção de NS1 baseados em ensaio imunocromatográfico representam um avanço potencial para a confirmação laboratorial dos casos em estágio inicial em locais sem infraestrutura de laboratório (DIETZ et al, 1990). Métodos análogos para detecção simultânea de IgM e IgG elaborados para detectar dengue primária e secundária também são promissores para o diagnóstico laboratorial em áreas endêmicas, porém ainda precisam ser aperfeiçoados para melhorar sua sensibilidade (LIMA et al, 2010).

Avaliações do teste Platelia dengue NS1 Ag (Bio-Rad®) reportaram sensibilidades variando de 37,0% a 93,4%. A especificidade, entretanto, variou de 86,1% a 100% e os falsos positivos foram raros (OSORIO et al, 2010, PHUONG et al, 2009). A heterogeneidade nos resultados foi provavelmente devida a variações na duração da febre no momento da coleta e nas proporções de infecções primárias e secundárias. Em todos os estudos que realizaram estas comparações, a sensibilidade foi maior nos primeiros três dias de febre e nas infecções primárias do que nas secundárias. (LIMA et al, 2010).

Osório (OSORIO et al, 2010) comparou o desempenho de cinco testes disponíveis no mercado para o diagnóstico precoce do dengue e concluiu que a adição da pesquisa de anticorpos IgM e IgG no estudo melhorou a sensibilidade do teste de 63% para 79%, sem diminuir a especificidade. Resultados semelhantes foram encontrados por Blacksell (BLACKSELL et al, 2008).

Chua (CHUA et al, 2011) comparando o teste de *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) NS1 por captura antigênica, isolamento viral, RT-PCR convencional e Real Time-PCR para a confirmação laboratorial de dengue aguda, encontrou sensibilidades de 91,6%, 40,5%, 48,4% e 58,9%, respectivamente.

Recentemente foi lançado no mercado o teste rápido para dengue (Bioeasy®) que utiliza a imunocromatografia para detectar a proteína não estrutural 1 (NS1) no soro humano e os imunocomplexos IgG e IgM, técnica facilmente interpretável e que requer de mínima infraestrutura para a sua realização. O estudo de Fry et al (2011) revelou que, quando usadas individualmente, a pesquisa da NS1 e as sorologias IgM/IgG apresentaram sensibilidades de 62% e 72,5%, respectivamente. No entanto, quando usadas em combinação, a sensibilidade aumentou para 93%. Estes testes apresentam janelas de detecção complementares com melhora do perfil de sensibilidade a partir do segundo dia de doença (BLACKSELL et al, 2012).

Esta discrepância nos resultados ficam mais evidentes quando relatos de Hang et al (2009) e Chau et al (2010) denotam que a concentração de NS1 no soro pode ser mais baixa quando houver infecções por DENV-1 e DENV-3 ou que essas concentrações são dependentes do status imunológico do doente como, por exemplo, nas situações de dengue secundária, quando há resposta imunológica ao NS1 plasmático, originando imunocomplexos e dificultando a detecção do NS1 no teste imunocromatográfico (HANG et al, 2009).

Os fatos expostos acima mostram que existe necessidade de testes diagnósticos acurados para dengue, de baixo custo e alta efetividade, que possam ser empregados para o manejo clínico da doença, vigilância epidemiológica, investigação de surtos e ensaios de vacinas que permitam uma intervenção precoce e prevenção ou controle de epidemias (PEELING et al, 2010).

As características de um teste ideal para o diagnóstico de infecções por dengue dependerão do objetivo para o qual o teste será realizado, seja triagem de casos sintomáticos ou confirmação diagnóstica em períodos epidêmicos ou não epidêmicos. A janela ótima para diagnóstico da infecção pelo vírus da dengue consiste em um período do início da febre até dez dias após o início do quadro. Assim, um teste diagnóstico ideal deveria ser altamente sensível, assim como específico em relação a outras doenças febris agudas, rapidez dos resultados, facilidade de utilização e estabilidade a temperaturas superiores a 30° C (PAI et al, 2012).

### 1.3.1 Testes Imunocromatográficos para Dengue

A técnica imunocromatográfica utiliza uma matriz de membrana de nitrocelulose ligada a uma tira de acetato transparente. Quando se destina à identificação de antígenos, utiliza-se um anticorpo de captura na matriz e um anticorpo marcado específico ao antígeno pesquisado; já quando se deseja detectar anticorpos, é ligada a matriz um antígeno específico e um anticorpo anti-imunoglobulina marcado ao anticorpo (LIMA, 2014; WANG & SEKARAN, 2010).

Os testes imunocromatográficos valem-se desta técnica e de um corante insolúvel, ouro coloidal (róseo) ou prata coloidal (azul marinho) para revelar a interação antígeno-anticorpo (LIMA, 2014; WANG & SEKARAN, 2010).

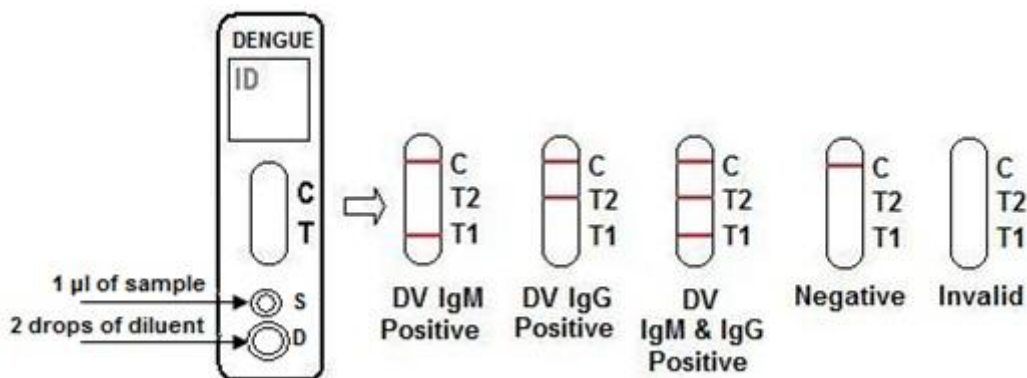
Atualmente testes imunocromatográficos são utilizados para a detecção de muitas doenças infecciosas: dengue, malária, leishmaniose visceral, hepatite B, infecção por *Human Immunodeficiency Virus* (HIV), entre outras.

Para o diagnóstico precoce de dengue, existem no mercado testes imunocromatográficos para detecção de NS1, sorológicos IgM/IgG ou Duo que pesquisam NS1, IgG e IgM. A seguir descreveremos brevemente cada uma destas técnicas.

- A) O teste NS1 é um ensaio de um único passo, *in vitro*, capaz de identificar a presença do antígeno NS1 em soro humano, plasma ou sangue total, na fase inicial da doença. O teste é formado por uma membrana ou fita marcada com um antígeno anti-dengue NS1. Desta forma, o anti-dengue NS1 e a amostra de soro, plasma ou sangue total deslizam pela fita até a linha teste (T) a qual se torna visível ao olho nu quando se forma o complexo antígeno-anticorpo.
- B) O teste IgM/IgG é um ensaio de base sólida para detectar qualitativa e diferencialmente os anticorpos IgM ou IgG para o vírus do dengue em soro humano, plasma ou sangue total.

Os testes acima não requerem infraestrutura nem profissionais treinados para a sua realização, além de serem de baixo custo e de fácil interpretação. O seu resultado é negativo quando aparece apenas a linha controle (C), é positivo quando podem-se visualizar as linhas C e T e o resultado é inválido quando a linha C ou as linhas C e T estão ausentes (figura 1) (BIOEASY, 2008).

**Figura 1- Realização dos testes imunocromatográficos mais comuns e sua interpretação.**





## **1.4 Avaliação de tecnologias em saúde**

A industrialização permitiu que a ciência e as tecnologias se desenvolvessem nas últimas décadas como nunca antes. Este fato trouxe muitos benefícios para a saúde como o aumento da expectativa de vida, a redução da mortalidade infantil, o controle e erradicação de doenças (OECD, 2005).

Esta mudança no perfil da população significou também o incremento da demanda dos serviços de saúde, a necessidade de incorporação de novas tecnologias mais complexas para diagnosticar inúmeras doenças, assim como profissionais qualificados, maior infraestrutura, impactando diretamente nos gastos em saúde (OECD, 2005).

No Brasil, mais de 50% da população dependente exclusivamente do sistema público de saúde o Sistema Único de Saúde (SUS). Apesar deste sistema ser reconhecido internacionalmente, o mesmo necessita gestão eficiente para sustentar os seus princípios (universalidade, equidade e integralidade).

O aumento constante da demanda dos serviços de saúde, do surgimento de tecnologias e a limitação dos recursos financeiros, exigem uma reavaliação da gestão destes para que sejam alocados da melhor maneira, garantindo a universalidade, a equidade e a integralidade do acesso ao maior número de pessoas (BRASIL, 2012).

A Medicina Baseada em Evidência tem se mostrado uma ferramenta eficaz para fornecer evidências clínico-epidemiológicas ao gestor na hora de conhecer os benefícios em saúde de uma nova tecnologia. Todavia, esta é apenas uma parte do processo decisório, pois a sua escolha pode significar a substituição de tecnologias ou no pior dos casos a restrição de recursos para outra já disponível (BRASIL, 2008).

A Avaliação de Tecnologias em Saúde (ATS), procura servir de ponte entre a evidência científica e a tomada de decisão. Segue uma metodologia que considera a eficácia de tecnologias, além de avaliar as implicações mais amplas, como a social, jurídica e até os custos para elaborar recomendações (SÃO PAULO, 2012; OECD, 2005).

Para integrar estes saberes (eficácia, eficiência e custos) surge a Avaliação Econômica em Saúde (AES), a qual visa realizar uma análise comparativa de duas ou mais alternativas em saúde que competem entre si em termos de custos e resultados,

permitindo a identificação e avaliação das vantagens de novas tecnologias e decidir se o valor atribuído às mesmas justifica o investimento (NITA et al, 2010).

Constituem estudos de avaliação econômica em saúde: avaliação econômica de custo-minimização; custo-efetividade; custo-benefício e custo-utilidade (NITA et al, 2010).

A avaliação de custo-minimização compara os custos entre alternativas cujos desfechos são idênticos, buscando escolher a alternativa de menor custo expresso este, em unidade monetária. A avaliação e custo-efetividade avalia a relação entre os custos e os desfechos de duas ou mais alternativas em saúde, cujo resultado é expresso em unidades monetárias por unidades naturais, não monetárias. A avaliação de custo-benefício identifica os custos e avalia os benefícios associados a diferentes alternativas, ambos expressos em unidades monetárias.

Por último, a avaliação de custo-utilidade é um tipo de custo-efetividade na qual os efeitos de uma intervenção são avaliados através de medidas de qualidade de vida relacionada à saúde, como expectativa de vida e anos de sobrevida. A utilidade é uma medida quantitativa que avalia a preferência do paciente para uma determinada condição de saúde. Geralmente, neste tipo de estudos a unidade de desfecho clínico é a expectativa de vida ajustada para qualidade ou anos de vida ajustados pela qualidade (AVAQ ou QALY) (BRASIL, 2008).

No Brasil, os estudos que utilizam esta metodologia têm aumentado nos últimos anos se mostrando uma ferramenta útil para a otimização dos recursos. Entretanto, as avaliações parciais nas quais são avaliados apenas o custo da incorporação de uma tecnologia são mais frequentes, e nas quais não é possível identificar os benefícios da sua incorporação (BRASIL, 2006).

No âmbito do dengue são encontrados estudos de custos parciais, os quais mostram o impacto econômico da doença no mundo sem comparar estratégias, testes diagnósticos e/ou considerar os desfechos dessas ações (SUAYA, 2009; SANTOS, 2013). Particularmente no Brasil, são encontradas avaliações econômicas que versam principalmente sobre estratégias para o controle de vetores ou vacinas (LUZ et al, 2011).

Atualmente, tem se discutido muito sobre a importância do diagnóstico precoce do dengue, em particular sobre os testes rápidos imunocromatográficos, pois poderiam auxiliar na identificação precoce dos casos e evitar óbitos através da instauração do

tratamento a tempo de evitar complicações. Entretanto, nada se fala com relação aos custos da sua implementação e como estes resultados impactariam no custo final da doença a cada diagnóstico confirmado.

Este tipo de avaliação, além de fornecer informações sobre os custos do tratamento do dengue, daria maiores subsídios aos tomadores de decisão quanto à incorporação ou não de testes rápidos para dengue e seu impacto nos custos da doença.

## 2 JUSTIFICATIVA

A vigilância ativa do dengue a partir de um sistema de informação de saúde bem estruturado é uma das estratégias prioritárias para o seu controle (HONORIO et al, 2009). No momento esta estratégia apresenta sensibilidade alta e especificidade baixa (SINGH et al, 2010; McBRIDE, 2009; RAMIREZ et al, 2009).

Embora tenham surgido nos últimos tempos métodos rápidos de diagnóstico laboratorial (SINGH et al, 2010; ZAINAH et al, 2009; SHU et al, 2009) avaliados principalmente em cenários de epidemia com os vírus DENV-1, 2 e 3, ainda não são amplamente utilizados, seja pelo seu custo, necessidade de infraestrutura ou profissionais treinados, motivo pelo qual a maioria dos diagnósticos em áreas endêmicas estão baseados em critérios clínico-epidemiológicos inespecíficos.

A dramática elevação da carga global de dengue estimulou o aumento do interesse dos setores público e privado no desenvolvimento do aprimoramento dos métodos de diagnóstico da doença. O desenvolvimento dos testes rápidos imunocromatográficos (TRI) representou um avanço importante, pois fornece um mecanismo para testagem sorológica simples e rápida à beira do leito (PRICE, 2001).

Diversos estudos compararam TRI de dengue com testes de referência, porém sua acurácia diagnóstica não foi comparada de uma maneira confiável, principalmente devido à multiplicidade de metodologias de avaliação utilizadas (PCR, ELISA, isolamento viral, hemaglutinação, entre outros) (BLACKSELL et al, 2006). Geralmente há muita discrepância entre o que os fabricantes dizem a respeito do desempenho dos testes e no que é relatado nos ensaios publicados em revistas avaliadas por pares.

As indústrias com interesse nas doenças que afetam países em desenvolvimento como é o caso do dengue, tendem a ser pequenas e com poucos recursos, com ausência ou limitação de acesso aos reagentes e cepas necessários para pesquisa e desenvolvimento dos melhores produtos. Além disto, em muitos países em desenvolvimento, os testes diagnósticos tendem a não ser submetidos a regulações rigorosas. Conseqüentemente, os testes comerciais são geralmente vendidos e utilizados sem evidências de sua efetividade (PEELING et al, 2010).

Considerando que a incidência da dengue está crescendo nas Américas (1.093.252 de casos relatados em 2011) e que o Brasil foi responsável por uma

quantidade substancial destes casos (764.032), podemos afirmar que o dengue é um problema de Saúde Pública prioritário no Brasil, drenando uma enorme quantidade de recursos que apenas permitem o controle temporário e limitado de focos. Dado que a erradicação do vetor parece um alvo inacessível e que, até agora, há uma única vacina (“Dengvaxia”, da empresa francesa Sanofi Pasteur) aprovada pela ANVISA e que não existem terapias específicas para dengue; o manejo do paciente depende de um diagnóstico precoce e bons cuidados de suporte (OPAS, 2011).

Tradicionalmente, o diagnóstico do dengue é realizado por métodos de isolamento de cultura de células e RT-PCR, que são trabalhosos, demorados, caros e inadequados para o manejo clínico da infecção por dengue durante surtos.

Os testes laboratoriais são essenciais para fornecer um diagnóstico preciso da infecção aguda desencadeada por este vírus, no momento da apresentação de pacientes em ambientes clínicos e de epidemia, de modo que o tratamento apropriado possa ser instituído (BLACKSELL, 2012).

Este projeto se insere na linha de Avaliação de Tecnologias em Saúde do Laboratório de Epidemiologia Clínica, vinculado desde 2004 ao Programa de Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI) e dá prosseguimento às investigações anteriores (DAUMAS et al, 2011; BUONORA et al, 2016) sobre acurácia diagnóstica de critérios clínicos e laboratoriais através de dois projetos aprovados e com recursos da Rede Brasileira de Avaliação de Tecnologias em Saúde (REBRATS), com 420 pacientes incluídos dos quais 150 com diagnóstico confirmado de dengue tipo 4 e 120 dengue tipo 1.

Considerando a importância diagnóstica destes testes e escassez de estudos sobre avaliação econômica no âmbito da dengue no Brasil, se faz necessário desenvolver pesquisas que tenham por objetivo conhecer o custo e desempenho dos testes em dengue. Deste modo, acreditamos que o presente estudo seja de grande valia para a gestão adequada dos recursos financeiros disponíveis para aprimorar o diagnóstico desta importante doença.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Analisar acurácia, confiabilidade e custo-efetividade de testes rápidos imunocromatográficos para o diagnóstico do dengue.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Comparar a acurácia diagnóstica e confiabilidade inter-observador de testes rápidos NS1 com o padrão de referência RT-PCR para dengue 4 em pacientes atendidos em Unidade de Pronto Atendimento (UPA).
- Avaliar a acurácia e comparar a confiabilidade inter-observador de testes rápidos e segundo tipo de amostra (fresca ou congelada).
- Rever a literatura sobre acurácia de testes rápidos imunocromatográficos para diagnóstico de dengue comparando-os com o PCR e ELISA.
- Analisar o custo-efetividade do diagnóstico do dengue utilizando quatro testes rápidos imunocromatográficos.

## 4 MÉTODO

Este projeto está estruturado em formato de quatro manuscritos, segundo cada objetivo específico, contendo assim as seções de método e resultados em cada um deles.

### 4.1 Estudo 1 - Acurácia e confiabilidade diagnóstica de quatro testes rápidos imunocromatográficos em dengue 4.

**Situação:** Formatação do manuscrito para submissão.

**Revista pretendida para a submissão:** *PloOne* (Qualis: B1).

**Verónica Elizabeth Mata** Laboratory of Clinical Epidemiology, Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, CEP 21040-361, Brazil. Phone number: 005521- 38829208, E-mail: [veronica.mata@ini.fiocruz.br](mailto:veronica.mata@ini.fiocruz.br).

**Sonia Regina Lambert Passos** Laboratory of Clinical Epidemiology, Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, CEP 21040-361, Brazil, E-mail: [sonia.lambert@ini.fiocruz.br](mailto:sonia.lambert@ini.fiocruz.br).

**Maria Angelica Borges dos Santos** National School of Public Health (ENSP), Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, CEP 21040-361, Brazil, E-mail: [angelicabsantos@ensp.fiocruz.br](mailto:angelicabsantos@ensp.fiocruz.br).

**Sibelle Nogueira Buonora** Laboratory of Clinical Epidemiology, Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, CEP 21040-361, Brazil, E-mail: [sibellebuonora@gmail.com](mailto:sibellebuonora@gmail.com).

**Carlos Augusto Ferreira de Andrade** Laboratory of Clinical Epidemiology, Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, CEP 21040-361, Brazil, E-mail: [carlosandrade07@gmail.com](mailto:carlosandrade07@gmail.com).

**Guilherme Miguéis Berardinelli** Laboratory of Clinical Epidemiology, Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, CEP 21040-361, Brazil, E-mail: [guilherme.berardinelli@ini.fiocruz.br](mailto:guilherme.berardinelli@ini.fiocruz.br).

**Rita Maria Ribeiro Nogueira** Laboratory of Flavivirus, Oswaldo Cruz Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, CEP 21040-900, Brazil, E-mail: [rita@ioc.fiocruz.br](mailto:rita@ioc.fiocruz.br).

**Monique da Rocha Queiroz Lima** Laboratory of Flavivirus, Oswaldo Cruz Institute, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, CEP 21040-900, Brazil, E-mail: [moniqueq@ioc.fiocruz.br](mailto:moniqueq@ioc.fiocruz.br).

**Indiara Firmino Brito** Laboratory of Clinical Epidemiology, Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, CEP 21040-361, Brazil, E-mail: [indiara.brito@ini.fiocruz.br](mailto:indiara.brito@ini.fiocruz.br).

**Raquel de Vasconcellos Carvalhaes de Oliveira** Laboratory of Clinical Epidemiology, Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, CEP 21040-361, Brazil, E-mail: raquel.vasconcellos@ini.fiocruz.br.

**Yara Hahr Marques Hökerberg** Laboratory of Clinical Epidemiology, Evandro Chagas National Institute of Infectious Diseases, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, CEP 21040-361, Brazil, E-mail: yarahahr@ini.fiocruz.br.

### **Author Summary**

Dengue virus (DENV) is the most ubiquitous of arboviral disease in developing countries. Rapid immunochromatographic tests have become increasingly popular for dengue diagnosis, aiming at early treatment to avoid complications. DENV serotype 4 (DENV-4) is the latest emerging serotype. Literature review shows that diagnostic studies on NS1 rapid immunochromatographic tests for dengue rarely include substantial samples of the DENV-4 serotype or assess test reading agreement. In this study, we compared the performance and agreement between four NS1 rapid immunochromatographic tests across two pairs of observers with different levels of training, independently and blinded, using a panel of 324 DENV-4 serum samples. NS1 tests showed high specificity and inter-observer agreement between pairs of raters with different expertise. Results show that such tests could be used during epidemics of dengue serotype 4 as confirmatory tests to rule in suspected patients, but not for triage purposes.

### **ABSTRACT**

**Background.** Dengue virus serotype 4 (DENV-4) is the latest emerging dengue serotype in developing countries. Rapid immunochromatographic tests (RIT) are becoming increasingly popular to expedite diagnosis and optimize management of epidemic infectious diseases. Although performance of RITs in dengue virus serotypes 1, 2 and 3 infections seems to be relatively settled, available evidence on the accuracy of RIT for DENV-4 is still discrepant and based on studies with small sample sizes.

**Objectives.** We assessed the accuracy and inter-observer agreement of rapid immunochromatographic tests targeting dengue nonstructural protein-1 (NS1) antigen, Dengue NS1-Bioeasy™ (Standard Diagnostic Inc, Korea), Dengue NS1 Ag Strip-Bio-Rad™ (Bio-Rad Laboratories Inc, France), IVB Dengue Ag NS1-Orangelife™



(Orangelife Comercio e Industria Ltda, Brazil) and Dengue NS1-K130-Bioclin™ (Quibasa Química Básica Ltda, Brazil) in DENV-4 samples.

**Study design.** The study population included adults attending an emergency unit in Rio de Janeiro, Brazil, presenting with fever of  $\leq 72$  hours duration and two or more dengue symptoms. Dengue cases were confirmed by Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR).

**Results.** NS1 tests for DENV-4 diagnosis showed high specificity (95.9% to 99.4%), but low sensitivity (14.7% to 45.4%). The Bioeasy™ test showed the best performance, with a positive likelihood ratio of 26.0 (95% CI: 8.4 – 81.0). Inter-observer agreement in test readings was almost perfect for all evaluated tests. Mismatches in confirmed dengue were more common for the Bioclin™ (positive proportion concordance 88.3 – 90.0%) and Orangelife™ (positive proportion concordance 91.7 - 94.1%) tests.

**Conclusions.** For DENV-4, tests were more specific than sensitive and show high inter-observer agreement for pairs of raters with different expertise. Such tests may be used as confirmatory tests to rule in suspects, but not for triage purposes.

**Keywords:** Dengue, Sensitivity and Specificity, Diagnosis, Point-of-care Systems, NS1, Reproducibility of Results.

### **List of abbreviations**

CI: confidence interval; DENV: dengue virus; DENV-1: dengue virus serotype 1; DENV-2: dengue virus serotype 2; DENV-3: dengue virus serotype 3; DENV-4: dengue virus serotype 4; ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay; IgG: immunoglobulin G; IgM: immunoglobulin M; Kappa: simple Kappa; LR+: positive likelihood ratio; LR-: negative likelihood ratio; NPV: negative predictive value; PABAK: prevalence and bias adjusted kappa; PPV: positive predictive value; NS1: nonstructural protein-1; REBRATS: Brazilian Network for Technological and Health Assessment; RIT: rapid immunochromatographic test; RNA: ribonucleic acid; RT-PCR: reverse-transcription polymerase chain reaction; S: sensitivity; Sp: specificity; STARD: Standards for Reporting of Diagnostic Accuracy Study; WHO: World Health Organization; Ppos=Positive proportion concordance; Pneg=Negative proportion concordance.

## **Introduction**

Dengue fever is the most ubiquitous of arbovirus diseases in developing countries. In the Americas, the mean incidence increased from 16.4/100,000 inhabitants in the 1980's to 218.3/100,000 inhabitants in the 2000-2010 decade [1,2]. In Brazil, a dengue outbreak caused by dengue virus serotypes 1 and 4 was reported in 1981-1982 in the Amazon Region, North of Brazil. DENV-4 emerged in Niteroi, Southeastern Brazil, on March, 2011, after having been identified in the North in Brazil in 2010 [3].

Early diagnosis is important to allow appropriate treatment [4]. Clinical diagnosis following the World Health Organization's (WHO) criteria is based on the presence of fever of up to seven days' duration and at least two other symptoms among the following: nausea/vomiting, rash, aches and pains, leucopenia, abdominal pain or tenderness, persistent vomiting, clinical fluid accumulation, mucosal bleeding, lethargy/restlessness, liver enlargement and hemoconcentration concurrent with rapid decrease in platelet count [1]. However, clinical diagnosis has low specificity, making laboratory diagnosis highly desirable [5].

Confirmatory dengue laboratory diagnosis relies on dengue viral ribonucleic acid (RNA) detection, virus isolation in culture or paired IgM/IgG serology. Such diagnostic methods are time-consuming, expensive, require dedicated infrastructure and personnel. For these reasons, they may be impractical, especially during epidemics [6].

Rapid immunochromatographic tests (RIT) require neither specific infrastructure nor particular technical expertise, may be used at point of care and can be an option for early diagnosis in low-resource settings [5]. They are, thus, becoming increasingly popular for the diagnosis of epidemic infectious diseases in emerging countries, where they may be performed both in clinics by health care providers or in community settings by minimally trained health workers [7].

Agreement of test readings is an issue when these tests are used at point of care or in low resource settings. Few studies on DENV RITs have looked into this aspect specifying the serotype. A single study testing RIT SD Bioline Dengue Duo<sup>TM</sup> NS1/IgM/IgG in predominantly DENV-2 samples in Singapore [8] reported excellent inter-observer agreement between blinded readers ( $\kappa = 0.98$  CI: 0.83 - 1.00), but the expertise level of the readers was not specified [8].

Most studies on dengue RITs accuracy concern dengue serotypes 1, 2 and 3 and there is a growing literature on the performance of commercial rapid and conventional NS1

antigen tests, as extensively reviewed by Zhang et al, 2015. [9]. DENV-4 is the latest emerging serotype in circulation. Most cases occur in developing countries, such as Brazil [3] and India [10]. For DENV-4, there are fewer studies and sample sizes are smaller and, thus, NS1 RIT performance remains controversial [11, 12].

A pioneer study based on 272 patients in early dengue clinical stages (all serotypes) carried out in Antilles-Guyana included 46 DENV-4 positive samples. Two commercial tests for dengue NS1 in serum were assessed, including an NS1 Ag strip (Bio-Rad™). Sensitivity was 82.6% (95% CI 68.6 – 92.8) and specificity was 100% at 15 min. Confirmation was based both on RT-PCR and virus isolation [11]. Another study, carried out in Venezuela, however, reported 60% (12/20 patients) sensitivity for DENV-4 using the same strip test (Bio-Rad™) and reference standards. Alere Dengue Early NS1 [12] Rapid Test™ was evaluated in DENV-4 samples from Malaysia and Vietnam and compared with RT-PCR or IgM/IgG/NS1 ELISA. Sensitivity was 62.5% in 16 adults and 33.3% in three children. Due to the small sample size, 95% confidence intervals were not provided, precluding external generalizability. Also, specificity could not be calculated [13].

Bioeasy™ and Bio-Rad™ showed high sensitivities (94.1% and 91%, respectively) and perfect specificities (100%) when compared to IgM/NS1 ELISA and MAC ELISA as reference standards in 77 Brazilian patients. In this specific study, only four samples were DENV-4 [14].

More recently, a study evaluated a well-characterized panel of acute febrile patients' sera from Peru, Honduras and Ecuador. Of the 200 DENV-positive samples, based on virus isolation, 62 were DENV-4. Much lower sensitivities of RIT to DENV-4, ranging from 42.1% (InBios™) to 58.1% (Bio-Rad™), were described [15]. Given the inconclusiveness of results on RIT performance regarding DENV-4, we studied the accuracy and agreement of NS1 RITs in use in Brazil in a DENV-4 real epidemic, with consecutively enrolled patients in the acute phase of the disease (up to three days of fever).

## **Methods**

This is a cross-sectional study in DENV-4 samples to assess the accuracy and agreement of the following RIT targeting dengue diagnostic: Dengue NS1-Bioeasy™ (Standard Diagnostic Inc, Korea), Dengue NS1 Ag Strip-Bio-Rad™ (Bio-Rad

Laboratories Inc, France), IVB Dengue Ag NS1-Orangelife™ (Orangelife Comercio e Industria Ltda, Brazil) and Dengue NS1-K130-Bioclin™ (Quibasa Química Básica Ltda, Brazil). We have previously used a similar panel to study only Bioeasy for NS1 antigen and WHO clinical algorithms [16].

### **Data collection**

Blood samples were collected at an emergency care unit in Rio de Janeiro and stored and processed at the Flavivirus Laboratory of the Oswaldo Cruz Institute, the regional reference center for DENV diagnosis and characterization.

The study population was made up of adults, older than 18 years, who, during the 2013 dengue outbreak, spontaneously sought the emergency care unit located in a central district of the city. All fulfilled the inclusion criteria of: acute febrile syndrome for up to 72 hours; absence of identified focus of infectious; and at least two or more symptoms of suspected dengue cases according to WHO [1]. A written informed consent was provided by all participants.

Two blood specimens were collected. Prior asepsis was performed with 70% alcohol, followed by brachial venipuncture by a nurse with a 25 x 7 mm BD Vacutainer™ needle. Blood was drawn into a tube containing EDTA K2 anticoagulant, centrifuged at the emergency care unit laboratory and transported to be processed and analyzed at the Flavivirus Laboratory of the Oswaldo Cruz Foundation. All patient samples remained frozen at -70°C for subsequent characterization based on RT-PCR and Dengue NS1 ELISA.

### **Diagnosis**

#### Reference tests and case definition

Samples were considered as dengue cases when they tested positive in Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR), performed according to the protocol described by Lanciotti et al. (1992) [17]. This method is accurate for early diagnosis of dengue, with a sensitivity exceeding 80% within the initial three days of symptoms [18].

Platelia Dengue NS1 Ag ELISA (Bio-Rad™ Laboratories, France) was performed for detection of NS1 antigen according the manufacturer's specifications [19].

Samples yielding negative results in those two methods were considered non-dengue.

The reference tests were performed at the Flavivirus Laboratory, by a biologist blinded to the index test.

### **Immunologic markers**

Panbio® dengue IgM Capture ELISA (Alere™, Minas Gerais, Brasil) and Dengue Virus IgG DxSelect™ ELISA (Focus Diagnostics, California, USA) were performed, respectively, for the qualitative detection of anti-DENV IgM and anti-DENV IgG antibodies, and define primary or secondary infection [20,21].

### **Index tests**

The index tests were Dengue NS1-Bioeasy™ (Standard Diagnostic Inc, Korea), Dengue NS1 Ag Strip-Bio-Rad™ (Bio-Rad Laboratories Inc, France), IVB Dengue Ag NS1-Orangelife™ (Orangelife Comercio e Industria Ltda, Brazil) and Dengue NS1-K130-Bioclin™ (Quibasa Química Básica Ltda, Brazil).

These tests are provided as rectangular cassettes with an orifice, through which blood, serum or plasma contacts an immunochromatographic strip, and a window to enable reading the result [22-24]. The Bio-Rad™ test uses serum or plasma and additionally requires a pipette with a migration buffer and a test tube (not available in the kit) to promote the reaction in the immunochromatographic strip [25]. When only the control line (C) is visible, the test is considered negative; if lines C and T are visible, the result is positive; and when no line or only the T line is visible, the test result is considered invalid [22]. Each serum sample were tested by the four rapid assays.

For the assessment of agreement in test readings, the RITs were performed with serum, according to manufacturer instructions, and read by a single pair of readers. Pairs were defined according to the experience in performing these tests: a homogeneous pair A (composed by two junior nurses) and a heterogeneous pair B (one junior nurse and one senior biologist). Each individual reader in a pair read each sample once in the same strip or cassette, independently and blindly at 15 minutes. In the case of initially invalid results, readings were repeated at 30 minutes.

### **Statistical analysis**

Quantitative variables were described as simple frequencies and dispersion measures, and their frequencies were compared by Chi-square statistical test. The following

accuracy measures were calculated based on the senior biologist readings: sensitivity; specificity; positive and negative predictive values; positive and negative likelihood ratio of the RIT with 95% confidence intervals (CI). Tests were compared for sensitivity and specificity according to the  $\chi^2$  McNemar test [26].

The agreement index between the two pairs of readers (A and B) for each RIT (Bio-Rad™, Orangelife™ and Bioclin™) was estimated by the simple kappa index (the probability of chance agreement is taken into account in the calculation of kappa), in addition to positive proportion concordance (Ppos) and negative (Pneg), and prevalence and bias adjusted kappa (PABAK) [27]. For all of them, 95% CI was provided. Simple kappa (k) and PABAK values were interpreted according to the 1977 Landis and Koch classification: poor ( $k < 0.0$ ); slight ( $0.0 < k < 0.2$ ); fair ( $0.2 < k < 0.4$ ); moderate ( $0.4 < k < 0.6$ ); substantial ( $0.6 < k < 0.8$ ); almost perfect ( $0.8 < k < 1.0$ ); and perfect ( $k = 1$ ) [28].

MedCalc 12.7 and R 3.2.1. were used for analysis [29, 30].

### **Ethical approval**

This study was approved by the Research Ethics Committee of the Evandro Chagas Clinical Research Institute (CAAE 0066.0.009.000-11) and is registered in UTN: U1111-1145-9451.

### **Results**

This study collected 375 serum samples, of which 51 were excluded (19 without index test, three without reference test, eight ELISA NS1 invalid and PCR negative, one DENV-1, one DENV-3, 13 ELISA NS1 positive but PCR negative and six with more than three days of fever (Figure 1). Seven tests with invalid results were re-read after 30 minutes, of which three (Orangelife™) were excluded from analyses (two dengue cases, one non-dengue).

Of the 324 included, 56.8% were from women. Patients' ages ranged from 25.5 to 46 years (median age 33 years), and presented with fever of median duration of 2 days (95% IQR: 1 – 2). The most frequent symptoms were asthenia (95.6%), headache (92.6%), myalgia (90.9%), low back pain (78.1%) and arthralgia (72.7%), with no difference between the dengue and non-dengue groups and no evidence of clinical warning signs.

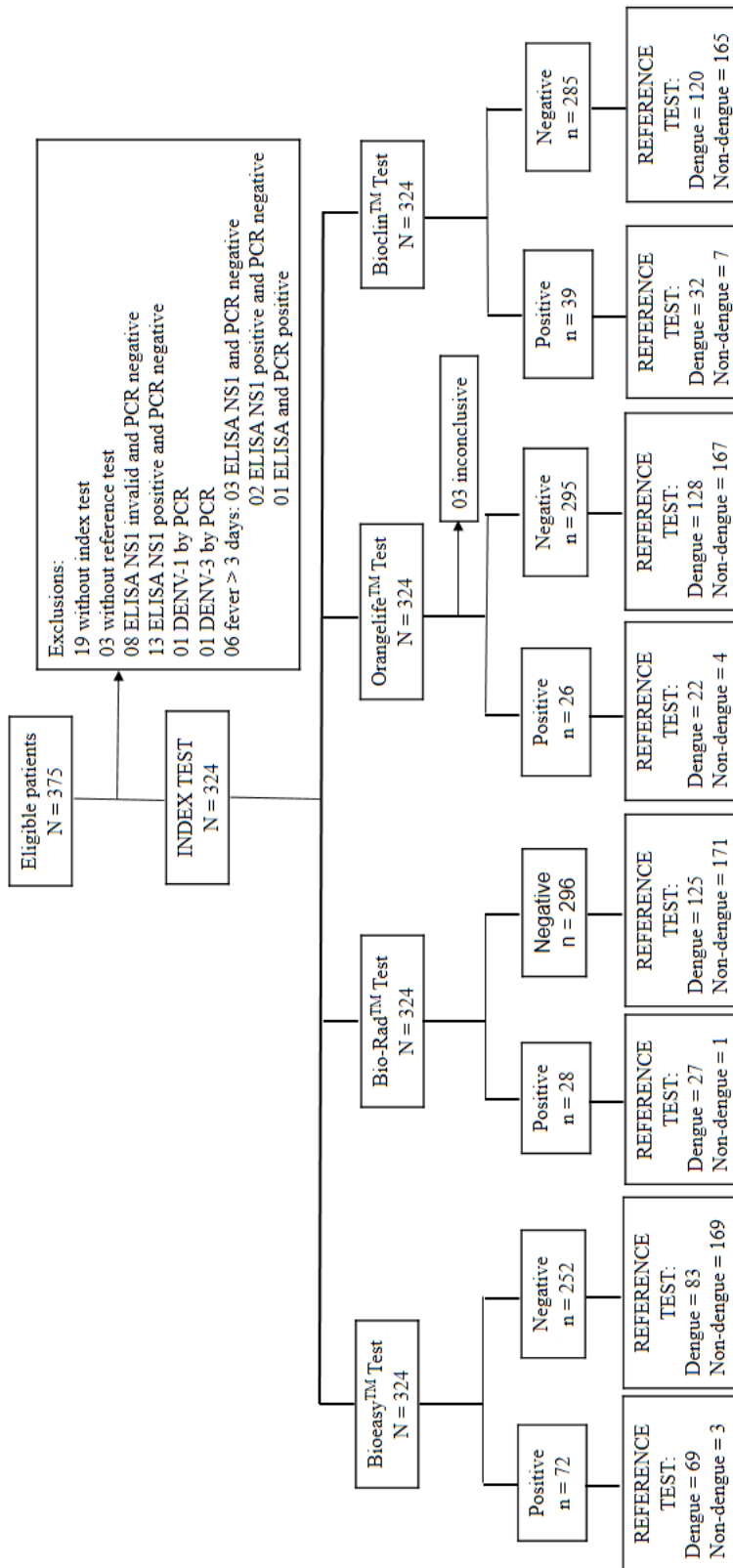


Figure 1 – Study sample selection and laboratory analyses

Dengue prevalence based on the reference tests was 46.9% (95% CI: 41.4 –52.5) (n=152 cases). Among positive cases, 78.9% were secondary infections. All tests showed high specificity (from 95.9% to 99.4%), but low sensitivity, generating several false-negative results (Table 1).

**Table 1 - Accuracy of rapid immunochromatographic tests in 152 dengue cases and 172 non-dengue cases classified according to the reference test.**

	Bioeasy™	Orangelife™ <sup>a</sup>	Bioclin™	Bio-Rad™
Sensitivity	45.4% <sup>b</sup>	14.7%	21.1%	17.8% <sup>b</sup>
(95% CI)	(37.3- 53.7)	(9.4 – 21.4)	(14.9 – 28.4)	(12.0 – 24.8)
Specificity	98.3% <sup>c</sup>	97.7%	95.9%	99.4% <sup>c</sup>
(95% CI)	(95.0 – 99.6)	(94.1 – 99.4)	(91.8 – 98.3)	(96.8 – 100)
PPV	95.8%	84.6%	82.1%	96.4%
(95% CI)	(88.3 – 99.1)	(65.1 – 95.6)	(66.5 – 92.5)	(81.7 – 99.9)
NPV	67.1%	56.6%	57.9%	57.8%
(95% CI)	(60.9 – 72.8)	(50.7 – 62.3)	(51.9 – 63.7)	(51.9 – 63.5)
LR+	26.0	6.3	5.2	30.6
(95% CI)	(8.4 – 81.0)	(2.2 – 17.8)	(2.4 – 11.4)	(4.2 – 222.2)
LR-	0.56	0.87	0.82	0.84
(95% CI)	(0.48 – 0.64)	(0.81 – 0.94)	(0.75 – 0.90)	(0.79 – 0.90)

Abbreviations: CI=Confidence Interval; PPV=Positive Predictive Value; NPV=Negative Predictive Value; LR=Likelihood Ratio. <sup>a</sup>: 3 invalid results for Orangelife™ - 2 dengue and 1 non dengue cases (were excluded from analysis). <sup>b</sup>:  $\chi^2$  McNemar test P-value <0.0001. <sup>c</sup>:  $\chi^2$  McNemar test P-value 0.157.

Bioeasy™ showed the best accuracy and was approximately 26 times more positive in actual dengue cases than in non-dengue (positive likelihood ratio: LR+ = 26.0, 95% CI: 8.4 to 81.0). Although the LR+ of the Bio-Rad™ test was similar to that of the Bioeasy™ test, its 95% CI was larger (LR+ = 30.6, 95% CI: 4.2 to 222.2). Its sensitivity was lower (17.8%), being around one-third of the Bioeasy™ test (45.4%). The high negative likelihood ratio of all tests evidenced their inadequate performance to exclude the diagnosis of dengue (Table 1).

Inter-observer agreement in test results was almost perfect for all tests in both pairs of readers, except for the 95% CI of the Bioclin™ test for the heterogeneous pair (N),



where agreement ranged from substantial to almost perfect. Such results persisted when analyzing with PABAK (Table 2).

**Table 2 – Inter-observer agreement of the interpretation of dengue rapid immunochromatographic tests<sup>a</sup> in 345 patients according to the pairs A and B of readers.**

		Bio-Rad <sup>TM</sup>	Orangelife <sup>TM</sup>	Bioclin <sup>TM</sup>
Kappa (95% CI)	Group A	0.98 (0.94-1.00)	0.91 (0.82-1.00)	0.89 (0.81-0.96)
	Group B	0.96 (0.91-1.00)	0.94 (0.86-1.00)	0.87 (0.78–0.95)
%Ppos (95% CI)	Group A	98.2 (93.4-100)	91.7 (80.6-100)	90.0 (80.7–99.3)
	Group B	96.4 (89.6-100)	94.1 (85.1-100)	88.3 (78.2-98.4)
%Pneg (95% CI)	Group A	99.8 (99.4-100)	99.3 (98.4-100)	98.6 (97.2-100)
	Group B	99.7 (99.0-100)	99.5 (98.7-100)	98.4 (97.0-99.9)
PABAK (95% CI)	Group A	0.99 (0.93–1.00)	0.97 (0.88–0.99)	0.95 (0.88–0.99)
	Group B	0.99 (0.93–1.00)	0.98 (0.91-1.00)	0.94 (0.86–0.98)

Abbreviations: Pair A (homogeneous expertise) Pair B (heterogeneous expertise). Kappa=Simple Kappa; Ppos=Positive proportion concordance; Pneg=Negative proportion concordance; PABAK= bias adjusted kappa. <sup>a</sup>: not available for Bioeasy<sup>TM</sup>.

Disagreements were more common in the presence of dengue diagnosis for Orangelife<sup>TM</sup> test (Ppos ranging from 80.6% to 100%) and Bioclin<sup>TM</sup> test (Ppos ranging from 78.2% to 99.3%). Agreement in the absence of disease reached high proportions for the three tests assessed (ranging from 97% to 100%) (Table 2).

## Discussion

When performed up to the third day of fever, RITs targeting dengue NS1 antigen in DENV-4 had high specificity and lower sensitivity comparatively to published results for other serotypes [14, 31-32]. The Bioeasy<sup>TM</sup> showed distinctly better performance than the other three tests. Similar results similar have been reported in Colombia [31] for Bio-Rad<sup>TM</sup>. This study tested 167 individuals (104 cases of dengue, of which 42 with serotypes identified by RT-PCR), with only five DENV-4 patients.

Our findings contradict initial findings in the Antilles-Guyana study, where NS1 RIT sensitivity point estimates for DENV-4 were high and did not differ much from that of other dengue serotypes. Large intervals for 95% CI already suggested imprecision in estimates, probably due to DENV-4 small sample size (38 in 46 individuals) [11].

Literature on the performance of the NS1 rapid test Bioeasy™ for DENV-4 is scarce and studies in Brazil did not include [31] or had small sample sizes for this serotype [14, 31]. We were also unable to find research on performance of the Brazilian RITs Bioclin™ and Orangelife™.

Previous studies on the NS1 rapid test Bio-Rad™ for other serotypes have yielded high sensitivities of 91% [31], 98% [14] for DENV 1-2 and 88% for DENV-3 [32]. However, in Singapore this same test showed an intermediary performance, with overall sensitivity of 78.9%. The sample test included 209 DENV 1-2 patients and one DENV-4. This lower performance could be associated with the fact that patients had predominantly secondary dengue infections [33].

Previous studies on DENV-4 using other diagnostic tests also report low sensitivity and high specificity. A Brazilian study [34] identified low sensitivity for DENV-4 Platelia™ NS1 ELISA, resulting in underreporting and delay in detection in routine control programs. Another study in the same country [35] testing Panbio Dengue early ELISA™ detected, in a sample of 31 DENV-4 patients in an epidemic period, a 15% false negative rate for NS1 Ag rapid assay.

Differences in study results, even those with adequate designs, may be related to disease duration, and, consequently, to low viremia, which hinders NS1 protein detection by the tests. In addition, both the type of infection (primary or secondary) [31,36] and the serotype [15,31-32] seem to interfere with NS1 protein detection.

As repeatedly pointed out in literature [37], RIT should be used to rule in dengue diagnosis but not to rule out patients. The actual utilization context of RIT recommends strict guidance on treatment flows and on the information provided by these tests [31]. Paradoxically, past studies [38] argued that the excellent confirmatory accuracy would recommend their use in screening of imported dengue cases at airports, based on 17 out of 22 PCR confirmed dengue cases also positive in the NS1 strip test.

All tests assessed had high inter-rater agreement, independently of the reader's expertise. Disagreements occurred in the presence of dengue diagnosis, and were slightly higher within the homogeneous group of readers, probably because of their

lower level of training to perform laboratory tests. Although the tests are easy to perform and read, the Bio-Rad™ test requires some laboratory infra-structure (test tube, refrigeration at 8 to 16°C and reagent) hindering its use as a point-of-care test.

In spite of its importance, agreement of test is not often reported for RIT studies. Previously, four studies described moderate to almost perfect inter-observer agreement rates for commercial RIT Duo NS1/IgM/IgG [21] or IgM/IgG [8,31,39] tests. However, in three of them [31,39-40], samples showed no dominance for any specific DENV serotype. Only one of these studies reported raters' expertise (heterogeneous pair, including a physician and a bacteriologist), confirming that RIT are easy to read [40].

Limitations of our study include: non-evaluation of Bioeasy™ NS1 rapid test's agreement; predominance of secondary infection in our sample, which may have affected the performance of the tests. Accuracy of ELISA NS1 on secondary DENV 4 infection is better after heat dissociation, as reported in a Brazilian study testing 471 patients [21]; co-infection with virus zika was not investigated, because this virus was only reported in Rio de Janeiro in 2015 [41]. Inter-observer agreement was studied just doing one test per sample with two readers.

Strong points include: evaluating NS1 immunochromatographic tests produced in Brazil; using RT-PCR as the reference test in acute samples for DENV-4 to decrease classification bias; and including evaluation of reproducibility of the other three tests. This study also compared performance of commercially available RIT of four manufacturers in early diagnosis of DENV-4 in an epidemic scenario with a robust sample size and consecutively enrolled patients. The need for prospective recruitment studies in different endemic locations and representative of real-life contexts in high burden countries has been previously pointed out [4].

All tests evaluated show better specificity than sensitivity, and are recommended to rule in patients, but not for triage. This result of worst accuracy with DENV-4 in a large, prospective sample is consistent with inter-serotype accuracy variation, as shown previously in last decade evaluation of NS1 ELISA tests [35] and Strip Test [42]. Our study also suggested minimal influence of operator training on inter-observer variation of NS1 RIT results [4]. Further studies could confirm these results comparing blood versus serum samples.

Erroneous interpretations of diagnostic tests for dengue are not uncommon [38] and studies on the performance and application of such tests remain controversial. The

dissemination of the results of robust accuracy studies could support the proper use of rapid tests in clinical practice. Cost-effectiveness, implementation and outcome evaluations are also in order to assess the incorporation of those tests, as they could point out contexts where such use would be more adequate [7].

### **Funding**

This study was supported by the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) [grant numbers 401366/2013-8] - Brazilian Network for Technological and Health Assessment (REBRATS), Excellence Program in Clinical Research of the Oswaldo Cruz Foundation (PROEP/PCLIN) [grant numbers N° 402068/2012-2] and the Foundation for Research Support in the State of Rio de Janeiro (FAPERJ) [grant numbers E-25/110.188/2014]. Fellowship grant from CNPq [grant numbers 311414/2013-3] to [SRLP] and scholarship from FAPERJ [grant numbers 221354 E\_01/2016] to [VEM].

### **Conflict of Interest**

The authors declare no competing interests.

### **References**

1. World Health Organization (2009) Dengue – Guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. Geneva: WHO. Available in: <http://www.who.int/tdr/publications/documents/dengue-diagnosis.pdf>. Access in Feb 23, 2016.
2. Teixeira MG, Siqueira JB Jr, Ferreira GLC, Bricks L, Joint G (2013) Epidemiological Trends of Dengue Disease in Brazil (2000–2010): A Systematic Literature Search and Analysis. *PLoS Negl Trop Dis* 7(12): e2520. doi:10.1371/journal.pntd.0002520.
3. Castro MG de, Nogueira RMR, Filippis AMB de, Ferreira AA, Lima MdaRQ et al (2012) Dengue virus type 4 in Niterói, Rio de Janeiro: the role of molecular technique in laboratory diagnosis and entomological surveillance. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 107 (7): 940-945. Available in: <http://www.scielo.br/pdf/mioc/v107n7/17.pdf>. Access in Feb 23, 2016.

4. Blacksell SD (2012) Commercial Dengue Rapid Diagnostic Tests for Point-of-Care Application: Recent Evaluations and Future Needs. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* Article ID 151967, 12 pages. doi:10.1155/2012/151967.
5. Low JGH, Ong A, Tan LK, Chaterji S, Chow A, et al. (2011) The Early Clinical Features of Dengue in Adults: Challenges for Early Clinical Diagnosis. *PLoS Negl Trop Dis* 5(5): e1191. doi:10.1371/journal.pntd.0001191.
6. Blacksell SD, Jarman RG, Bailey MS, Tanganuchitcharnchai A, Jenjaroen K, Gibbons RV et al (2011) 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* 18 (12): 2095 – 2101. doi: 10.1128/CVI.05285-11.
7. Pai NP, Vadnais C, Denkinger C, Engel N, Pai M (2012) Point-of-Care Testing for Infectious Diseases: Diversity, Complexity, and Barriers in Low- And Middle-Income Countries. *PLoS Med* 9(9): e1001306. doi:10.1371/journal.pmed.1001306.
8. Gan VC, Tan L-K, Lye DC, Pok K-Y, Mok S-Q, et al. (2014) Diagnosing Dengue at the Point-of-Care: Utility of a Rapid Combined Diagnostic Kit in Singapore. *PLoS ONE* 9(3): e90037. doi:10.1371/journal.pone.0090037.
9. Zhang H, Li Wei, Wang J, Peng H, Che X, Chen X et al (2014) NS1-based tests with diagnostic utility for confirming dengue infection: a meta-analysis. *International Journal of Infectious Diseases* 0: 57-66. doi: 10.1016/j.ijid.2014.02.002.
10. Barde PV, Godbole S, Bharti PK, Chand G, Agarwal M and Singh N (2011) Detection of dengue virus 4 from central India. *Indian J Med Res* 136:491-494. Available in: <http://www.icmr.nic.in/ijmr/2012/september/0919.pdf>. Access in Apr 10, 2016.
11. Dussart P, Petit L, Labeau B, Bremand L, Leduc A, et al. (2008) 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* 2(8): e280. doi:10.1371/journal.pntd.0000280.
12. Ramirez AH, Moros Z, Comach G, Zambrano J, Bravo L, Pinto B et al (2009) Evaluation of dengue NS1 antigen detection tests with acute sera from patients infected with dengue virus in Venezuela. *Diagn Microbiol Infect Dis* 65(3): 247-253. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2009.07.022>.

13. Fry SR, Meyer M, Semple MG, Simmons CP, Sekaran SD, et al. (2011) The Diagnostic Sensitivity of Dengue Rapid Test Assays Is Significantly Enhanced by Using a Combined Antigen and Antibody Testing Approach. *PLoS Negl Trop Dis* 5(6): e1199. doi:10.1371/journal.pntd.0001199.
14. Ferraz FO, Bomfim MRQ, Totola AH, Ávila TV, Cisalpino D, Pessanha JEM et al (2013). Evaluation of laboratory tests for dengue diagnosis in clinical specimens from consecutive patients with suspected dengue in Belo Horizonte, Brazil. *Clin Virol* 58(1):41-6. doi: 10.1016/j.jcv.2013.06.015.
15. Pal S, Dauner AL, Mitra I, Forshey BM, Garcia P, et al. (2014) Evaluation of Dengue NS1 Antigen Rapid Tests and ELISA Kits Using Clinical Samples. *PLoS ONE* 9(11): e113411. doi:10.1371/journal.pone.0113411.
16. Buonora SN, Passos SRL, do Carmo CN, Quintela FM, de Oliveira DNR, dos Santos FB et al (2016) Accuracy of clinical criteria and an immunochromatographic strip test for dengue diagnosis in a DENV-4 epidemic. *BMC Infectious Diseases* 16:37. doi: 10.1186/s12879-016-1368-7.
17. Lanciotti RS, Calisher CH, Gubler DJ, Chang GJ and Vorndamt AV (1992) Rapid Detection and Typing of Dengue Viruses from Clinical Samples by Using Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction. *Journal of clinical microbiology* 30(3) 545-551.
18. Lima MdRQ, Nogueira RMR, Schatzmayr HG, Santos FBd (2010) Comparison of Three Commercially Available Dengue NS1 Antigen Capture Assays for Acute Diagnosis of Dengue in Brazil. *PLoS Negl Trop Dis* 4(7): e738. doi:10.1371/journal.pntd.0000738.
19. Platelia™ Dengue NS1 AG® (2008) France: Bio-Rad Laboratories, Inc. Available in: [http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/en/72830\\_881149\\_EN.pdf](http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/en/72830_881149_EN.pdf). Access in 7 Apr, 2016.
20. Wang SM, Sekaran SD (2010) 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* 83(3): 690–695. doi: 10.4269/ajtmh.2010.10-0117.
21. Lima MdaRQ, Nogueira RM, Filippis AMB, Nunes PCG, de Souza CS, da Silva MH et al (2014) A simple heat dissociation method increases significantly the ELISA

detection sensitivity of the non-structural-1 glycoprotein in patients infected with DENV type4. *J Virol Methods* 204: 105-108. doi: 10.1016/j.jviromet.2014.02.031.

22. Dengue Eden Test Bioeasy<sup>®</sup> (2015) Korea: Bioeasy Diagnóstica Ltda. Available in: <http://www.hyperbrax.com.br/POC/bula.pdf>. Access in Apr 7, 2016.

23. IVB Dengue Ag NS1 OrangeLife<sup>®</sup> (2016) Brazil: Orangelife comércio e indústria Ltda. Available in: <http://www.dmed.com.br/manuais/denguens1orangelife.pdf>. Access in Jan 7, 2016.

24. Dengue NS1 K130 Bioclin<sup>®</sup> (2017) Brazil: Quibasa Química Básica, Ltda. Available in: [http://www.bioclin.com.br/sitebioclin/wordpress/wp-content/uploads/arquivos/instrucoes/INSTRUCOES\\_DENGUE\\_NS1.pdf](http://www.bioclin.com.br/sitebioclin/wordpress/wp-content/uploads/arquivos/instrucoes/INSTRUCOES_DENGUE_NS1.pdf). Access in Apr 7, 2016.

25. Dengue NS1 Ag STRIP Bio-Rad<sup>®</sup>. France: Bio-Rad Laboratories, Inc. 2014. Available in: [http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/en/70700\\_883643\\_EN.pdf](http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/en/70700_883643_EN.pdf). Access in Apr 7, 2016.

26. Trajman, A. and Luiz, R. R. McNemar  $\chi^2$  test revisited: comparing sensitivity and specificity of diagnostic examinations', *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. 2007. 68:1, 77 – 80. doi: 10.1080/00365510701666031.

27. Byrt T, Bishop J, Carlin JB. Bias, prevalence and kappa. *J Clin Epidemiol*. 1993; 46(5):423-9.

28. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*. 1977; 33: 159-174.

29. MedCalc Statistical Software version 12.7.8. (MedCalc Software bvba, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>; 2014).

30. R Core Team (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.

31. Osorio L, Ramirez M, Bonelo A, Villar LA, Parra B. Comparison of the diagnostic accuracy of commercial NS1-based diagnostic tests for early dengue infection. *Virology Journal* 2010; 7:361. doi: 10.1186/1743-422X-7-361.

32. Lima MdRQ, Nogueira RMR, Schatzmayr HG, Santos FBd. Comparison of Three Commercially Available Dengue NS1 Antigen Capture Assays for Acute

Diagnosis of Dengue in Brazil. *PLoS Negl Trop Dis* 2010; 4(7): e738. doi:10.1371/journal.pntd.0000738.

33. Pok KY, Lai YL, Sng J, Ng L. Evaluation of Nonstructural 1 Antigen Assays for the Diagnosis and Surveillance of Dengue in Singapore. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2010; 10(10):1009-16. doi: 10.1089/vbz.2008.0176. Epub 2010 Apr 28.

34. Sea VRF, Cruz ACR, Gurgel RQ, et al. Underreporting of Dengue-4 in Brazil Due to Low Sensitivity of the NS1 Ag Test in Routine Control Programs 2013; *PLoS ONE* 8(5): e64056. doi: 10.1371/journal.pone.0064056.

35. Colombo TE, Vedovello D, Araki CS, et al. Dengue-4 false negative results by Panbio® Dengue Early ELISA assay in Brazil. *J Clin Virol* 2013 Dec; 58(4):710-2. doi: 10.1016/j.jcv.2013.10.021. Epub 2013 Oct 27.

36. Vazquez S, Ruiz D, Barrero R, et al. Kinetics of dengue virus NS1 protein in dengue 4-confirmed adult patients. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010 Sep;68(1):46-9. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2010.04.006.

37. Osorio L, Uribe M, Ardila GI, et al. The use of rapid dengue-endemic area of Colombia. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2015 Jun; 110(4): 510-6. doi: 10.1590/0074-02760140359. Epub 2015 May 15.

38. Shu P, Yang C, Kao J, et al. Application of the dengue virus NS1 antigen rapid test for on-site detection of imported dengue cases at airports. *Clin Vaccine Immunol* 2009, 16: 589-591. 10.1128/CVI.00475-08.

39. Martínez-Veja RA, Díaz-Quijano FA, Coronel-Ruiz C, Gómez SY, Villar-Centeno LA. Evaluación de la utilidad de la prueba rápida de casete por inmunocromatografía para el diagnóstico de dengue en una región endémica colombiana. *Biomédica* 2009;29:616-24.

40. Hunsperger EA, Yoksan S, Buchy P, 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* 2014; 8(10):e3171. doi: 10.1371/journal.pntd.0003171.

41. Brasil P, Pereira JP, Gabaglia CR, et al. Zika Virus Infection in Pregnant Women in Rio de Janeiro — Preliminary Report *New England Journal of Medicine* 2016 March; doi: 10.1056/ Moa1602412.



42. Tricou V, Vu HTT, Quynh NVN, et al. Comparison of two dengue NS1 rapid tests for sensitivity, specificity and relationship to viraemia and antibody responses. BMC Infectious Diseases 2010; 10:142.

**4.2 ESTUDO 2 - Accuracy and reliability of an NS1 rapid immunochromatographic test for DENV-1 diagnosis at point of care and in the laboratory.**

**Situação:** Publicado em 29/08/2017.

**Revista:** BMC Infectious Diseases (Qualis: B1)

RESEARCH ARTICLE

Open Access



# Accuracy and reliability of an NS1 rapid immunochromatographic test for DENV-1 diagnosis at point of care and in the laboratory

Verónica Elizabeth Mata<sup>1\*</sup>, Sonia Regina Lambert Passos<sup>1</sup>, Yara Hahr Marques Hökerberg<sup>1</sup>, Guilherme Miguéis Berardinelli<sup>1</sup>, Maria Angelica Borges dos Santos<sup>2</sup>, Levy Vilas Boas Fukuoka<sup>1</sup>, Anna Carolina Fontoura Seixas Rangel Maciel<sup>1</sup>, Cintia Damasceno dos Santos Rodrigues<sup>3</sup>, Aline da Silva Santos<sup>3</sup> and Raquel de Vasconcellos Carvalhaes de Oliveira<sup>1</sup>

## Abstract

**Background:** Rapid immunochromatographic tests (ICT) for dengue non-structural protein 1 (NS1) have shown good performance for diagnosing acute-phase dengue in serum in laboratory settings, but rarely have been assessed in whole blood and at point of care (POC). This study compares the accuracy and inter- and intra-observer reliability of the NS1 Bioeasy™ ICT in whole blood at POC versus serum in the laboratory, during a DENV-1 epidemic.

**Methods:** Cross-sectional study involving 144 adults spontaneously demanding care in an emergency department within 4 days of onset of acute febrile illness. Accuracy of NS1 Bioeasy™ ICT was compared in whole blood and serum, both at 15 and 30 min, blinded to the reference RT-PCR or NS1 ELISA. Non-dengue patients were also tested for Zika virus with RT-PCR. Reliability of whole blood and serum readings by the same or different observers was measured by simple kappa (95% CI).

**Results:** At 15 min, sensitivity (Sn) of NS1 Bioeasy™ ICT in whole blood/POC was 76.7% (95% CI: 68.0–84.1) and specificity (Sp) was 87.0% (95% CI: 66.4–97.2). Sn in serum/laboratory was 82% (95% CI: 74.1–88.6) and Sp 100% (95% CI: 85.8–100). Positive likelihood ratio was 5.9 (95% CI: 2.0–17.0) for whole blood/POC and 19.8 (95% CI: 2.9–135.1) for serum/laboratory. Reliability of matched readings of whole blood/POC and serum/laboratory by the same observer ( $k = 0.83$ , 95% CI: 0.74–0.93) or different observers ( $k = 0.81$ , 95% CI: 0.72–0.92) was almost perfect, with higher discordant levels in the absence of dengue. Results did not differ statistically at 5%.

**Conclusions:** NS1 Bioeasy™ ICT in DENV-1 epidemics is a potentially confirmatory test. Invalid results at 15 min should be reread at 30 min. To optimize impact of implementing ICT in the management of false-negatives it should be incorporated into an algorithm according to setting and available specimen.

**Trial registration:** UTN U1111-1145-9451.

**Keywords:** Dengue, Sensitivity and specificity, Diagnosis, Point-of-care systems, NS1, Reproducibility of results

\* Correspondence: veronica.mata@ini.fiocruz.br

<sup>1</sup>Av. Brasil 4036 sala 201 A, CEP 21040-361 Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s). 2017 Open Access This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

## Background

Dengue virus (DENV) is an international public health problem, especially serotype 1 (DENV-1), which shows the highest frequency in the world [1]. The continents with the highest incidence of dengue are America and Asia with 84% of the 390 million cases in the world per year [2]. A systematic analysis on the global burden of dengue suggested that, in 2013, disease costs worldwide may have reached US 8.9 billion [3].

Clinical suspicion of dengue is based on the signs and symptoms described in the World Health Organization (WHO) guidelines, i.e., nausea/vomiting, rash, aches and pains, leucopenia, any warning sign (abdominal pain or tenderness, persistent vomiting, clinical fluid accumulation, mucosal bleeding, lethargy/restlessness, liver enlargement, and hemoconcentration concurrent with rapid decrease in platelet count). However, this criterion shows low specificity due to the absence of confirmatory laboratory tests [4].

A study conducted in the United States showed that laboratory diagnostic tests assist health decisions in 60–70% of cases [5]. The World Health Organization (WHO) recommends that ideal laboratory diagnostic tests should be affordable, sensitive, specific, user-friendly, robust, rapid (can be stored at room temperature and interpreted within 30 min), equipment-free, and deliverable to those who need them (ASSURED) [6].

Rapid immunochromatographic tests (ICT) for dengue with the detection of non-structural protein 1 (NS1) meet some of the characteristics of an ASSURED test: high specificity, ranging from 82.8% [7] to 100% [8–12], simple presentations, whether in cassette or strip format, and rapid interpretation of results (15 to 30 min) [13]. However, the sensitivity showed substantial discrepancy, ranging from 55.2% to 94.3% [10, 11].

In addition, the advantages of ICT in cassette format include the possibility of performing the test in whole blood specimens rather than serum and not requiring a specific infrastructure (equipment-free). This allows their deployment in sites with limited resources, for example at point of care (POC) [7, 12–15]. The tests offer rapid results – allowing the implementation of adequate therapy and care in time to avoid possible complications and even unnecessary costs [16]. Meanwhile, ICT in strip test format requires the use of a centrifuge, reagents, storage in a refrigerator, and test tubes to perform the reaction [7–12, 17].

Dengue NS1 ICTs in cassette or strip format have been evaluated in the last decade, mainly for serotypes 1, 2, and 3, with the best performance in the first 5 days of the illness. Still, these studies mostly used serum specimens, whether from biobanks [8, 10, 11] or processed in laboratory settings [8–12]. Lack of the test's evaluation in whole blood specimens hinders evaluation of ICT

performance at POC and the recommendation of its deployment by health systems in epidemic situations [18].

The accuracy and reliability of ICTs for dengue NS1 are essential for guaranteeing quality tests. Still, few published studies on dengue have evaluated agreement between observers with different levels of training [19] or similar levels [14, 20], varying from moderate to almost perfect agreement. No studies were identified that evaluated the reliability of ICTs according to the types of specimens (whole blood versus serum) or settings.

A literature search detected only one study that evaluated duo ICT (NS1/IgM/IgG) and single NS1 using whole blood at POC, with sensitivities of 93.9% (95% CI: 88.8–96.8) and 81.6% (95% CI: 74.6–87.1), and specificities of 92% (95% CI: 81.2–96.9) and 98% (95% CI: 89.5–99.7), respectively. Inter-observer reliability proved almost perfect ( $\kappa = 1$  95% 95% CI: 0.84–1) [21].

The current study thus aimed to compare the accuracy and reliability of NS1 Bioeasy™ ICT in whole blood at POC and in serum in the laboratory in adults during a DENV-1 epidemic in Rio de Janeiro State, Brazil.

## Methods

This was a prospective diagnostic cross-sectional study that evaluated accuracy of the NS1 Bioeasy™ rapid immunochromatographic test and inter- and intra-observer reliability in whole blood specimens at point of care (POC) and serum specimens in the laboratory. The study was conducted according to the Standards for Reporting Studies of Diagnostic Accuracy (STARD) [22].

The study population consisted of patients over 18 years of age with up to 4 days of acute febrile syndrome without an established diagnosis, treated consecutively and by spontaneous demand at an emergency hospital of the Resende Municipal Health Secretariat, Rio de Janeiro State, Brazil, during a dengue epidemic in March 2015.

## Data collection

The selected patients answered a questionnaire on clinical signs and symptoms associated with dengue according to WHO 2009 criteria for Dengue diagnosis [4, 23]. All of them signed the free and informed consent form.

Three blood specimens were drawn in vacuum tubes by a nurse and four medical students. Prior asepsis was performed with 70% alcohol, followed by brachial venipuncture with a 25 × 7 mm BD Vacutainer® needle. One tube with EDTA K2 was sent to the hospital laboratory for performing a complete blood count, another with heparin for ICT with whole blood at POC and the third with clotting activator and gel separator for obtaining serum. The latter was transported to the Flavivirus Laboratory, where it remained frozen at -70 °C for

subsequent characterization of the specimen and ICT with serum.

The ICTs with whole blood were performed at point of care in the hospital by a nurse, and the ICTs with serum by a biologist and the same nurse (that performed ICT with blood at POC), in the Flavivirus Laboratory of the Oswaldo Cruz Institute, FIOCRUZ, the regional reference laboratory in Rio de Janeiro State. The observers were blinded to the reference test.

#### Diagnosis

##### Index test

The index test used was Dengue Eden Test NS1 ICT from the Bioeasy™ company. This is a rectangular cassette with an orifice to add whole blood, serum, or plasma, and which contains an immunochromatographic membrane coated with NS1 antigen on the test line (T) and a window to view the result. When only the control line (C) is visible, the test is considered negative; if lines C and T are visible, the result is positive; and when no line or only the T line is visible, the test result is invalid [13].

The tests were performed according to manufacturer's instructions and with readings at 15 and 30 min. Tests with invalid results at 15 min were reread at 30 min.

##### Reference test

All samples were tested using Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) for dengue and Platelia™ Dengue NS1 Ag-ELISA (Bio-Rad™ Laboratories, France) as reference, performed according to the protocol described by Lanciotti et al. [24] and the manufacturer's specifications, respectively [25]. Dengue cases were defined by a positive result in at least one of them and non-dengue by negative results in both. Positive specimens according to the reference test were tested by Dengue Serion ELISA classic dengue virus IgM and IgG tests (Virion/Serion, Würzburg, Germany) [26], according to manufacturers' specifications for characterization of primary and secondary cases, respectively.

Non-dengue patients were also tested for Zika virus with RT-PCR [27] to investigate co-circulation of these viruses.

The reference tests were performed at the Flavivirus Laboratory by two biologists blinded to the index test.

##### Statistical analysis

The qualitative variables were described by simple frequencies and the quantitative variables by the median with interquartile range (IQR) or minimum and maximum. Shapiro-Wilk test showed rejection of normality for the quantitative variables, indicating the use of a non-parametric test. Verification of association in the dengue and non-dengue groups used the Mann-Whitney

non-parametric test and Pearson's chi-square test for quantitative and qualitative variables, respectively.

To assess the performance of the index test, dengue NS1 ICT, in each setting using whole blood at point of care (POC) and serum in the laboratory in readings at 15' and 30', compared to the standard reference, the following measures of accuracy were considered: sensitivity (Sn), specificity (Sp), positive and negative predictive values (PPV, NPV), and positive and negative likelihood ratios (LR+) and (LR-) with the respective 95% confidence intervals (95% CI). Post-test probabilities were calculated for scenarios with prevalence rates of 30%, 50%, and 83.3%, using the Fagan nomogram [28].

The sensitivity and specificity of the index test in different settings were compared for using the  $\chi^2$  McNemar test [29].

Reliability was assessed by the variability of the ICT results in whole blood/POC and serum/laboratory with readings at 15 min. Inter-observer reliability was analyzed by the readings done by the two professionals (nurse and biologist) and intra-observer reliability by the same professional (nurse), in blinded fashion. The proportions of positive agreement (Ppos) and negative agreement (Pneg) were calculated, as well as simple and prevalence-adjusted bias-adjusted kappa (PABAK) coefficients with respective 95% CI [30]. Kappa values (k) were interpreted according to the classification by Landis & Koch [31]: poor ( $k < 0.0$ ), slight ( $0.0 < k < 0.2$ ), fair ( $0.2 < k < 0.4$ ), moderate ( $0.4 < k < 0.6$ ), substantial ( $0.6 < k < 0.8$ ), almost perfect ( $0.8 < k < 1.00$ ), and perfect agreement ( $k = 1$ ).

Statistical significance was set at  $p < 0.05$ .

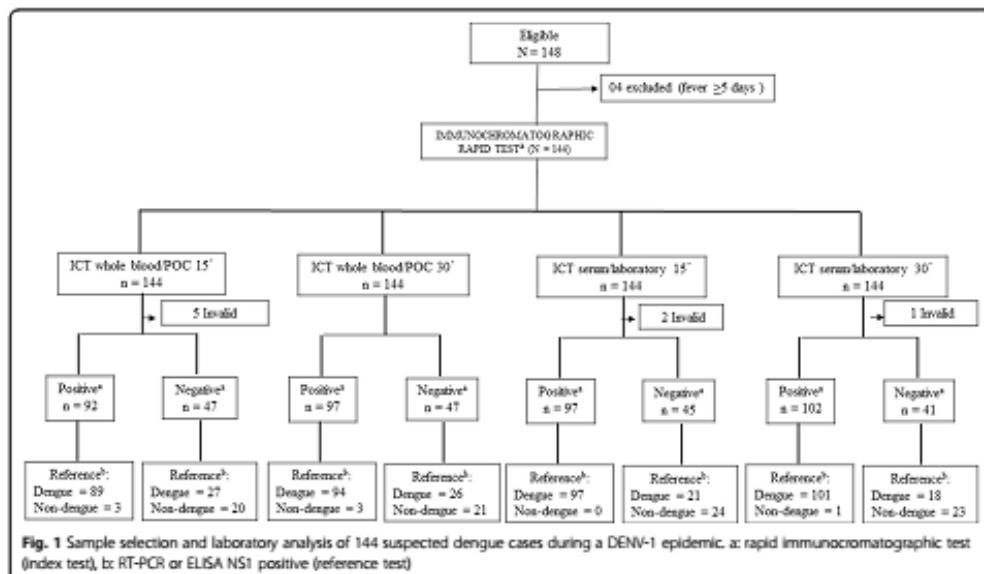
The software packages used were R Commander 3.2.1, WinPepi 11.50, and MedCalc 15.8 [32–34].

#### Results

Of 148 patients recruited, four were excluded due to five or more days of fever (Fig. 1). Of the 144 patients included, 52.8% were women. Patients' median age was 34.5 years, with higher ages in the dengue group (median: 36.1 years, ranging from 18 to 82.4) than in the non-dengue group (median: 27 years, ranging from 18.8 to 62.9),  $p = 0.019$ .

Patients presented a median of 1.4 days of fever (95% IQR: 1–2), and the most frequent symptoms were myalgia (91%), headache (89.6%), asthenia (83.3%), and arthralgia (73%). None of the patients evidenced clinical severity signs according to WHO 2009 criteria [4].

Prevalence of the disease was 83.3%. Of the 120 positive cases, 40.3% ( $n = 58$ ) were primary infections. The dengue virus was characterized by RT-PCR in 105 samples and 15 exclusively by NS1 ELISA. Four samples that were negative for dengue by RT-PCR and NS1 ELISA



were positive for Zika virus. One Zika Positive sample tested positive in IgM ELISA.

For all the five invalid cases on readings performed at 15 min in whole blood at POC, readings repeated at 30 min tested positive. For two serum samples at the laboratory showing invalid readings at 15 min, one turned positive at 30 min and the other remained invalid (Fig. 1).

ICT performance was similar in the two settings independently of reading times, both in the point estimate and 95% CI. Sensitivity of ICT with the 15-min reading varied from 76.7% in whole blood at point of care to 82.2% in serum in the laboratory. For the 30-min reading, sensitivity was 78.3% using whole blood at point of care and 84.9% in serum in the laboratory (Table 1). Specificity at 15-min was 87% for whole blood at point of care and 100% for serum at the laboratory. For 30-min readings, specificity was 87.5% for whole blood at point of care and 95.8% for serum in the laboratory.

Positive predictive value was high (Table 1) in the prevalence observed in the study (83.3%). In scenarios with prevalence rates of 30% (72.4% CI: 49.3–87.7) or 50% (86%, 95% CI: 69.3–94.3), the PPV remains high. The negative predictive value would increase to 78.9% (95% CI: 72.3–84.3) with a decrease in prevalence in a scenario with 50% prevalence and to 89.7% (95% CI: 85.9–92.6) in a scenario with 30% prevalence.

The reliability between whole blood/POC and serum/laboratory was almost perfect, when evaluated both by

the same observer ( $k = 0.83$  CI: 0.74–0.93) and by different observers ( $k = 0.81$  CI: 0.72–0.92), and remained almost perfect even when adjusted by prevalence bias. However, considering the lower limit of Kappa 95% Confidence Interval, reliability interpretation decreased from almost perfect to substantial both for inter-observer (0.73) and for intra-observer (0.75) (Table 2).

## Discussion

This study assessed the Bioeasy™ rapid immunochromatographic test for DENV-1 NS1 antigen in a high-prevalence setting with adults in Rio de Janeiro State, Brazil, and found similar performance when testing was compared in whole blood/POC and serum/laboratory.

This was the first study to date comparing the performance of NS1 Bioeasy™ ICT in two scenarios, one in a laboratory setting with professionals trained to perform diagnostic tests and the other in a real-world setting (point of care). The evaluation at POC was conducted in the spontaneous treatment flow in an emergency care unit during an epidemic period, with whole blood samples drawn by different professionals. The accuracy of NS1 Bioeasy™ ICT in whole blood/POC showed sensitivity of 76.7% and specificity of 87% at the 15-minute reading, similar to that found by Gan et al. [21] for Bioline™ ICT SD with whole blood/POC in a predominantly DENV-2 sample, i.e., Sn = 81.6%, 95% CI: 74.6–87.1 and Sp = 98%, 95% CI: 89.5–99.7.

**Table 1** Accuracy of Bioeasy™ rapid immunochromatographic test at point of care and in the laboratory

	Readings at 15'		Readings at 30'	
	Whole blood/POC <sup>a</sup>	Serum/Laboratory <sup>b</sup>	Whole blood/POC <sup>a</sup>	Serum/Laboratory <sup>b</sup>
Sensitivity	76.7% <sup>f</sup>	82.2% <sup>f</sup>	78.3% <sup>f</sup>	84.9% <sup>f</sup>
(95%CI)	(68.0–84.1)	(74.1–88.6)	(69.9–85.3)	(77.2–90.8)
Specificity	87.0% <sup>d</sup>	100.0% <sup>d</sup>	87.5% <sup>d</sup>	95.8% <sup>d</sup>
(95% CI)	(66.4–97.2)	(85.8–100.0)	(67.6–97.3)	(78.9–99.9)
PPV	96.7%	100.0%	96.9%	99.0%
(95%CI)	(90.8–99.3)	(96.3% - 100.0)	(91.2–99.4)	(95.4–99.8)
NPV	42.6%	53.3%	44.7%	56.1%
(95%CI)	(28.3–57.8)	(37.9–68.3)	(30.2–59.9)	(39.8–71.5)
LR+	5.9	19.8 <sup>g</sup>	6.27	20.4
(95%CI)	(2.0–17.0)	(2.9–135.1)	(2.2–18.1)	(3.0–139.0)
LR-	0.27	0.18	0.25	0.16
(95%CI)	(0.19–0.39)	(0.12–0.26)	(0.17–0.36)	(0.10–0.24)

POC point of care, 95% CI 95% confidence interval, PPV positive predictive value, NPV negative predictive value, LR+ positive likelihood ratio, LR- negative likelihood ratio

<sup>a</sup>Performed with whole blood

<sup>b</sup>Performed with serum

<sup>c</sup>P-value <0.01

<sup>d</sup>P-value >0.05 of  $\chi^2$  McNemar test

<sup>e</sup>LR+ calculated using 97.9% specificity

DENV-1 ICT in serum in the laboratory showed a slight increase in accuracy, i.e., Sn = 82.2% and Sp = 100%. The literature reports variability in sensitivity according to serotype, with better performance in serotypes 1, 2, and 3, varying from 69% [7] to 81.8% [8] in DENV-1, from 62% [7] to 81.8% in DENV-2, and from 61.3% to 81.2% [8] in DENV-3, as compared to variation from 44.5% [23] to 84.8% [8] in DENV-4, so that the tests need to be improved in order to perform independently of serotype.

NS1 ICT manufacturers recommend readings at 15 or 20 min [13, 35]. However, in the current study five cases of whole blood specimens at point of care that were invalid at 15 min turned positive at 30 min, and one of the two invalid results at 15 min with serum in the laboratory turned positive at 30 min. Dussart et al. [8] and Osorio et al. [14] used ICT with serum in the laboratory

**Table 2** Reliability at 15' of rapid immunochromatographic test comparing whole blood/POC and serum/laboratory

	Kappa	Ppos	Pneg	PABAK
Inter-observer <sup>a</sup> (n = 135)	0.81	94%	86.7%	0.83
(95% CI)	(0.73–0.88)	(90.6–97.3)	(79.6–93.8)	
Intra-observer <sup>b</sup> (n = 137)	0.82	94.2%	87.6%	0.84
(95% CI)	(0.75–0.89)	(90.9–97.5)	(80.8–94.5)	

Kappa simple kappa, Ppos positive proportion, Pneg negative proportion, PABAK prevalence-adjusted bias-adjusted kappa, 95% CI confidence interval, n absolute number

<sup>a</sup>Inter-observer: nurse (blood/POC) and biologist (serum/laboratory)

<sup>b</sup>Intra-observer: nurse (blood/POC and serum/laboratory)

and also reported improved accuracy at the 30-min reading.

The high number of false-negatives suggests that this ICT should not be used to screen for cases, as recommended even by the manufacturer [13] and Andries et al. [15]. The low number of false-positives and the high likelihood of post-testing in this study suggest that the test could be used for diagnostic confirmation. Robustness of this result is strengthened by the use of composite reference test, comprising PCR Dengue [24] and ELISA Dengue NS1 Platelia. The latter has shown very high specificity (100%) in DENV-1 in a previous study [36].

Inter and intra-observer reliability was almost perfect in this study independently of the type of specimen examined (whole blood or serum), the setting (POC or laboratory), and the level of training of the professionals that performed the test. This result corroborates Gan et al. [21].

Evidence for Zika and Dengue cross reactivity has, so far, been identified for IgM ELISA dengue but not for ELISA NS1 dengue tests [27, 37]. In our study, one of four Zika positive samples showed cross-reactivity with IgM Dengue ELISA, but none cross-react with NS1 ELISA Dengue. Increasingly acute febrile syndromes will demand investigation for several flaviviruses.

A possible limitation to the study was the high prevalence of dengue, but the post-test likelihoods were provided for different prevalence scenarios. The evaluation of a single serotype, DENV-1, may have been a

limitation, but it resulted from a consecutive patient sample in an epidemic period. The comparison of whole blood/POC and serum/laboratory precludes other comparisons such as serum/POC and whole blood/laboratory, but it represents the possible routine use in emergency care departments without the necessary infrastructure for processing serum specimens during epidemics.

Considering NS1 Bioeasy™ ICT an ASSURED test [6], these recommendations may be particularly useful at sites without laboratory infrastructure or in hyperendemic scenarios, since they would offer faster turnaround of test results, thus favoring diagnosis in emergencies or remote sites [16].

In health services with some laboratory infrastructure, we recommend the use of NS1 ICT with serum in the laboratory, since it is approximately three times more positive in individuals with dengue than without (LR + = 19.8) when compared to whole blood specimens at point of care (LR + = 5.9). However, in services without laboratory infrastructure or during DEN-V 1 epidemics, we recommend screening according to WHO criteria [4] based on clinical signs followed by NS1 Bioeasy™ ICT in whole blood/POC and reading at 15 min and rereading of invalid results at 30 min.

In addition, investment to improve the performance of these tests in whole blood would allow better diagnostic confirmation, potentially optimizing the flow and efficiency of care and treatment. Training strategies for different levels of health professionals involved in performing and reading the NS1 ICT in whole blood at point of care can guarantee the reliability and adequate implementation in the clinical management of suspected cases.

## Conclusions

Bioeasy™ NS1 antigen rapid immunochromatographic test showed a good accuracy during the epidemic of DENV-1, particularly for confirmatory diagnosis. It may be useful at the point of care, with no more than a drop of whole blood, since it is rapid and simple to do by minimal trained health personnel. In this context, Bioeasy™ is relevant for the early diagnosis of dengue, particularly at sites without laboratorial infrastructure and in epidemic or hyperendemic scenarios.

## Abbreviations

ASSURED: Affordable, sensitive, specific, user-friendly, robust, rapid, equipment-free, and deliverable to those who need them; C: Control line; CI: Confidence interval; DALYs: Disability-adjusted life years; DENV: Dengue virus; DENV-1: Dengue virus serotype 1; DENV-2: Dengue virus serotype 2; DENV-3: Dengue virus serotype 3; DENV-4: Dengue virus serotype 4; EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acid; ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay; ICR: Immunochromatographic rapid test; IgG: Immunoglobulin G; IgM: Immunoglobulin M; Kappa: Simple Kappa; LR-: Negative likelihood ratio; LR+: Positive likelihood ratio; NPV: Negative predictive value; NS1: Nonstructural protein-1; PABAK: Prevalence and bias adjusted kappa; POC: Point of care; PPV: Positive predictive value; RT-PCR: Reverse-

transcription polymerase chain reaction; S: Sensitivity; Sp: Specificity; STARD: Standards for Reporting of Diagnostic Accuracy Study; T: Test line; WHO: World Health Organization

## Acknowledgements

The authors wish to thank for field work, Rogério Ferrari, Ana Victória Palagi Viganó, Indira Firmino Brito and Letícia Borges dos Santos.

## Funding

This study was supported by the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) [grant numbers 401,366/2013–8] - Brazilian Network for Technological and Health Assessment (REBRATS), Excellence Program in Clinical Research of the Oswaldo Cruz Foundation (PROEP/PCLIN) [grant numbers N° 402,068/2012–2] and the Foundation for Research Support in the State of Rio de Janeiro (FAPERJ) [grant numbers E-25/110.188/2014], Fellowship grant from CNPq [grant numbers 311,414/2013–3] and UNESA - Productivity Research to [SRLP] and scholarship from FAPERJ [grant numbers 221,354 E\_01/2016] to [VEM].

## Availability of data and materials

The datasets analyzed during the current study is available from the corresponding author upon request.

## Authors' contributions

VEM conceived of the study, participated in its design, data collection, recording, carried out rapid immunochromatographic test and coordination and helped to draft the manuscript. SRLP conceived of the study, participated in its design and coordination and helped to draft the manuscript. YMHM and MABS participated in the study design, data analysis and interpretation and helped to draft the manuscript. GMB, LVBF and ACFSRM participated in its design, data collection and recording. CDSR and ASS carried out the immunoassays, viral characterization and writing the manuscript. RVCO participated in the design of the study and performed the statistical analysis. All authors read and approved the final manuscript.

## Ethics approval and consent to participate

The study was approved by the Institutional Review Board of the Evandro Chagas Clinical Research Institute (CAAE 0066.0.009.000-11). All patients signed the free and informed consent form.

## Consent for publication

Not applicable.

## Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

## Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

## Author details

<sup>1</sup>Av. Brasil 4036 sala 201 A, CEP 21040-361 Rio de Janeiro, RJ, Brazil. <sup>2</sup>Rua Leopoldo Bulhões 1480 sala 601, Rio de Janeiro, RJ CEP 21040-361, Brazil. <sup>3</sup>Av. Brasil 4365, CEP 21040-360 Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

Received: 2 March 2017 Accepted: 10 August 2017

Published online: 29 August 2017

## References

- Guzman MG, Halstead SB, Artsob H, Buchy P, Famar J, Gubler DJ, et al. Dengue: a continuing global threat. *Nat Rev Microbiol*. 2010;8(12 Suppl):S7–16.
- Constenla D, Arminen B, Amedondo J, Carabali M, Carrasquilla G, Castro R, et al. Costing dengue fever cases and outbreaks: recommendations from a costing dengue working group in the Americas. *Value Health Reg Issues*. 2015;8C:80–91.
- Shepard DS, Undurraga EA, Halasa YA, Stanaway JD. The global economic burden of dengue: a systematic analysis. *Lancet Infect Dis*. 2016;16(8):935–41.
- World Health Organization. Dengue – Guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. Geneva: WHO; 2009. p. 11. <http://www.who.int/hdr/publications/documents/dengue-diagnosis.pdf>. Accessed 09 Apr 2016.

5. Goodman C, Faulkner E, Gould C, Kames E, Smith A, Aguiar C, et al. The Value of Diagnostics Innovation, Adoption and Diffusion into Health Care. The Lewin Group, Inc. *AdvaMed*. 2005. <https://dx.advamed.org/sites/dx.advamed.org/files/resource/Lewin%20Value%20of%20Diagnostics%20Report.pdf>. Accessed 15 Dec 2016.
6. Peeling RW, Mabey D. Point-of-care tests for diagnosing infections in the developing world. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16(8):1062–9.
7. Fry SR, Meyer M, Semple MG, Simmons CP, Sekaran SD, Huang JX, 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*. 2011;5(6):e1199.
8. Dussart P, Petit L, Labeau B, Bernald L, Leduc A, Moua D, 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*. 2008;2(8):e280.
9. Pok KY, Lai YL, Sng J, Ng LC. Evaluation of nonstructural 1 antigen assays for the diagnosis and surveillance of dengue in Singapore. *Vector-Borne and Zoonotic Dis*. 2010;10(10):1009–16.
10. Tricou V, Vu HT, Quynh NN, Nguyen CW, Tran CT, Famar J, et al. Comparison of two dengue NS1 rapid tests for sensitivity, specificity and relationship to viraemia and antibody responses. *BMC Infect Dis*. 2010;10:142.
11. Lima MdRQ, Nogueira RMR, Schatzmayr HG, Santos FBd. Comparison of three commercially available dengue NS1 antigen capture assays for acute diagnosis of dengue in Brazil. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010;4(7):e738.
12. Ferraz FO, Bomfim MRQ, Tosta AH, Ávila TV, Casalino D, Pessanha JM, et al. Evaluation of laboratory tests for dengue diagnosis in clinical specimens from consecutive patients with suspected dengue in Belo Horizonte, Brazil. *J Clin Virol*. 2013;58(4):4–6.
13. Dengue Eden Test Bioeasy®. Korea Bioeasy Diagnóstica Ltda. 2015. <http://www.masterdiagnostica.com.br/public/files/produtos/139421463113942146313263116009.pdf>. Accessed 6 May 2017.
14. Osorio L, Ramirez M, Bonelo A, Villar LA, Parra B. Comparison of the diagnostic accuracy of commercial NS1-based diagnostic tests for early dengue infection. *Viral J*. 2010;7:361.
15. Andries AC, Duong V, Ngan C, Ong S, Huy R, Strain KK, 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*. 2012;6(12):e1993.
16. Pal NP, Vadnais C, Denkinger C, Engel N, Pal M. Point-of-care testing for infectious diseases: diversity, complexity, and barriers in low- and middle-income countries. *PLoS Med*. 2012;9(9):e1001306.
17. Ty Hang V, Minh Nguyen N, The Trung D, Tricou V, Yoksan S, Dung NM, et al. Diagnostic accuracy of NS1 ELISA and lateral flow rapid tests for dengue sensitivity, specificity and relationship to viraemia and antibody responses. *PLoS Negl Trop Dis*. 2009;3(1):e360.
18. Palamountain KM, Baker J, Cowan LP, Essajee S, Mazzola LT, Metzler M, et al. Perspectives on introduction and implementation of new point-of-care diagnostic tests. *J Infect Dis*. 2012;205(Suppl 2):S181–90.
19. Martínez-Veja RA, Díaz-Quijano FA, Coronel-Ruiz C, Gómez SY, Villar-Centeno LA. Evaluación de la utilidad de la prueba rápida de casete por inmunocromatografía para el diagnóstico de dengue en una región endémica colombiana. *Biomedica*. 2009;29:616–24.
20. Hunsperger EA, Yoksan S, Buchy P, Nguyen VC, Sekaran SD, Enria DA, 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*. 2014;8(10):e1171.
21. Gan VC, Tan L-K, Lye DC, Pok K-Y, Mok S-Q, Chua RC-R, et al. Diagnosing dengue at the point-of-care: utility of a rapid combined diagnostic kit in Singapore. *PLoS ONE*. 2014;9(3):e90037.
22. Korevaar DA, Wang J, van Erst WA, Leeflang MM, Hooft L, Smidt N, et al. Reporting diagnostic accuracy studies: some improvements after 10 years of STARD. *Radiology*. 2015;274:781–9.
23. Buonoira SN, Passos SRL, do Carmo CN, Quintela FM, de Oliveira DNR, dos Santos FB, et al. Accuracy of clinical criteria and an immunochromatographic strip test for dengue diagnosis in a DEN-4 epidemic. *BMC Infect Dis*. 2016;16:37.
24. Lanciotti RS, Calisher CH, Gubler DJ, Chang GJ, Vorndam AV. Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol*. 1992;30(3):545–51.
25. Platelia™ Dengue NS1 AG®. France: Bio-Rad Laboratories, Inc. 2008. [https://www.biorad.com/webroot/web/pdf/inserits/CDG/en/72830\\_881149\\_EN.pdf](https://www.biorad.com/webroot/web/pdf/inserits/CDG/en/72830_881149_EN.pdf). Accessed 6 May 2017.
26. Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, Velez JO, Lambert AJ, Johnson AJ, et al. Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerg Infect Dis*. 2008;14(8):1232–9.
27. Serion Elisa Classic Dengue Virus IgG/IgM Writon/Serion®. Germany: Institut Writon/Serion GmbH. 2012. [http://www.writonserion.de/download/flyer/flyer\\_ELISA\\_classic\\_Dengue\\_Virus\\_EN.pdf](http://www.writonserion.de/download/flyer/flyer_ELISA_classic_Dengue_Virus_EN.pdf). Accessed 6 May 2017.
28. Fagan TJ. Nomogram for Bayes theorem [letter]. *N Engl J Med*. 1975;293(5):257.
29. Tajman A, Lutz RR, McNamee J. 2 test revisited: comparing sensitivity and specificity of diagnostic examinations. *Scand J Clin Lab Invest*. 2007;68(1):77–80.
30. Byrt T, Bishop J, Carlin JB. Bias, prevalence and kappa. *J Clin Epidemiol*. 1993;46(5):423–9.
31. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*. 1977;33:159–74.
32. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing; 2015. <https://www.r-project.org/>.
33. Abramson JH. WINPEPI updated: computer programs for epidemiologists, and their teaching potential. *Epidemiol Perspect Innov*. 2011;8:1.
34. MedCalc Statistical Software version 12.7.8. Ostend: MedCalc Software bvba; 2014. <http://www.medcalc.org>.
35. IVD Dengue Ag NS1 OrangeLife®. Brazil: OrangeLife comércio e indústria Ltda. 2016. <http://www.dmed.com.br/manuais/dengue/orangelife.pdf>. Accessed 07 Jan 2016.
36. Pal S, Dauner AL, Mitra I, Forshey BM, Garcia P, Morrison AC, Halsey ES, Kochel TJ, Wu SJ. Evaluation of dengue NS1 antigen rapid tests and Elisa kits using clinical samples. *PLoS One*. 2014;9(11):e113411.
37. Mathes S, Boukhari R, Labeau B, Ernaut V, Bernald L, Kazanj M, Rousset D. Specificity of Dengue NS1 antigen in differential diagnosis of dengue and Zika virus infection. *Emerg Infect Dis*. 2016;22(8):1691–2.

Submit your next manuscript to BioMed Central and we will help you at every step:

- We accept pre-submission inquiries
- Our selector tool helps you to find the most relevant journal
- We provide round the clock customer support
- Convenient online submission
- Thorough peer review
- Inclusion in PubMed and all major indexing services
- Maximum visibility for your research

Submit your manuscript at  
[www.biomedcentral.com/submit](http://www.biomedcentral.com/submit)





### 4.3 ESTUDO 3 - Revisão sistemática de testes rápidos imunocromatográficos para o diagnóstico precoce da dengue.

*Systematic review registration:* PROSPERO CRD42014009885, realizado em 2014.

**Situação:** Avaliação da versão final do manuscrito por parte dos autores antes do envio para tradução.

**Revista pretendida para a submissão:** *Annals of Internal Medicine* (Qualis: A1)

Verónica Elizabeth Mata – Oswaldo Cruz Foundation – Scholarship from FAPERJ [grant numbers 221354 E\_01/2016]. E-mail: [veronica.mata@ini.fiocruz.br](mailto:veronica.mata@ini.fiocruz.br). Av. Brasil 4036 sala 201 A, CEP 21040-361, Rio de Janeiro/RJ, Brasil. Corresponding author.

Carlos Augusto Ferreira de Andrade – Oswaldo Cruz Foundation.

Sonia Regina Lambert Passos – Oswaldo Cruz Foundation.

Yara Hahr Marques Hökerberg - Oswaldo Cruz Foundation

Levy Vilas Boas Fukuoka – Oswaldo Cruz Foundation.

Suzana Alves da Silva – National Institute of Cardiology.

#### RESUMO

O vírus do dengue tornou-se um grave problema de saúde pública devido à sua morbidade, colocando em risco cerca de 40% da população mundial. Atualmente o diagnóstico é baseado na presença de sinais e sintomas inespecíficos. Testes rápidos imunocromatográficos (TRI) parecem poder auxiliar no diagnóstico desta doença. Revisões sistemáticas sobre estes testes apontam alta especificidade e sensibilidades discrepantes. **Objetivo:** Avaliar a literatura disponível quanto à acurácia dos diversos (TRI) com padrão de referência PCR, ELISA ou isolamento viral. **Fontes de dados:** Artigos de revistas ou anais de congressos foram pesquisados nas bases de dados *Pubmed, Bireme, Science Direct, Google Scholar, Scopus, Web of Science, Ovid Medline JBrigs, SCIRUS e EMBASE*, desde a data de início das bases até dezembro de 2014. **Seleção dos estudos:** Pares de revisores independentemente selecionaram estudos pelos resumos e avaliaram os artigos selecionados na íntegra. Cada etapa foi mediada por consenso entre as duplas. Discordâncias nos consensos foram resolvidas com um terceiro revisor externo à dupla. **Extração de dados:** Dados necessários para a análise descritiva e os referentes à acurácia dos TRI foram extraídos através de ficha de

extração elaborada para este estudo. **Síntese de dados:** Empregou-se o modelo de efeitos aleatórios para gerar a estimativa global da precisão do diagnóstico de cada tipo de teste avaliado. **Limitações:** Destacamos a baixa qualidade metodológica dos estudos incluídos, a ausência de dados para caracterização adequada das amostras, além da alta heterogeneidade entre os estudos. **Conclusões:** TRI NS1 apresentam o melhor desempenho combinado na fase aguda da doença. Entretanto, devido seu poder confirmatório e não de triagem, devem ser acoplados a um algoritmo diagnóstico.

**Registro:** PROSPERO CRD42014009885.

**Financiamento:** Rede Brasileira de Avaliação de Tecnologias em Saúde (REBRATS) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ).

## INTRODUÇÃO

O dengue é uma doença viral aguda causada por um vírus transmitido principalmente pelos mosquitos *Aedes aegypti*. Trata-se de um flavivírus carregado por artrópodes com quatro sorotipos distintos: DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4, que constituem um complexo antigênico do gênero *flavivírus* da família *Flaviviridae* (1).

O vírus está presente em mais de 100 países na região da Ásia-Pacífico, Américas, Oriente Médio e África, tornando-se um dos problemas mais graves de saúde pública de muitos desses países devido à sua morbidade (2-4).

Anualmente, este vírus, coloca em risco cerca de 3 bilhões de pessoas (40% da população mundial) em regiões tropicais e subtropicais, com 50 a cem mil infecções a cada ano (3-5).

A apresentação clínica desta infecção é muito heterogênea (6), assemelhando-se a de outras doenças febris agudas como malária, tifo, rickettsioses, chikungunya e leptospiroses (7). Consequentemente, para otimizar o diagnóstico tornam-se necessários testes rápidos com boa acurácia para o manejo de casos, principalmente em situações de epidemias.

Dentre os testes, a pesquisa da proteína não estrutural 1 (NS1) desempenha um importante papel no diagnóstico precoce da febre do dengue (FD) (até sete dias após o início dos sintomas) (8). Entretanto, o elevado número de casos falso positivos e falso negativos exige novas amostras para confirmação do diagnóstico, como pesquisa de IgM/IgG, cultura viral, teste da *Polymerase Chain Reaction* (PCR) ou da *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA) (9).

Diversos estudos compararam TRI para dengue com testes de referência, porém sua acurácia diagnóstica não foi avaliada de maneira adequada, principalmente devido à multiplicidade de desenhos de estudo, como caso-controle diagnóstico ou seccionais, e técnicas de avaliação utilizadas (PCR, ELISA NS1, MAC ELISA, isolamento viral, ou a combinação deles) (10).

Encontramos três revisões sistemáticas com meta-análise sobre o tema (4,6,11). O estudo desenvolvido por Alagarasu et al (2016) (11), incluiu apenas três publicações sobre TRI IgA. Outra meta-análise incluiu nove estudos sobre TRI NS1 (4) e a revisão sistemática de Blacksell *et al* (2012), avaliou um único teste comercial (TRI Panbio®) em 11 estudos, mostrando ampla variabilidade entre eles (6). Estas revisões apontam alta especificidade dos TRI, todavia com sensibilidades discrepantes, tornando necessária uma avaliação crítica, que contemple os diversos tipos de TRI disponíveis no mercado e atualizada.

Este estudo teve como objetivo rever a literatura quanto à acurácia dos diversos TRI que utilizem como padrão de referência qualquer tipo de PCR, ELISA ou isolamento viral, em casos suspeitos de dengue com até sete dias de início do quadro febril para os TRI NS1 e sem restrição de dias de febre para TRI IgA, IgM/IgG ou NS1/IgM/IgG.

## **MÉTODOS**

Revisão sistemática da literatura, seguindo o *guideline Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA) (12).

### **Fonte de dados e estratégia de busca**

A questão de pesquisa foi estruturada no formato do acrônimo PICO:

População: Amostras de sangue/soro ou plasma de pacientes suspeitos de dengue com até sete dias de febre na fase aguda da doença e sem limite de tempo na fase convalescente.

Intervenção: Testes rápidos imunocromatográficos com detecção de IgA, NS1, IgM/IgG e NS1/IgM/IgG, interpretados em até 60 minutos.

Comparador: PCR, ELISA, isolamento viral ou ainda a combinação de dois ou três destes testes.

Outcome: sensibilidade, especificidade, razões de verossimilhança e valores preditivos positivos e negativos de TRI para dengue, além de informações sobre as medidas de tempo e efeito, conforme o caso.

Desenho de estudo: estudos de intervenção, seccionais, de coorte ou caso controle.

Buscas por artigos de revistas ou anais de congressos, foram realizadas nas bases de dados eletrônicas *Pubmed, Bireme, Science Direct, Google Scoolar, Scopus, Web of Science, Ovid Medline JBrigs, SCIRUS e EMBASE*, sem restrição de idiomas.

Foram excluídos testes índice do tipo ELISA ou outros que não fossem imunocromatográficos, assim como estudos com padrão de referência inapropriado, ou seja que não utilizassem PCR, ELISA ou isolamento viral, conforme recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Estudos com tamanho amostral inferior a 30 pacientes, com dados insuficientes para cálculo da acurácia, também foram excluídos desta revisão.

O programa *Zotero Standalone 4.0 for Windows* foi utilizado para busca e arquivamento das referências (13). Para a busca inicial foram utilizadas na base MEDLINE via Pubmed as palavras-chaves: ("*dengue/diagnosis*"[*MeSH Terms*]) AND (*diagnostic reagents and test kits* [*MeSH Terms*]), gerando a seguinte estratégia: "humans"[*MeSH Terms*] AND ("Dengue" OR "Dengue Virus") AND (sensitivity\*[*Title/Abstract*] OR specificity[*Title/Abstract*] OR "sensitivity and specificity"[*Mesh Terms*] OR "Reference Values"[*Mesh*] OR diagnos\*[*Title/Abstract*] OR diagnosis[*Mesh*] OR diagnosis[*Subheading*]) AND (((*"Serologic Tests"* OR *Immunoassay* OR " Reagent Kits, Diagnostic") AND (*Bedside* OR *Rapid*)) OR "*Point-of-Care Systems*" OR "*NS1*" OR "*NS-1*" OR "*Viral nonstructural proteins*" OR *Immunochromatogra\** OR *Immunochromatography* OR *bioeasy* OR *bioline* OR *boline* OR *panbio* OR *core* OR *ag-strip* OR *strip* OR *Duo* OR *biorad* OR "*Reagent Strips*"). Estratégias equivalentes também foram utilizadas nas demais bases de dados.

### **Seleção de estudos**

Inicialmente dois pares de revisores (VEM/CAFA e LVBF/SRLP) selecionaram de maneira independente os estudos pelos resumos. Reuniões de consenso foram realizadas e, quando existiram discordâncias, um terceiro revisor externo à dupla opinou sobre a relevância dos artigos. Na segunda etapa, pares de revisores (VEM/CAFA e VEM/SRLP) leram os artigos na íntegra, também de maneira independente.

Discordâncias surgidas nas reuniões de consenso de cada dupla, também foram resolvidas com um terceiro revisor externo à dupla.

### **Extração de dados e avaliação da qualidade dos estudos selecionados**

As buscas foram realizadas desde a data inicial para a qual a base encontra-se disponível até dezembro de 2014. A ferramenta Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies (QUADAS 2) (14) foi utilizada para avaliação da qualidade dos artigos selecionados, o risco de viés e questões inerentes à aplicabilidade, também por dois pares independentes de pesquisadores. Esta ferramenta é formada por 14 itens, distribuídos em quatro domínios que avaliam o flow and timing, reference standard, index test, and patient selection.

### **Síntese e análise dos dados**

A análise descritiva e a sistematização da informação coletada foram realizadas através de uma ficha de extração de dados elaborada para este estudo.

O teste utilizado como "padrão de referência" foi comparado com o teste índice para definir os valores verdadeiro positivo (VP), falso-positivo (FP), falso-negativo (FN) e verdadeiro-negativo (VN). Foram calculadas as medidas de acurácia diagnóstica, sensibilidade ( $S_n$ ), especificidade ( $S_p$ ), valores preditivos positivo (VPP) e negativo (VPN) e razões de verossimilhança positiva (LR +) e negativa (LR-), assim como a razão de chances diagnóstica (DOR).

Também foram calculadas curvas *Hierarchical Summary Receiver Operating Characteristic* (HSROC) (15) com suas respectivas regiões de predição e confiança. As análises foram realizadas nos softwares *Winpepi* (16) e *Stata XIV* (17).

A estatística  $I^2$  foi calculada para detectar qualquer heterogeneidade significativa geral e entre os subgrupos (18). Valores de  $I^2$  maiores do que 50% foram considerados heterogêneos.

Na presença de heterogeneidade significativa, empregou-se o modelo de efeitos aleatórios (19). Foi realizada uma meta-análise a partir da combinação dos resultados dos estudos individuais gerando uma estimativa global da precisão do diagnóstico.

A avaliação do viés de publicação foi realizada através do gráfico de Deek's (20). Já a análise de sub-grupo foi realizada por tipo de TRI (IgA, NS1,

IgM/IgG/NS1/IgM/IgG), por fase da doença (aguda ou convalescente) e pela marca comercial de TRI mais avaliado em cada subgrupo.

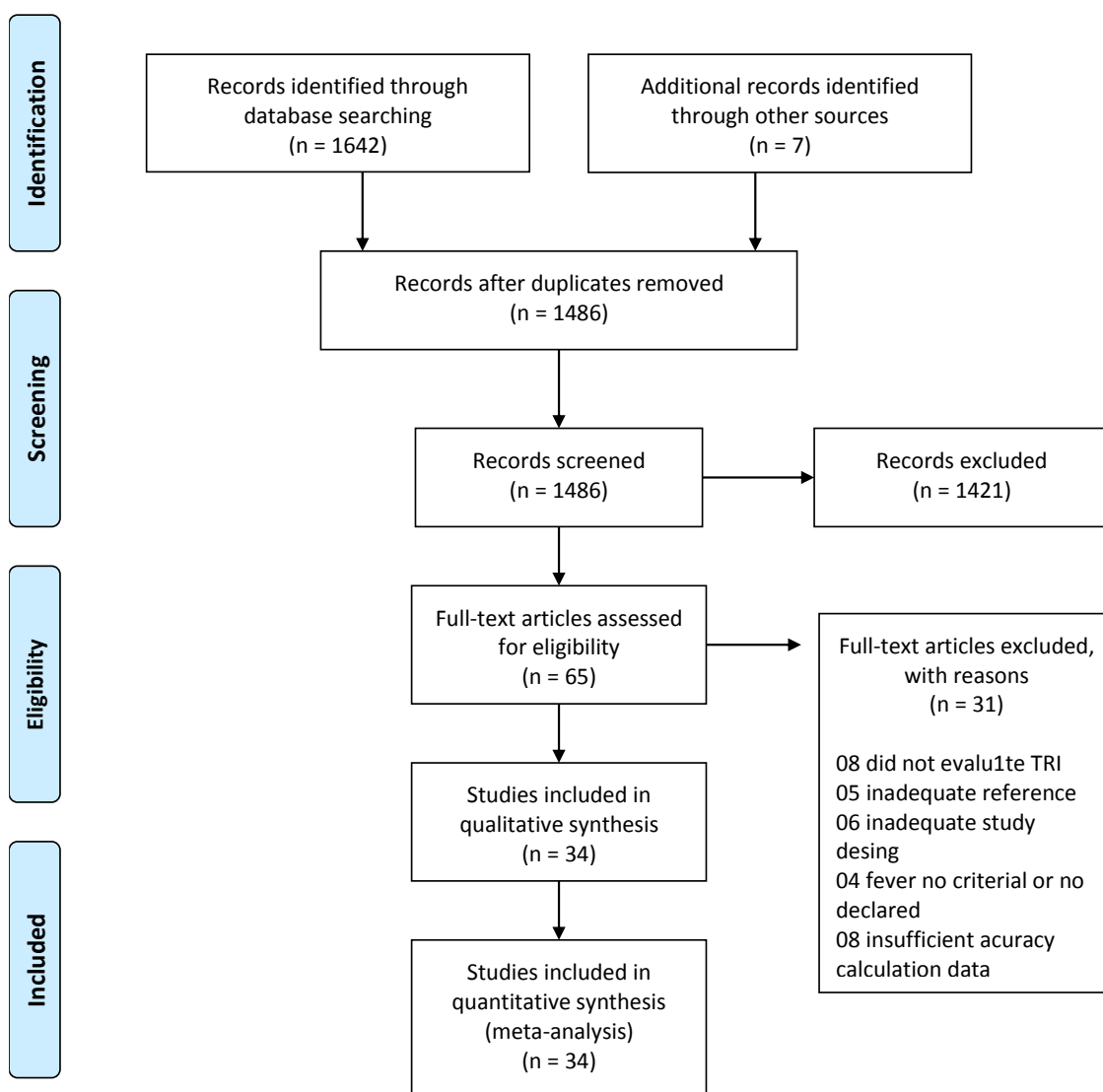
### **Financiamento**

This study was supported by the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) [grant numbers 401396/2013-4 - Brazilian Network for Technological and Health Assessment (REBRATS) and the Foundation for Research Support in the State of Rio de Janeiro (FAPERJ) [grant numbers E-25/110.188/2014]. Scholarship from FAPERJ [grant numbers 221354 E\_01/2016] to [VEM].

### **RESULTADOS**

Foram inicialmente identificadas 1649 publicações. Após remoção das duplicatas, foram avaliados 1486 resumos e selecionados para leitura na íntegra 65 artigos, dos quais foram aprovados 34 para compor a revisão (Figura 1). Os estudos apresentaram avaliação de múltiplos testes com diferentes analitos, cinco deles avaliaram TRI IgA (21-25), 20 TRI NS1 (8,25-43), 17 TRI IgM/IgG (33,37-38,42-53) e cinco TRI NS1/IgM/IgG (33-34,36-37,40), simultaneamente (Apêndice tabela 1).

**Figura 1 – Fluxograma de selecção de publicações.**



### Descrição dos estudos

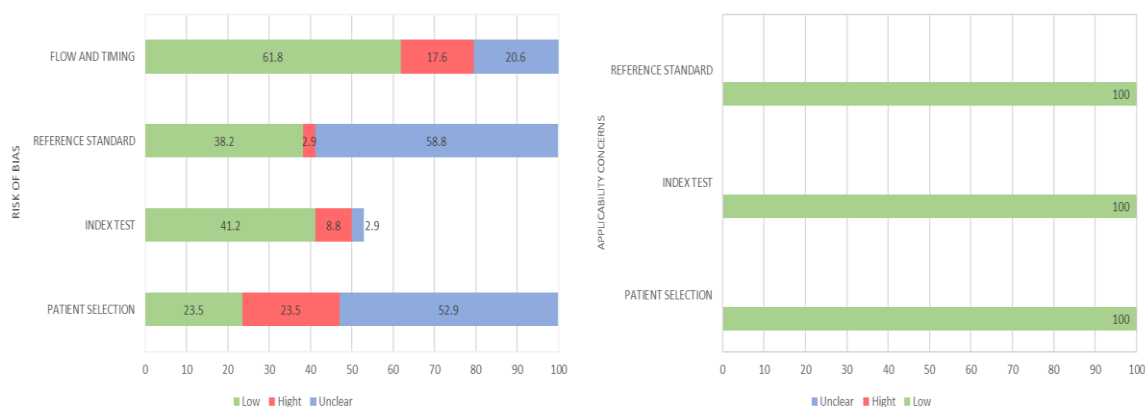
Os continentes mais avaliados foram Ásia com 61.8% das publicações e o continente americano com 32.4%, sendo predominante empregada a língua inglesa nas publicações (32/34).

Os estudos incluídos analisaram 19 TRI usando como padrões de referência os métodos RT-PCR, real time-PCR, PCR semi-nested, ELISA NS1, ELISA IgM, ELISA IgG, MAC ELISA (IgM), GAC ELISA (IgG) ou isolamento viral (Apêndice tabela 1).

## Avaliação da qualidade dos estudos

De acordo com a avaliação da qualidade metodológica realizada com a ferramenta QUADAS 2, dos 34 estudos incluídos apenas três não apresentaram risco de viés (figura 2) (Apêndice quadro 1).

**Figura 2 – Apresentação gráfica dos resultados do QUADAS 2 para os estudos incluídos.**



## Avaliação global dos testes imunocromatográficos

Um total de 9991 amostras de pacientes suspeitos de infecção pelo vírus do dengue foram recrutadas (mediana 231, IIQ: 43 – 914) nos 34 estudos selecionados para esta revisão. Destes, 4738 apresentaram diagnóstico confirmado pelo padrão de referência (mediana 134, IIQ: 22 - 326) e 5253 foram consideradas negativos (mediana 91, IIQ: 12 - 828).

Apenas dezenove estudos relataram os sorotipos avaliados, totalizando 980 casos de DENV-1, 734 DENV-2, 439 DENV-3 e 161 DENV-4 (Apêndice tabela 2). Já a sensibilidade dos testes variou de 19% (48) a 99% (21,30) e a especificidade de 73% (24) a 100% (26-28, 31-32, 34-35, 41, 44-45, 49-50) (Apêndice tabela 3).

Os TRI na avaliação global, independentemente do método de detecção do vírus evidenciaram sensibilidade de 75.3% e especificidade de 97.4%. O valor preditivo positivo foi de 96.4% (IC 95% 95.8 – 96.9) e o negativo de 80.9% (IC 95% 80.2 – 81.6) (Tabela 1). A Odds Ratio Diagnóstica foi de 113.5 (IC 95% 53.9 – 238.7). Não foi evidenciado viés de publicação (valor de  $p = 0.69$ ).



## **Avaliação dos testes imunocromatográficos segundo técnica de detecção do vírus dengue**

### **Testes rápidos imunocromatográficos com detecção de IgA**

Um total de 2051 amostras de pacientes suspeitos de infecção pelo vírus do dengue foram analisadas (mediana 342, IIQ: 100 – 914) nos cinco estudos selecionados para esta parte da revisão (21-25). Apenas um estudo (23) relatou os sorotipos avaliados, totalizando 103 casos do sorotipo 1 e 69 do sorotipo 2 (Apêndice tabela 2).

A análise combinada dos testes IgA evidenciou sensibilidade de 88% e especificidade de 90,4%. O valor preditivo positivo foi de 89,3% (IC 95% 87,4 – 90,9) e o negativo de 89,3% (IC 95% 87,5 – 90,8) (Tabela 1). A Odds Ratio diagnóstica foi de 68.9 (IC 95% 15.2 – 312). A figura 3 mostra o gráfico da curva HSROC onde pode ser observada a acurácia e as regiões de confiança e de predição dos estudos individuais analisados.

Não foi possível avaliar o viés de publicação para estes testes devido ao reduzido número de estudos incluídos na análise.

Quando avaliados os TRI com detecção de IgA segundo o tipo de amostra, seja aguda ou convalescente, a medida combinada de acurácia na fase aguda apresentou menor sensibilidade ( $S_n=81.3\%$ , IC 95% 70.4 – 88.8) e maior especificidade ( $S_p=92.0\%$ , IC 95% 76.8 – 97.6) e razões de verossimilhança positiva de 10.2 (IC 95% 3.13 – 33.3) e negativa de 0.2 (IC 95% 0.12 – 0.34). Na fase convalescente a sensibilidade foi de 94.4% (IC 95% 90.8 – 96.6), a especificidade de 81.8% (IC 95% 69.7 – 89.8),  $LR_+ = 5.19$  (IC 95% 2.96 – 9.10) e  $LR_- = 0.07$  (IC 95% 0.04 – 0.12) (Apêndice tabela 3).

Apenas o estudo de Hernández et al (2012) (23) avaliou o desempenho por sorotipo (DENV-1 e 2), evidenciando discrepâncias apenas na sensibilidade ( $S_n= 52,4\%$  no DENV-1 e 73,9% no DENV2) (Apêndice tabela 3).

A sensibilidade e especificidade sumárias do Assure Dengue Rapid Test (Singapura) foram 89% (IC 95% 70 – 97) e 92% (IC 95% 81 – 97), respectivamente, e a  $LR_+ = 11.5$  (IC 95% 4.3 – 30.9), a  $LR_- = 0.12$  (IC 95% 0.04 – 0.36), com Odds Ratio diagnóstica = 97 (IC 95% 17 – 549). Foi evidenciada alta heterogeneidade entre os estudos com  $I^2 = 93\%$  (IC 95% 86 – 99). Em cenários de prevalência de 25, 50 e 75% as probabilidades pós teste positivas foram 79 e 92% e as probabilidades pós teste negativas de 4 e 11%.

### **Testes rápidos imunocromatográficos com detecção de NS1**

Vinte estudos avaliaram testes imunocromatográficos com detecção de NS1 até o sétimo dia de doença (8,25-43). Os testes foram avaliados em 6377 amostras de pacientes suspeitos de dengue (mediana 248, IIQ: 61 – 850). Apenas 13 dos 20 estudos relataram os sorotipos avaliados, totalizando 679 amostras de DENV-1, 540 de DENV-2, 409 de DENV-3 e 121 de DENV-4 (Apêndice tabela 2).

A medida combinada destes testes apresentou sensibilidade de 73.2% (IC 95% 66.2 – 79.2), especificidade de 98.8% (IC 95% 97.1 – 99.5), valores preditivos positivo de 98.6% (IC 95% 98.1 – 99.0) e negativo de 77.3% (IC 95% 76.3 – 78.3), e Odds Ratio Diagnóstica de 229.1 (IC 95% 87.9 – 597.4) (Tabela 1). A avaliação de viés de publicação dos estudos individuais incluídos não evidenciou viés de publicação (valor de  $p = 0.09$ ).

O Bio-Rad Dengue Rapid Test foi o teste com detecção da proteína NS1 mais avaliado, sendo avaliado em 13 estudos (8,26-35,37,40) (4347 amostras). A sensibilidade do teste variou de 49,4% (35) a 98,9% (30) e a especificidade entre 91% (28) a 100% (26-28,31-32,34-35,41) (Apêndice tabela 3).

A medida sumária para o Bio-Rad Dengue Rapid Test evidenciou sensibilidade de 78% (IC 95% 68 – 86), especificidade de 100% (IC 95% 98 – 100),  $LR+ = 176.49$  (IC 95% 36.68 – 849.15) e  $LR- = 0.27$  (IC 95% 0.14 - 0.34). Os estudos apresentaram elevada heterogeneidade para a sensibilidade e especificidade com  $I^2$  respectivamente de 96.5% (IC 95% 95.5 – 97.5) e 98.2 (IC 95% 97.9 – 98.7). Em cenários de prevalência de 25, 50 e 75% as probabilidades pós teste positivas foram 98, 99 e 100% e as probabilidades pós teste negativas 7, 18 e 40%.

### **Testes rápidos imunocromatográficos com detecção de IgM/IgG**

Testes com detecção das sorologias IgM/IgG foram avaliados em 17 estudos (8,25,33,38-39,42,52), utilizando 3979 amostras (mediana 168 IIQ: 43 – 723). Apenas sete estudos identificaram os sorotipos de dengue com um total de 251 amostras DENV-1, 176 de DENV-2, 193 de DENV-3 e 77 de DENV-4 (Apêndice tabela 2).

A medida combinada de acurácia evidenciou sensibilidade de 55,2% (IC 95% 43.9 – 66.0), especificidade de 94,5% (IC 95% 90.8 – 96.8), valor preditivo positivo foi de 89.2% (IC 95% 87.4 – 90.8) e negativo de 71.8% (IC 95% 70.7 – 72.8), e Odds Ratio

diagnóstica foi 21.2 (IC 95% 12.6 – 35.5) (Tabela 1). Não foi evidenciado viés de publicação ( $p=0.13$ ).

Na fase aguda da doença, nos testes imunocromatográficos com detecção das sorologias IgM/IgG, a medida combinada de acurácia apresentou sensibilidade de 53.8% (IC 95% 41.4 – 65.8), especificidade de 94.7%, (IC 95% 90.4 – 97.1) e razões de verossimilhança positiva de 10.12 (IC 95% 5.89 – 17.36) e negativa de 0.49 (IC 95% 0.38 – 0.63). Na fase convalescente, a sensibilidade foi maior ( $S_n=62.6\%$ , IC 95% 36.7 – 82.9) e a especificidade foi 94.1% (IC 95% 87.0 – 97.4), com  $LR+=10.54$  (IC 95% 6.23 – 17.00) e negativa de 0.40 (IC 95% 0.21 – 0.74). Em cenários de prevalência de 25, 50 e 75% a probabilidade pós teste positiva foi 65, 85 e 94% e a negativa 14, 33 e 60%.

O teste Panbio Dengue Duo IgM/IgG foi o mais avaliado com sensibilidade e especificidade sumárias do foram 56% (IC 95% 47 – 65) e 90% (IC 95% 81 – 95), respectivamente. A  $LR+ = 5.5$  (IC 95% 2.9 – 10.3) e  $LR- = 0.49$  (IC 95% 0.40 – 0.60),  $DOR = 11$  (IC 95% 5 – 23). Este foi o teste mais avaliado e (?) o que também

### **Testes rápidos imunocromatográficos com detecção simultânea de NS1/IgM/IgG**

Um total de 1311 (mediana 292 IIQ: 157 – 310) pacientes suspeitos de dengue foram recrutados pelos cinco estudos que avaliaram este tipo de teste (33-34,36-37,40). Quatro destes estudos relataram os sorotipos do vírus dengue avaliados, 301 DENV-1, 166 DENV-2, 94 DENV-3 e 23 DENV-4 (Apêndice tabela 2).

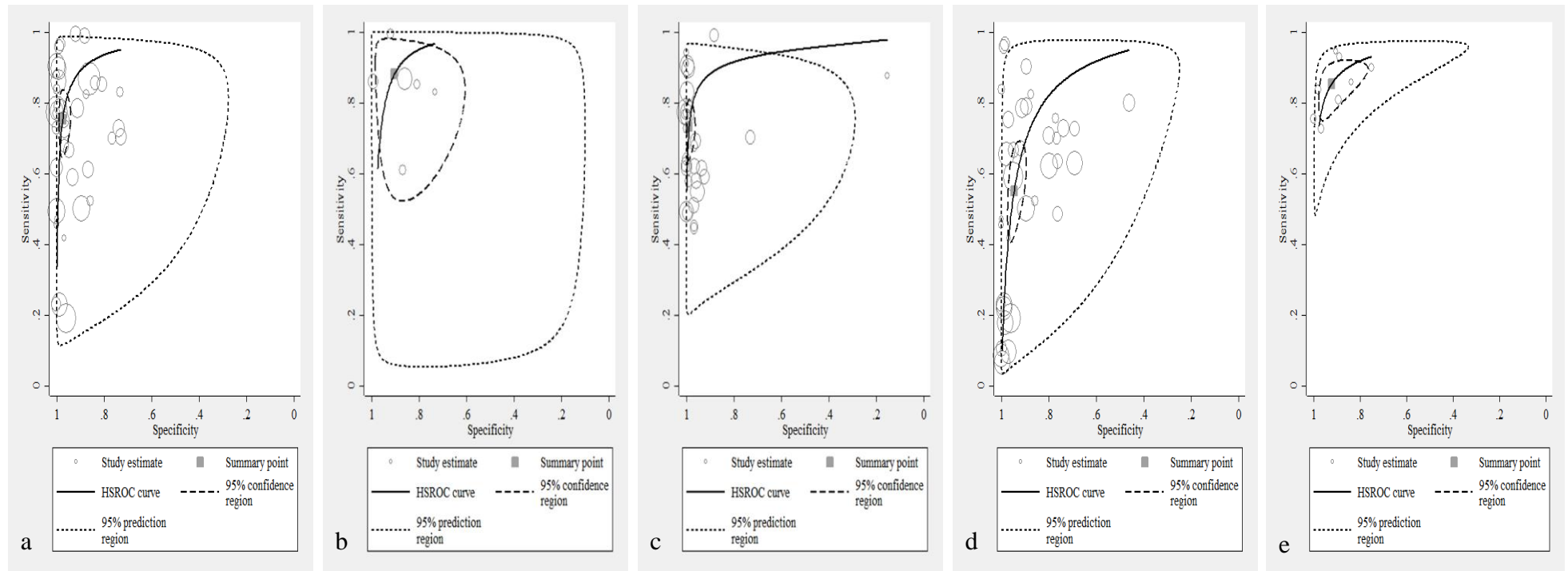
A medida combinada de acurácia apontou sensibilidade de 85.4% (IC 95% 79.5 – 89.8), especificidade de 92.1% (IC 95% 84.2 – 96.2), valor preditivo positivo de 96.7% (IC 95% 95.3 – 97.6) e negativo de 70.5% (IC 95% 67.1 – 73.6) (Tabela 1). A Odds Ratio diagnóstica foi 68.4 (IC 95% 35.5 – 131.7). Não foi evidenciada assimetria entre os estudos avaliados (valor de  $p = 0.09$ ).

**Tabela 1 – Meta-análise da acurácia dos testes rápidos imunocromatográficos segundo meio de detecção do vírus do dengue.**

<b>TRI</b>	<b>Sn (IC 95%)</b>	<b>Sp (IC 95%)</b>	<b>LR+ (IC 95%)</b>	<b>LR- (IC 95%)</b>	<b>DOR (IC 95%)</b>	<b>PP+ (IC 95%)</b>	<b>PP- (IC 95%)</b>	<b>I<sup>2</sup> Sn (IC 95%) I<sup>2</sup> Sp (IC 95%)</b>
<b>Global</b>	75.3%	97.4%	28.2	0.25	113.5	91%	8%	96 (95.3 – 96.7)
	(67.2 – 81.9)	(95.0 – 98.6)	(15.1 – 55.0)	(0.20 – 0.30)	(53.9 – 238.7)	97%	20%	99.7% (99.7 – 99.7)
						99%	43%	
<b>IgA</b>	88%	90.4%	9.14	0.13	68.9	75%	4%	96.1 (94.2 – 98.0)
	(72.9 – 95.2)	(78.4 – 96.1)	(3.8 – 22.3)	(0.1 – 0.3)	(15.2 – 312)	90%	12%	91.2 (85.7 – 96.7)
						96%	28%	
<b>NS1</b>	73.2%	98.8%	62.2	0.27	229.1	95%	8%	94.8 (93.7 – 96.0)
	(66.2 – 79.2)	(97.1 – 99.5)	(25.3 – 153.2)	(0.2 – 0.4)	(87.9 – 597.4)	98%	21%	96.3 (95.6 – 97.1)
						99%	45%	
<b>IgM/IgG</b>	55.2%	94.5%	10.04	0.47	21..2	77%	14%	98..2 (97.9 – 98.4)
	(43.9 – 66.0)	(90.8 – 96.8)	(6.4 – 15.9)	(0.4 – 0.6)	(12.6 – 35.5)	91%	32%	97..2 (96.7 – 97.7)
						97%	59%	
<b>NS1 + IgM/IgG</b>	85.4%	92.1%	10.8	0.15	68.4	78%	5%	87.5 (80.2 – 94.8)
	(79.5 – 89.8)	(84.2 – 96.2)	(5.4 – 21.6)	(0.1 – 0.2)	(35.5 – 131.7)	92%	14%	81.5 (69.4 – 95.5)
						97%	32%	

Sn: sensibilidade; Sp: especificidade; LR: razão de verossimilhança; PP: probabilidade pós teste em cenários de 25, 50 e 75% de prevalência da doença; DOR: Odds Ratio Diagnóstica; I<sup>2</sup>: estatística I<sup>2</sup>.

**Figura 2 – Curvas *Hierarchical Summary Receiver Operating Characteristic* (HSROC) da meta-análise dos testes rápidos imunocromatográficos segundo meio detecção do vírus do dengue utilizado.**



a. HSROC TRI Global; b. HSROC TRI IgA; c. HSROC TRI NS1; d. HSROC TRI IgM/IgM; e. HSROC TRI NS1 + IgM/IgG.

## CONCLUSÕES

Trata-se de uma revisão sistemática que abrange os meios de detecção do vírus do dengue de TRI disponíveis comercialmente, obtidos a partir de uma busca em nove grandes bases de dados, com 34 estudos incluídos.

Os TRI apresentaram moderada sensibilidade combinada ( $S_n = 75\%$ , IC 95% 67 – 82) e elevada especificidade combinada ( $S_p = 97\%$ , IC 95% 95 – 99), sendo quatro vezes mais positivos nos casos da doença do que dentre os não doentes ( $LR+ = 4$  e  $LR = 0.03$ ).

Dentre os TRI com detecção sorológica avaliados nesta revisão, aqueles com detecção de IgA se destacaram-se com elevadas sensibilidade ( $S_n = 88\%$ , IC 95% 72.9 – 95.2) e especificidade combinadas ( $S_p = 90.4\%$ , IC 95% 78.4 – 96.1), comparados aos TRI IgM/IgG ( $S_n = 55.2\%$ , IC 95% 43.9 – 66.0 e  $S_p = 94.5\%$ , IC 95% 90.8 – 96.8). Trata-se de um teste com melhor desempenho na fase aguda da doença, sendo cerca de duas vezes mais positivos ( $LR+ = 10.2$ ) entre os casos com até sete dias de febre de dengue do que em aqueles com na fase convalescente ( $LR+ = 5.19$ ).

Na revisão sistemática publicada por Alagarasu et al (2016) (11) foi avaliado TRI IgA, incluindo três estudos com ( $S_n = 72\%$ , IC 95% 69 – 75;  $S_p = 89\%$ , IC 95% 82 – 95;  $LR+= 6.03$ , IC 95% 3.3 – 10.57;  $LR-= 0.29$ , IC 95% 0.17 – 0.47). Estes valores apontam acurácia para este teste inferior à evidenciada pela nossa revisão. Entretanto, os amplos intervalos de confiança das medidas de acurácia tanto na presente revisão quanto na de Alagarasu et al (2016) (11), tornam questionável seu uso como teste de triagem.

Os TRI IgM/IgG são testes sorológicos com acurácia amplamente avaliada. A revisão sistemática de Blacksell et al (2006) (6) avaliou o teste Panbio ICT na fase aguda da doença. As medidas de desempenho sumárias foram superiores às apontadas pela nossa revisão, com  $S_n = 86\%$  (IC 95% 74 – 92),  $S_p = 88\%$  (IC 95% 78 – 94),  $LR + = 7.2$  (IC 95% 3.7 – 14) e  $LR - = 0.16$  (IC 95% 0.08 – 0.32). Estas diferenças podem ser atribuídas, dentre outros fatores, às características das amostras incluídas, pois a acurácia dos testes parece aumentar na fase convalescente ou em amostras com predominância de infecção primária, conforme também relatado por Blacksell et al (2006) (6,11).

Nos últimos anos tem sido questionado o uso de sorologia IgM/IgG para a detecção de dengue e outros flavivírus devido à comprovada reação cruzada destes

testes com vírus como zika, febre amarela e chikungunya, restringindo seu uso em cenários de co-circulação destes vírus (6,54-55).

Uma estratégia utilizada para aumentar o desempenho dos testes consiste na combinação de testes NS1, IgM e IgG simultaneamente (33-34,38,40,43,52). Os estudos incluídos na nossa revisão sobre testes NS1/IgM/IgG apresentaram sensibilidade e especificidade combinadas ( $S_n = 85.4\%$  e  $S_p = 92.1\%$ ) elevadas e similares aos TRI IgA. Todavia, não os avaliaram segundo a fase da doença (aguda/convalescente), impossibilitando afirmar se este desempenho seria mantido nos primeiros dias da doença.

Na presente revisão, foi evidenciado melhor desempenho combinado na fase aguda da doença nos TRI com detecção isolada de NS1, sendo seis vezes mais positivo entre os casos de dengue ( $S_n = 73.2\%$ ,  $S_p = 98.8\%$ ,  $LR+ = 62.18$  e  $LR- = 0.27$ ), quando comparado ao TRI IgA, durante a mesma fase de doença ( $S_n = 88\%$ ,  $S_p = 90.4\%$ ,  $LR+ = 10.2$  e  $LR- = 0.2$ ). Estes achados vão de encontro com os de Lima et.al. (2010) (8) que confirma o melhor desempenho dos TRI NS1 na fase aguda da doença.

A revisão sistemática de Zhang et al (2014) (4) mostrou desempenho combinado similar ao da nossa revisão, com  $S_n = 71\%$  (IC 95% 61 – 79) e  $S_p = 99\%$  (IC 95% 98 – 100), valores preditivos positivo de 96% (IC 95% 95 – 98) e negativo de 75% (IC 95% 75 – 76).

Tanto na revisão de Zhang et al (2014) (4) quanto na nossa, o desempenho dos TRI NS1 nos cenários de 25, 50 e 75% de prevalência da doença apontaram crescente probabilidade pós-teste positiva, variando de 99 a 100%. Este incremento também foi observado na probabilidade pós-teste negativa, evidenciando o poder confirmatório destes testes. Assim, para serem utilizados na triagem, estes testes devem estar acoplados a um algoritmo diagnóstico a fim de otimizar seu desempenho, devido ao elevado número de falsos negativos (4).

Somente dois estudos incluídos nesta revisão declararam conflito de interesse (30,34). Apenas um deles (30) apontou resultados de sensibilidade discrepantes com relação à sensibilidade combinada da nossa revisão.

Além da originalidade desta revisão, apontamos como principal ponto forte a abrangência da busca de literatura que incluiu todos os tipos de TRI para detecção de dengue disponíveis comercialmente, com avaliação por subgrupo segundo método de

detecção dos TRI, das principais marcas de TRI comercializadas em cada um deles e, quando possível, segundo a fase da doença (aguda/convalescente).

Destacamos como limitações da nossa revisão a baixa qualidade metodológica dos estudos incluídos e a ausência de dados para caracterização adequada das amostras (27/34, 79.4%), seja por faixa etária (21/34, 61.8%) ou sorotipo de dengue (16/34, 47.1%), o que impossibilitou a avaliação para estes possíveis subgrupos. Outra limitação foi a alta heterogeneidade detectada em todos os tipos de TRI avaliados, possivelmente devido a divergências entre as características das amostras incluídas pelos estudos que os avaliaram. Diferenças estas, relativas à idade dos pacientes incluídos, tipo de infecção predominante (primária ou secundária), sorotipos avaliados e fase da doença avaliada pelos testes (aguda/convalescente), diferentes técnicas de padrões de referência (Real time-PCR, RT-PCR, ELISA in house, MAC-ELISA, entre outros).

As três revisões sistemáticas que incluíram TRI apontaram as mesmas limitações descritas acima (4,6,11). Guidelines como o *STAndards for Reporting Diagnostic accuracy studies* (STARD) (57) e ferramentas como o QUADAS 2 (14) tem contribuído para uniformizar o relato nos estudos de acurácia, tal como aponta Blacksell et al (ano 2012) (56). Reforçamos que a utilização de ambos guidelines devem ser exigidos aos autores pelas revistas avaliadas por pares a fim de auxiliar futuras revisões e elaboração de recomendações ou protocolos.

Concluindo, TRI NS1 apresentam o melhor desempenho combinado na fase aguda da doença. Entretanto, devido seu poder confirmatório e não de triagem devem ser acoplados a um algoritmo diagnóstico.

## REFERENCIAS

1. Peeling RW, Artsob H, Pelegriño JL, Philippe Buchy, Mary J, et al. Evaluation of diagnostic tests: dengue. *Nature Reviews Microbiology*, S30-S37, doi:10.1038/nrmicro2459.
2. San Martín JL, Brathwaite O, Zambrano B, Solórzano JO, Bouckenooghe A, et al. The Epidemiology of Dengue in the Americas Over the Last Three Decades: A Worrisome Reality. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 82(1), 2010, pp. 128–135.
3. Costa VGd, Marques-Silva AC, Moreli ML (2014). A Meta-Analysis of the Diagnostic Accuracy of Two Commercial NS1 Antigen ELISA Tests for Early Dengue Virus Detection. *PLoS ONE* 9(4): e94655. doi:10.1371/journal.pone.0094655.



4. Zhang H, Li W, Wang J, Peng H, Che X, et al. NS1-based tests with diagnostic utility for confirming dengue infection: a meta-analysis. *International Journal of Infectious Diseases* 26 (2014) 57–66. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2014.02.002>.
5. WHO. Dengue and severe dengue. Atualização 2015. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/#>.
6. Blacksell SD, Doust JA, Newton PN, Peacock SJ, Day NP, et al. A systematic review and meta-analysis of the diagnostic accuracy of rapid immunochromatographic assays for the detection of dengue virus IgM antibodies during acute infection. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2006 Aug;100(8):775-84. Epub 2006 Mar 23.
7. Gubler DJ. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 11, no. 3, pp. 480–496, 1998. In Blacksell SD. *Commercial Dengue Rapid Diagnostic Tests for Point-of-Care Application: Recent Evaluations and Future Needs?*. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* Volume 2012, Article ID 151967, 12 pages doi:10.1155/2012/151967.
8. Lima MdRQ, Nogueira RMR, Schatzmayr HG, Santos FBd. Comparison of Three Commercially Available Dengue NS1 Antigen Capture Assays for Acute Diagnosis of Dengue in Brazil. *PLoS Negl Trop Dis* 2010; 4(7): e738. doi:10.1371/journal.pntd.0000738.
9. Price, C.P., 2001. Point of care testing. *BMJ* 2001; 322 doi: <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.322.7297.1285>. In: Blacksell SD, Doust JA, Newton PN, Peacock SJ, Day NP, et al. A systematic review and meta-analysis of the diagnostic accuracy of rapid immunochromatographic assays for the detection of dengue virus IgM antibodies during acute infection. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2006 Aug;100(8):775-84. Epub 2006 Mar 23.
10. Shu PY, Huang JH. 2004. Current advances in dengue diagnosis. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2004 Jul;11(4):642-50. In: Blacksell SD, Doust JA, Newton PN, Peacock SJ, Day NP, et al. A systematic review and meta-analysis of the diagnostic accuracy of rapid immunochromatographic assays for the detection of dengue virus IgM antibodies during acute infection. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2006 Aug;100(8):775-84. Epub 2006 Mar 23.
11. Alagarasu K, Walimbe AM, Jadhav SM, Deoshatwar AR. A meta-analysis of the diagnostic accuracy of dengue virus-specific IgA antibody-based tests for detection of dengue infection. *Epidemiol. Infect.* (2016), 144, 876–886. © Cambridge University Press 2015. doi:10.1017/S0950268815001922.
12. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, Gøtzsche PC, et al. (2009). The PRISMA Statement for Reporting Systematic Reviews and Meta-Analyses of Studies That Evaluate Health Care Interventions: Explanation and Elaboration. *PLoS Med* 6(7): e1000100. doi:10.1371/journal.pmed.1000100.
13. Zotero. Zotero 5.0.33 Software. Roy Rosenzweig Center for History and New Media.
14. Whiting PF, Rutjes AWS, Westwood ME, Mallett S, Deeks JJ, et al. QUADAS-2: A Revised Tool for the Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies. *Ann Intern Med.* 2011;155:529-536.
15. Rutter CM, Gatsonis CA. A hierarchical regression approach to meta-analysis of diagnostic test accuracy evaluations. *Statistic in Medicine*, Malden, v. 20, n.19, P.2865-2884, 2001.
16. Abramson, JH. WINPEPI updated: computer programs for epidemiologists, and their teaching potential. *Epidemiologic Perspectives & Innovations.* 2011; 8:1.

17. StataCorp. 2015. Stata Statistical Software: Release 14. College Station, TX: StataCorp LP.
18. Higgins JPT, et al. Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ* 2003; 327:557, doi: <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.327.7414.557>.
19. DerSimonian R, Laird N. Meta-analysis in clinical trials. *Control Clin Trials*. 1986 Sep;7(3):177-88. doi:10.1016/0197-2456(86)90046-2.
20. Deeks JJ et al. The performance of tests of publication bias and other sample size effects in systematic reviews of diagnostic test accuracy was assessed. *Journal of Clinical Epidemiology* 58 (2005) 882–893.
21. Ahmed F, Mursalin H, Alam MT, Amin R, Sekaran SD, Wang SM et al. Evaluation of ASSURE® Dengue IgA RAPID Test using sengu-positive and dengue-negative samples. *Siadnostic Microbiology and Infectious Disease* 68 (2010) 339-344. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2010.07.007.
22. Tan YY, Sekaran SD, Wang SM, Ahmed F, Hossain A and Tan Sil BK. Development of ASSURE dengue IgA Rapid Test for the Detection of Anti-dengue IgA from Dengue Infected Patients. *J Glob Infect Dis*. 2011 Jul-Sep; 3(3): 233–240. Doi: 10.4103/0974-777X.83528.
23. Hernández SIC, MATEOS SG, Aguilar HF, Martínez IL, Aranda CA, Ludert JE, et al. Evaluation of novel commercial rapid test for dengue diagnosis based on specific IgA detection. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 72 (2012) 150–155. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2011.11.002.
24. Hartono A, Sari SK. Diagnosis of dengue virus infection with IgA anti Dengue rapid tests. *15th ICID Abstracts / International Journal of Infectious Diseases* 16S (2012) e317–e473.
25. Naz A, Zahid D, Murky SN, Nadeem M, Sil BK, Shamsi TS. Evaluation of efficacy of various immunochromatographic rapid tests for dengue diagnosis. *Pak J Med Sci* 2014;30(1):166-171. doi: <http://dx.doi.org/10.12669/pjms.301.4173>.
26. Dussart P, Petit L, Labeau B, Bremand L, Leduc A, et al. (2008) 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* 2(8): e280. doi:10.1371/journal.pntd.0000280.
27. Zainah S, Wahab AHA, Mariam M, Fauziah MK, Khairul AH, Roslina I, et al. Performance of a commercial rapid dengue NS1 antigen immunochromatography test with reference to dengue NS1 antigen-capture ELISA. *Journal of Virological Methods* 155 (2009) 157–160. doi:10.1016/j.jviromet.2008.10.016.
28. Hang VT, Minh Nguyet N, The Trung D, Tricou V, Yoksan S, et al. (2009) Diagnostic Accuracy of NS1 ELISA and Lateral Flow Rapid Tests for Dengue Sensitivity, Specificity and Relationship to Viraemia and Antibody Responses. *PLoS Negl Trop Dis* 3(1): e360. doi:10.1371/journal.pntd.0000360.
29. Ramirez AH, Moros Z, Comach G, Zambrano J, Bravo L, Pinto B, et al. Evaluation of dengue NS1 antigen detection tests with acute sera from patients infected with dengue virus in Venezuela. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 65 (2009) 247–253. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2009.07.022.
30. Chaiyaratana W, Chuansumrit A, Pongthanapisith V, Tangnararatchakit K, Lertwongrath S, Yoksan S. Evaluation of dengue nonstructural protein 1 antigen strip for the rapid diagnosis of patients with dengue infection. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 64 (2009) 83-84. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2009.01.004.

31. Shu PY, Yang CF, Kao JF, Su CL, Chang SF, Lin CC, et al. Application of the dengue virus NS1 antigen rapid test for on-site detection of imported dengue cases at airports. *Clin Vaccine Immunol*. 2009 Apr;16(4):589-91. doi: 10.1128/CVI.00475-08.
32. Pok KY, Lai YL, Sng J, Ng LC. Evaluation of Nonstructural 1 Antigen Assays for the Diagnosis and Surveillance of Dengue in Singapore. *Vector-Borne and zoonotic diseases*. Volume 10, Number 10, 2010 <sup>a</sup> Mary Ann Liebert, Inc. DOI: 10.1089=vbz.2008.0176.
33. Osorio L, Ramirez M, Bonelo A, Villar LA, Parra B. Comparison of the diagnostic accuracy of commercial NS1-based diagnostic tests for early dengue infection. *Virology Journal* 2010, 7:361 <http://www.virologyj.com/content/7/1/361>.
34. Tricou V, Vu HTT, Quynh NVN, Nguyen CVV, Tran HT, Farrar J, et al. Comparison of two dengue NS1 rapid tests for sensitivity, specificity and relationship to viraemia and antibody responses. *BMC Infectious Diseases*. 2010, 10:142. Doi: 10.1186/1471-2334-10-142.
35. Najioullah F, Combet E, Paturel L, Martial J, Koulmann L, Thomas L, et al. Prospective evaluation of nonstructural 1 enzyme-linked immunosorbent assay and rapid immunochromatographic test to detect dengue virus in patients with acute febrile illness. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 69 (2011) 172-178.
36. Fry SR, Meyer M, Semple MG, Simmons CP, Sekaran SD, et al. (2011) The Diagnostic Sensitivity of Dengue Rapid Test Assays Is Significantly Enhanced by Using a Combined Antigen and Antibody Testing Approach. *PLoS Negl Trop Dis* 5(6): e1199. doi:10.1371/journal.pntd.0001199 Fry 2011
37. Blacksell SD, Jarman RG, Bailey MS, Tanganuchitcharnchai A, Jenjaroen K, Gibbons RV, 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*. Dec. 2011, p. 2095–2101 Vol. 18, No. 12. doi:10.1128/CVI.05285-11.
38. Sandoval JJV, Amores DR, Ramudo SV, Gutiérrez NC, Tirado MGG. Evaluation of the SD Dengue Duo diagnosis system for detection of NS1 protein and IgM and IgG dengue antibodies. *Rev Cubana Med Trop*. 2012;64(1):27-34.
39. Tontulawat P, Pongsiri P, Thongmee C, Theamboonlers A, Kamolvarin N and Poovorawan Y. Evaluation of rapid immunochromatographic NS1 test, anti-dengue IgM test, semi-nested PCR and IgM ELISA for detection of dengue virus. *Southeast Asian J trop Med public health*. Vol 42 No. 3 May 2011.
40. Andries A-C, Duong V, Ngan C, Ong S, Huy R, et al. (2012) Field Evaluation and Impact on Clinical Management of a Rapid Diagnostic Kit That Detects Dengue NS1, IgM and IgG. *PLoS Negl Trop Dis* 6(12): e1993. doi:10.1371/journal.pntd.0001993.
41. Ferraz FO, Bomfim MRQ, Totola AH, Ávila TV, Cisalpino D, Pessanha JEM, 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* 58 (2013) 41-46.

42. Pan-ngum W, Blacksell SD, Lubell Y, Pukrittayakamee S, Bailey MS, et al. (2013) Estimating the True Accuracy of Diagnostic Tests for Dengue Infection Using Bayesian Latent Class Models. *PLoS ONE* 8(1): e50765. doi:10.1371/journal.pone.0050765.
43. Parham LA, Sánchez C, López MJ, Lorenzana I. Evaluation of two parameters for dengue diagnosis in Honduras patients. 2013. *ASTMH. Abstract* 1410, p. 429.
44. Berry N, Chakravarti A, Gur R, Mathur MD. Serological Investigation of a Febrile Outbreak in Delhi, India, Using a Rapid Immunochromatographic Test. *Journal of Clinical Microbiology*. Sept. 1998, p. 2795–2796 Vol. 36, No. 9.
45. Branch SL, Levett PN. Evaluation of four methods for detection of immunoglobulin M antibodies to dengue virus. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. July 1999, p. 555-557.
46. Blacksell SD, Newton PN, Bell D, Kelley J, Mammen MPJr, Vaughn DW, et al. The Comparative Accuracy of 8 Commercial Rapid Immunochromatographic Assays for the Diagnosis of Acute Dengue Virus Infection. *Clinical Infectious Diseases* 2006;42:1127–34.
47. Cohen AL, Dowell SF, Nisalak A, Mammen Jr MP, Petkanchanapong W and Fisk TL. Rapid diagnostic tests for dengue and leptospirosis: antibody detection is insensitive at presentation. *Tropical Medicine and International Health*. Volume 12 no 1 pp 47–51 january 2007. doi:10.1111/j.1365-3156.2006.01752.x.
48. Nga TTT, Thai KTD, Phuong HL, Giao PT, Hung LQ, Binh TQ, et al. Evaluation of Two Rapid Immunochromatographic Assays for Diagnosis of Dengue among Vietnamese Febrile Patients. *Clinical and Vaccine Immunology*, June 2007, p. 799–801. doi:10.1128/CVI.00483-06.
49. Yusuf NW, Kausar N, Akbar R, Iqbal N. Comparison of diagnostic efficacy of rapid diagnostic devices for dengue virus infection--a piolt study. *J Ayub Med Coll bbottabad*. 2008; 20(4).
50. Congpuong K, Chuchanb S, Kwangthongc S, Kangchaingonea Y, Darakaponga A. Appropriate laboratory tests for the diagnosis of dengue infection at a general hospital in Southern Thailand. *Asian Biomedicine* Vol. 2 No. 4 August 2008;289-295.
51. Martínez-Vega RA, Díaz-Quijano FA, Coronel-Ruiz C, Gómez SY, Villar-Centeno LA. Evaluation of PANBIO rapid immunochromatographic cassette for dengue diagnosis in a Colombian endemic area. *Biomedica* 2009; 29: 616-24.
52. Pun R, Shah Y, Gupta GP, Sherchand SP, Pandey BD. Prognostic Value of Rapid Test for Diagnosis of Dengue in Nepalese Patients during 2010 Epidemic. *Kathmandu Univ Med J* 2012;37(1):7-10.
53. Aikat A, Sarkar A, Tudu N, Moitra S, Pal PP, Sarkar TK. Diagnostic dilemma of dengue fever: how much reliability are there in rapidity. *J Indian Med Assoc*. 2011 Aug; 109(8):543-5.
54. Steinhagen K, Probst C, Radzimski C, Schmidt-Chanasit J, Emmerich P, van Esbroeck M, Schinkel J, Grobusch MP, Goorhuis A, Warnecke JM, Lattwein E, Komorowski L, Deerberg A, Saschenbrecker S, Stöcker W, Schlumberger W. Serodiagnosis of Zika virus (ZIKV) infections by a novel NS1-based ELISA devoid of cross-reactivity with dengue virus antibodies: a multicohort study of assay performance,

2015 to 2016. Euro Surveill. 2016;21(50):pii=30426. DOI: <http://dx.doi.org/10.2807/15607917.ES.2016.21.50.30426>.

55. Dejnirattisai W, Supasa P, Wongwiwat W, Rouvinski A, Barba-Spaeth G, Duangchinda T, et al. Dengue virus sero-cross-reactivity drives antibodydependent enhancement of infection with zika virus. Nature Immunology. Vol 17, n9, Set 2006. doi:10.1038/ni.3515.

56. Blacksell S. Commercial dengue rapid diagnostic tests for point-of-care application: recent evaluations and future needs?. Journal of Biomedicine and Biotechnology Volume 2012, Article ID 151967, 12 pages doi:10.1155/2012/151967.

57. Cohen JF, Korevaar DA, Altman DG, et al. STARD 2015 guidelines for reporting diagnostic accuracy studies: explanation and elaboration. BMJ Open. 2016;6(11):e012799. doi:10.1136/bmjopen-2016-012799.

## APÊNDICE

**êndice tabela 1 - Características dos estudos incluídos segundo teste imunocromatográfico avaliado.**

Autor, ano (país)	Desenho do estudo	Local do estudo	Teste Imunocromatográfico	Teste Referência
Berry, 1998 (Índia) <sup>45</sup>	Seccional	Hospital	Panbio Dengue Duo IgM/IgG	ELISA IgM/IgG
Branch, 1999 (Barbados) <sup>46</sup>	Seccional	-	Panbio Dengue IC (IgM/IgG)	ELISA IgM
Blacksell, 2006 (Tailândia) <sup>47</sup>	Caso-controle	Biobanco	Core Dengue IgM/IgG Diazyme IgM/IgG Combo Rapid Test Smartcheck (GlobaleMed) Vscan IgM/IgG (Minerva) Panbio Dengue Duo IgM/IgG SD Bioline Dengue IgM/IgG Dengue Fever IgM/IgG Combo Test Denguecheck-WB IgM/IgG	RT-PCR and IgM/IgG ELISA
Cohen, 2007 (Tailândia) <sup>48</sup>	Seccional	Hospital	Panbio Dengue Duo IgM/IgG	ELISA IgM/IgG and HI nos ELISA inválidos
Nga, 2007 (Vietnam) <sup>49</sup>	Seccional	Hospital	Panbio Dengue Duo IgM/IgG	ELISA IgM/IgG
Yusuf, 2008 (Puniab) <sup>50</sup>	Seccional	Hospital	Acon, Immunochromatographic anti Dengue antibody IgM/IgG	ELISA
Congpuong, 2008 (Tailândia) <sup>51</sup>	Seccional	Hospital	Panbio Dengue Duo IgM/IgG	Real-time PCR, ELISA IgM/IgG and Platelia Dengue NS1 Ag (NS1-Ag test)
Dussart, 2008 (União Regional das Antilhas e da Guiana) <sup>25</sup>	Caso controle	Biobanco	Bio-Rad Dengue NS1 Ag Strip	RT-PCR and isolamento viral

**Apêndice tabela 1 – Características dos estudos incluídos segundo teste imunocromatográfico avaliado (continuação).**

<b>Autor, ano (país)</b>	<b>Desenho do estudo</b>	<b>Local do estudo</b>	<b>Teste Imunocromatográfico</b>	<b>Teste Referência</b>
Tricou, 2010 (Vietnam) <sup>33</sup>			Bio-Rad Dengue NS1 Ag Strip SD Bioteline Dengue Duo NS1/IgM/IgG	MAC ELISA and GAC ELISA IgM/IgG
Tan, 2011 (Malasia) <sup>21</sup>	Caso-controle	-	Assure Dengue Rapid Test IgA	Elisa NS1/IgM/IgG
Najjioullaha, 2011 (Caribe) <sup>28</sup>	Seccional	Hospital	Bio-Rad Dengue NS1 Ag Strip	RT-PCR. IgM MAC ELISA and ELISA NS1
Fry, 2011 (Malasia e Vietnam) <sup>34</sup>			Alere Dengue Early NS1 Rapid Test Alere Dengue Duo Cassette IgM/IgG	RT-PCR OU IgM/IgG NS1 ELISA
Blacksell, 2011 (Sri Lanka) <sup>36</sup>	Seccional	Hospital	Merlin dengue fever IgM/IgG SD Dengue Duo NS1/IgM/IgG Biosynex immunoquick dengue fever IgM/IgG assay Biorad NS1 antigen strip Panbio Dengue Duo IgM/IgG cassette	ELISA IgM/IgG and RT-PCR
Tontulawat, 2011 (Tailândia) <sup>38</sup>	Seccional	Hospital	Panbio Dengue NS1 Strip	ELISA IgM, PCR semi-nested
Sandoval, 2011 (Cuba) <sup>37</sup>	Seccional	-	SD Bioteline Dengue Duo NS1/IgM/IgG	ELISA NS1, IgM IgG
Aikat, 2011 (Índia) <sup>54</sup>	Seccional	Hospital	Dengue IgM/IgG	MAC ELISA IgM
Hernández, 2012 (México) <sup>22</sup>	Seccional	-	Assure Dengue Rapid Test IgA	Real time-PCR
Hartono, 2012 (Não informado) <sup>23</sup>	Seccional	Hospital	Dengue Rapid Test IgA	ELISA NS1/IgM/IgG
Andries et al, 2012 (Camboia) <sup>39</sup>	Seccional	Hospital e Biobanco	SD Bioteline Dengue Duo NS1/IgM/IgG	RT-PCR, isolamento viral and MAC ELISA IgM, hemog
Pun, 2012 (Nepal) <sup>53</sup>	Seccional	Hospital	SD Bioteline Dengue Duo NS1/IgM/IgG	ELISA IgM

**Apêndice tabela 1 – Características dos estudos incluídos segundo teste imunocromatográfico avaliado (continuação).**

<b>Autor, ano (país)</b>	<b>Desenho do estudo</b>	<b>Local do estudo</b>	<b>Teste Imunocromatográfico</b>	<b>Teste Referência</b>
Lima, 2012 (Brasil) <sup>44</sup>	Seccional	Biobanco	Bio-Rad Dengue NS1 Ag Strip	Isolamento viral, RT-PCR and ELISA IgM/IgG
Ferraz, 2013 - (Brasil) <sup>40</sup>	Seccional	Unidade	Bioeasy Dengue Eden NS1 Test Bio-Rad Dengue NS1 Ag Strip Panbio Dengue Early NS1 Rapid	IgM/NS1 ELISA and MAC ELISA
Pan-ngum, 2013 (Siri Lanka) <sup>41</sup>	Seccional	Hospital	Panbio first generation NS1 antigen strip Panbio Dengue Duo IgM/IgG	MAC ELISA IgM, GAC ELISA IgG MAC and GAC ELISA
Parham, 2013 (Honduras) <sup>42</sup>	Seccional	-	SD Bioline Dengue Duo NS1/IgM/IgG	RT-PCR
Naz, 2014 (Pakistan) <sup>43</sup>	Seccional	Biobanco	Panbio Dengue NS1 Ag Panbio Dengue Duo IgM/IgG	ELISA IgM/IgG



**Apêndice quadro 1 – Resultados da ferramenta QUADAS 2 dos estudos incluídos.**

Autor, ano (país)	Risco de viés				Precauções de aplicabilidade		
	Seleção de pacientes	Teste índice	Padrão de referência	Fluxo e "timing"	Seleção de pacientes	Teste índice	Padrão de referência
Berry, 1998 (Índia)	?	?	?	😊	😊	😊	😊
Branch, 1999 (Barbados)	?	😊	?	😊	😊	😊	😊
Blacksell, 2006 (Tailândia)	😞	😊	😊	😊	😊	😊	😊
Cohen, 2007 (Tailândia)	😊	?	?	😞	😊	😊	😊
Nga, 2007 (Vietnam)	?	?	?	😊	😊	😊	😊
Yusuf, 2008 (Puniab)	?	?	?	?	😊	😊	😊
Congpuong, 2008 (Tailândia)	?	?	😞	😊	😊	😊	😊
Dussart, 2008 (União Regional das Antilhas e da Guiana)	?	😊	😊	😊	😊	😊	😊
Zainah, 2009 (Malásia)	😊	😊	😊	😊	😊	😊	😊
Hang, 2009 (Vietnam)	😞	?	😊	😊	😊	😊	😊

Ramirez, 2009 (Venezuela)	?	😊	?	😊	😊	😊	😊
Chaiyaratana, 2009 (Marshall Islands)	?	?	?	?	😊	😊	😊
Shu, 2009 (Vietnam, India, thailand, Malaysia, Bangladesh, Camboia, Philippines, Indonesia)	😞	😊	😊	?	😊	😊	😊
Martínez-Vega, 2009 (Colombia)	😊	😊	😊	😞	😊	😊	😊
Ahmed, 2010 (Índia)	?	?	?	?	😊	😊	😊
Pok, 2010 (Singapura)	?	😞	?	😞	😊	😊	😊
Osório, 2010 (Colombia)	😞	?	?	😞	😊	😊	😊
Tricou, 2010 (Vietnam)	?	😊	😊	😊	😊	😊	😊
Tan, 2011 (Malasia)	😞	?	?	😊	😊	😊	😊
Najioullaha, 2011 (Caribe)	😊	😊	😊	😊	😊	😊	😊
Fry, 2011 (Malasia e Vietnam)	?	😊	😊	😊	😊	😊	😊
Blacksell, 2011 (Sri Lanka)	😊	😊	😊	😊	😊	😊	😊
Sandoval, 2011 (Cuba)	?	?	?	😊	😊	😊	😊
Aikat, 2011 (India)	😊	?	?	😊	😊	😊	😊

Tontulawat, 2011 (Tailandia)	?	😊	😊	😊	😊	😊	😊
Andries, 2012 (Camboia)	😞	😊	😊	😊	😊	😊	😊
Andries, 2012 (Camboia)	😞	😊	😊	😊	😊	😊	😊
Hernández, 2012 (México)	?	😞	?	😊	😊	😊	😊
Hartono, 2012 (Não informado)	?	?	?	?	😊	😊	😊
Pun, 2012 (Nepal)	?	?	?	?	😊	😊	😊
Lima, 2010 (Brasil)	😞	?	?	😊	😊	😊	😊
Ferraz, 2013 - (Brasil)	😊	?	?	😊	😊	😊	😊
Pan-ngum, 2013 (Siri Lanka)	😊	😞	?	😞	😊	😊	😊
Parham, 2013 (Honduras)	😞	?	?	😞	😊	😊	😊
Naz, 2014 (Pakistan)	?	😊	😊	?	😊	😊	😊

**Apêndice tabela 2 – Descrição das amostras dos estudos selecionados segundo teste imunocromatográfico avaliado.**

<b>Tipo de teste</b>	<b>Autor, ano</b>	<b>Idade (anos)</b>	<b>Sexo masculino (%)</b>	<b>Febre (dias)</b>	<b>N</b>	<b>D</b>	<b>DENV1</b>	<b>DENV2</b>	<b>DENV3</b>	<b>DENV4</b>	<b>Ind</b>
<b>IgA</b>	Ahmed et al, 2010	-	-	Aguda (1-7)	424	179	-	-	-	-	-
	Tan et al, 2011	-	-	Aguda (0-4)	914	233	-	-	-	-	-
	Hernández et al, 2012	mediana 20	60%	Aguda (0-5)	225	172	103	69	0	0	0
	Hartono et al, 2012	-	-	Aguda e convalescente	100	70	-	-	-	-	-
	Naz et al, 2014	28.06 (dp14)	52.20%	Aguda (5 dp2.1)	184	142	-	-	-	-	-
<b>NS1</b>	Dussart et al, 2008	-	-	Aguda e convalescente	320	222	33	42	101	46	0
	Zainah et al, 2009	-	-	Aguda	314	284	-	-	-	-	0
	Hang et al, 2009	16 (IC 95% 4 - 42)	44.80%	Aguda (3 CI: 1-6)	138	125	63	20	25	3	14
	Ramirez et al, 2009	-	-	Aguda (2 -6)	147	87	21	23	23	20	0
	Chaiyaratana et al, 2009	-	50%	-	220	89	-	-	-	-	0
	Shu et al, 2009	-	-	Aguda e convalescente	850	22	9	3	5	-	5
	Pok et al, 2010	-	-	-	321	161	51	59	17	2	0
	Osório et al, 2010	-	-	Aguda (3)	310	218	13	17	7	5	0
	Tricou et al, 2010	12 (IC 95% 1 - 49)	57.80%	Aguda (3 CI: 1 - 6)	292	245	138	91	16	0	0
	Najjioullaha et al, 2011	26 (IQR: 12 - 45)	47.50%	Aguda (4)	537	264	0	125	0	0	0

N: número de pacientes na amostra. D: número de pacientes com dengue. Ind: sorotipo indeterminado pelo padrão de referencia.

**Apêndice tabela 2 – Descrição das amostras dos estudos seleccionados segundo teste imunocromatográfico avaliado (continuação).**

Tipo de teste	Autor, ano	Idade (anos)	Sexo masculino (%)	Febre (dias)	N	n dengue	DENV1	DENV2	DENV3	DENV4	Ind
	Fry et al, 2011 (Viet Nam)	-	-	-	298	198	83	24	29	3	20
	Fry et al, 2011 (Malasya)				293	263	101	21	23	16	0
	Blacksell et al, 2011	30 (CI: 16 - 86)	30.50%	Aguda	259	99	1	16	47	2	33
	Tontulawat et al, 2011	-	-	Aguda e	237	126					
	Sandoval et al, 2011	-	-	Aguda (1-4) Convalescente (>5)	161	71	53 30	21 20	1 8	0 1	10 0
	Andries et al, 2012				126	31					
	Ferraz et al, 2013	dengue 44 (dp16) não dengue 42 (dp17)	Dengue 31% Não dengue 40%	Aguda (3)	189	146	-	-	-	-	189
	Pan-ngum et al, 2013	mediana 35 (IQ= 25 - 50)	68%	Aguda (5 IQ= 3 - 8)	549	135	-	-	-	-	-
	Parham et al, 2013	-	-	Aguda (<5) Convalescente (>6)	61	48	50 -	50 -	58 -	0 -	- -
	Naz et al, 2014	28.06 (dp14)	52.20%	Aguda (5 dp2.1)	184	142	0	18	0	0	0
	Lima et al, 2010	-	-	Aguda	450	220	180	78	28	40	0

N: número de pacientes na amostra. D: número de pacientes com dengue. Ind: sorotipo indeterminado pelo padrão de referencia.

**Apêndice tabela 2 – Descrição das amostras dos estudos seleccionados segundo teste imunocromatográfico avaliado (continuação).**

Tipo de teste	Autor, ano	Idade (anos)	Sexo masculino (%)	Febre (dias)	N	n dengue	DENV1	DENV2	DENV3	DENV4	Ind	
<b>IgM/ IgG</b>	Berry et al, 1998	15 para a DHF	-	Aguda	43	31	-	-	-	-	-	
	Branch et al, 1999	-	-	Convalescente (14 dp 3.8)	62	36	-	-	-	-	-	
	Blacksell et al, 2006	-	-	-	491	326	-	-	-	-	-	
	Cohen et al, 2007	Aguda 11 (IC 95%: 7 - 45)	-	Aguda (3.4)	723	132	-	-	-	-	-	
		Convalescente 21	-	Convalescente (25.5)			-	-	-	-	-	
	Nga et al, 2007	-	-	-	200	162	-	-	-	-	n	
	Yusuf et al, 2008	-	-	-	50	22	-	-	-	-	-	
	Congpuong et al, 2008	-	-	-	Aguda (1.8)	175	100	37	27	69	12	0
	Martínez-Veja et al, 2009	27.7 (dp 16.3)	54%	-	Aguda (3.1 dp 0.8)	100	65	0	29	0	0	0
	Osório et al, 2010	-	-	-	Aguda (3)	310	218	-	-	-	-	-
	Aikat et al, 2011				Aguda e convalescente	158	29	1	16	47	2	33
	Pun et al, 2010	35.5 (IC 95%: 1 - 68)	76.30%	-	Aguda (<5)	131	50	-	-	-	-	-
	Blacksell et al, 2011	30 (CI: 16 - 86)	30.50%	-	Aguda e Convalescente (5 CI: 1-76)	259	99	33	8	49	23	0
	Sandoval et al, 2011	-	-	-	Aguda (1-4) Convalescente (>5)	161	71	-	-	-	-	-

N: número de pacientes na amostra. D: número de pacientes com dengue. Ind: sorotipo indeterminado pelo padrão de referencia.

**Apêndice tabela 2 – Descrição das amostras dos estudos seleccionados segundo teste imunocromatográfico avaliado (continuação).**

<b>Tipo de teste</b>	<b>Autor, ano</b>	<b>Idade (anos)</b>	<b>Sexo masculino (%)</b>	<b>Febre (dias)</b>	<b>N</b>	<b>n dengue</b>	<b>DENV1</b>	<b>DENV2</b>	<b>DENV3</b>	<b>DENV4</b>	<b>Ind</b>
	Pan-ngum et al, 2013	mediana 35 (IQ= 25 - 50)	68%	Aguda (5 IQ= 3 - 8)	549	135	-	-	-	-	184
	Parham et al, 2013	-	-	Aguda (<5)	61	48	-	-	-	-	-
				Convalescente (>6)							
	Naz et al, 2014	28.06 (dp14)	52.20%	Aguda (5 dp2.1)	184	142	-	-	-	-	-
<b>NS1/ IgM/ IgG</b>	Osório et al, 2010	-	-	Aguda (3)	310	218	13	17	7	5	0
	Tricou et al, 2010	12 (IC 95% 1 - 49)	57.80%	Aguda (3 IC 95% 1 - 6)	292	245	138	91	16	0	0
	Blacksell et al, 2011	30 (IC 95% 16 - 86)	30.50%	Aguda e Convalescente (5 IC 95% 1-76)	259	99	1	16	47	2	33
	Fry et al, 2011 (Malasya)	-	-	-	365	335	96	21	23	16	0
	Andries et al, 2012				126	31	53	21	1	0	10

N: número de pacientes na amostra. D: número de pacientes com dengue. Ind: sorotipo indeterminado pelo padrão de referencia.

**Apêndice tabela 3 – Acurácia dos testes rápidos imunocromatográficos segundo meio de detecção do vírus utilizado.**

<b>Tipo de teste</b>	<b>Autor, ano</b>	<b>N</b>	<b>D</b>	<b>Nd</b>	<b>Sn</b> <b>(95% CI)</b>	<b>Sp</b> <b>(95% CI)</b>	<b>PPV</b> <b>(95% CI)</b>	<b>PPN</b> <b>(95% CI)</b>	<b>LR+</b> <b>(95% CI)</b>	<b>LR-</b> <b>(95% CI)</b>	<b>Observações</b>
IgA	Ahmed et al, 2010	424	179	245	86% (80.1 - 90.8)	99.2% (97.1 - 99.9)	98.7% (95.2 - 99.6)	90.7% (86.5 - 93.5)	105.4 (26.47 - 419.55)	0.14 (0.10 - 0.20)	overall (aguda)
	Ahmed et al, 2010	204	179	25	99.40% (96.9 - 99.9)	92.0% (73.9 - 98.8)	98.9% (96.1 - 99.8)	9580.0% (78.8 - 99.3)	12.4 (3.29 - 46.97)	0.01 (0.9 - 0.04)	overall (convalescente)
	Tan et al, 2011	914	233	681	86.70% (81.7 - 90.8)	86.1% (83.2 - 88.6)	68.0% (62.4 - 73.3)	94,9% (92.9 - 95.6)	6.2 (5.12 - 7.54)	0.15 (0.11 - 0.21)	overall
	Hernández et al, 2012	225	172	53	61.10% (53.6 - 68)	86.8% (75.2 - 93.5)	93.8% (88.4 - 96.7)	40.7% (35.6 - 46)	4.6 (2.29 - 9.31)	0.45 (0.36 - 0.56)	overall
	Hartono et al, 2012	100	70	30	82.90% (72.4 - 89.9%)	73.3% (55.6 - 85.8)	87.9% (80 - 92.9)	64.7% (51.3 - 76.1)	3.1 (1.70 - 5.68)	0.23 (0.13 - 0.41)	overall (convalescente)
	Naz et al, 2014	184	142	42	85.20% (78.3 - 90.6)	81.0% (65.9 - 91.4)	93.8% (88.2 - 97.3)	61.8% (47.7 - 74.6)	4.5 (2.39 - 8.38)	0.18 (0.12 - 0.28)	
NS1	Dussart et al, 2008	320	272	48	76.10% (70.7 - 80.8)	100.0% (92.6 - 100)	100.0% (98.23-100)	42.5% (33,23-52,13)	infinity	0.24 (0.20 - 0.29)	leitura 15´
	Dussart et al, 2008	320	272	48	77.60% (72.3 - 82.1)	100.0% (92.6 - 100)	100.0% (98,3-100)	4404.0% (34,5 -53,9)	infinity	0.22 (0.18 - 0.28)	leitura 30´
	Zainah et al, 2009	533	314	219	90.40% (86,7 - 93,2)	99.5% (97,5 - 99,9)	99.6% (97,9-99,9)	87.9% (83,2 - 91,3)	198.1 (28.02 -1400.34)	0.1 (0.07 - 0.13)	overall

N: número de pacientes na amostra. D: número de pacientes com dengue. Nd: número de pacientes sem dengue. Sn: sensibilidade. IC 95%: intervalo de confiança de 95% de precisão. Sp: especificidade. VPP: Valor preditivo positivo. VPN: Valor preditivo negativo. RV+: razão de verossimilhança positiva. RV-: razão de verossimilhança negativa.



**Apêndice tabela 3 – Acurácia dos testes rápidos imunocromatográficos segundo meio de detecção do vírus utilizado (continuação).**

Tipo de teste	Autor, ano	N	D	Nd	Sn	Sp	PPV	PPN	LR+	LR-	Observações
					(95% CI)	(95% CI)	(95% CI)	(95% CI)	(95% CI)	(95% CI)	
NS1	Hang et al, 2009	138	125	13	72.80% (64.4 - 79.8)	100.0% (77.2 - 100)	100.0% (96,7 - 100)	2770.0% (15,6 - 42,6)	infinity	0.27 (0.20 - 0.36)	overall
	Ramirez et al, 2009	147	87	60	67.82% (57.4 - 76.7)	96.7% (88.6 - 99.1)	96.7% (89.58 - 99.02)	67.4% (60.4 - 73.8)	20.3 (5.17 - 80.09)	0.33 (0.24 - 0.45)	overall
	Chaiyaratana et al, 2009	203	186	17	98.90% (96.8 - 100)	90.6% (85.6 - 95.7)	9900.0% (96.24 - 99.66)	90.5% (69.8 - 96.8)	10.4 (2.78 - 38.85)	0.01 (0.00 - 0.04)	overall
	Shu et al, 2009	850	22	828	77.30% (56.6 - 89.9)	100.0% (99.5 - 100)	100.0%	99.4% (99.5 - 100)	infinity	0.23 (0.11 - 0.49)	overall (sangue)
	Pok et al, 2012	112	52	60	76.90% (63.9 - 86.3)	100.0% (94.0 - 100)	100.0%	83.3%	infinity	0.23 (0.14 - 0.38)	overall (set A)
	Pok et al, 2012	209	109	100	78.90% (70 - 86.1)	99.0% (94.6-99.9)	9890.0% (96.6-100)	81.2% (73.1-88.2)	78.9 (11.20 - 555.98)	0.21 (0.15 - 0.31)	overall (Set B)
	Osório et al, 2010	310	218	92	51.00% (44.1 - 57.7)	96.7% (90.8 - 99.3)	97.4% (92.5 - 99.5)	45.4% (38,3 - 52,7)	15.6 (5.1-48)	0.5 (0.44-0.58)	overall (só NS1)
	Osório et al, 2010	310	218	92	57.70% (47.6-67.3)	95.3% (84.2-99.4)	96.8% (88.8-99.6)	48.2% (37.3-59.3)	12.4 (3.17-48.5)	0.44 (0.35 - 0.56)	overall (15')
	Osório et al, 2010	310	218	92	61.50% (51.5-70.9)	93.3% (84.2-99.4)	97.0% (89.5-99.6)	50.6% (39.3-62)	13.2 (3.4-51.6)	0.4 (0.31 - 0.52)	overall (30')

N: número de pacientes na amostra. D: número de pacientes com dengue. Nd: número de pacientes sem dengue. Sn: sensibilidade. IC 95%: intervalo de confiança de 95% de precisão. Sp: especificidade. VPP: Valor preditivo positivo. VPN: Valor preditivo negativo. RV+: razão de verossimilhança positiva. RV-: razão de verossimilhança negativa.

**Apêndice tabela 3 – Acurácia dos testes rápidos imunocromatográficos segundo meio de detecção do vírus utilizado (continuação).**

<b>Tipo de teste</b>	<b>Autor, ano</b>	<b>N</b>	<b>D</b>	<b>Nd</b>	<b>Sn (95% CI)</b>	<b>Sp (95% CI)</b>	<b>PPV (95% CI)</b>	<b>PPN (95% CI)</b>	<b>LR+ (95% CI)</b>	<b>LR- (95% CI)</b>	<b>Observações</b>
NS1	Tricou et al, 2010	292	245	47	61.60% (55.2 - 67.8)	100.0% (93.8 - 100)	100.0% (98.0 - 100)	33.3% (25.6 - 41.8)	infinity	0.38 (0.33 - 0.45)	Biorad NS1
	Tricou et al, 2010	292	245	47	62.40% (56.1 - 68.5)	100.0% (93.8 - 100)	100.0% (98.1 - 100)	33.8% (26 - 42.3)	infinity	0.38 (0.32 - 0.44)	SD NS1
	Najioullaha et al, 2011	537	264	273	49.40% (43.2 - 55.6)	100.0% (97.3-100)	100.0%	68.0% (63.4 - 72.6)	infinity	0.51	Utilizanddo PCR como padrão de referência
	Najioullaha et al, 2011	537	264	273	83.11% (76.25 - 88.29)	99.7% (98.47 - 99.95)	99.2% (95.20 - 99.78)	93.6% (90.64 - 95.57)	304.18 (42.90 to 2156.49)	0.17 (0.12 to 0.24)	Utilizando ELISA como padrão de referência
	Fry et al, 2011 (Vietnam)	298	198	100	69.2% (62.5 - 75.2)	96.0% (90.2 - 98.4)	97.2% (93.22 - 98.84)	61.1% (56 - 66.1)	17.3 (6.59 - 45.39)	0.32 (0.26 - 0.40)	overall
	Fry et al, 2011 (Malasya)	293	263	30	62% (56.0 - 67.6)	96.7% (83.33 - 99.41)	99.4% (97.1 - 99.0)	22.5% (20.0 - 25.7)	18.6 2.70 to 128.01	0.39 0.33 to 0.47	overall
	Blacksell et al, 2011	259	39	220	58.60% (48.2 - 68.4)	92.5% (87.3 - 96.1)	82.9% (72 - 90.8)	78.3% (71.7 - 84)	7.8 (4.42 - 13.8)	0.45 (0.35 - 0.57)	NS1 Panbio
	Blacksell et al, 2011	259	39	220	48.50% (47.6-67.3)	99.4% (84.2-99.4)	98.0% (88.8-99.6)	75.7% (37.3-59.3)	77.6 (3.17-48.5)	0.52 (0.35 - 0.56)	NS1 Standard Diagnostics
Tricou et al, 2010	292	245	47	61.60% (55.2 - 67.8)	100.0% (93.8 - 100)	100.0% (98.0 - 100)	33.3% (25.6 - 41.8)	infinity	0.38 (0.33 - 0.45)	Biorad NS1	

N: número de pacientes na amostra. D: número de pacientes com dengue. Nd: número de pacientes sem dengue. Sn: sensibilidade. IC 95%: intervalo de confiança de 95% de precisão. Sp: especificidade. VPP: Valor preditivo positivo. VPN: Valor preditivo negativo. RV+: razão de verossimilhança positiva. RV-: razão de verossimilhança negativa.

**Apêndice tabela 3 – Acurácia dos testes rápidos imunocromatográficos segundo meio de detecção do vírus utilizado (continuação).**

Tipo de teste	Autor, ano	N	D	Nd	Sn (95% CI)	Sp (95% CI)	PPV (95% CI)	PPN (95% CI)	LR+ (95% CI)	LR- (95% CI)	Observações
NS1	Tricou et al, 2010	292	245	47	62.40% (56.1 - 68.5)	100.0% (93.8 - 100)	100.0% (98.1 - 100)	33.8% (26 - 42.3)	infinity	0.38 (0.32 - 0.44)	SD NS1
	Najioullaha et al, 2011	537	264	273	49.40% (43.2 - 55.6)	100.0% (97.3-100)	100.0%	68.0% (63.4 - 72.6)	infinity	0.51	Utilizando PCR como padrão de referência
	Najioullaha et al, 2011	537	264	273	83.11% (76.25 - 88.29)	99.7% (98.47 - 99.95)	99.2% (95.20 - 99.78)	93.6% (90.64 - 95.57)	304.18 (42.90 to 2156.49)	0.17 (0.12 to 0.24)	Utilizando ELISA como padrão de referência
	Fry et al, 2011 (Vietnam)	298	198	100	69.2% (62.5 - 75.2)	96.0% (90.2 - 98.4)	97.2% (93.22 - 98.84)	61.1% (56 - 66.1)	17.3 (6.59 - 45.39)	0.32 (0.26 - 0.40)	overall
	Fry et al, 2011 (Malasya)	293	263	30	62% (56.0 - 67.6)	96.7% (83.33 - 99.41)	99.4% (97.1 - 99.0)	22.5% (20.0 - 25.7)	18.6 (2.70 to 128.01)	0.39 (0.33 to 0.47)	overall
	Blacksell et al, 2011	259	39	220	58.60% (48.2 - 68.4)	92.5% (87.3 - 96.1)	82.9% (72 - 90.8)	78.3% (71.7 - 84)	7.8 (4.42 - 13.8)	0.45 (0.35 - 0.57)	NS1 Panbio
	Blacksell et al, 2011	259	39	220	48.50% (38.5 - 58.7)	99.4% (96.6 - 100)	98.0% (89.2 - 100)	75.7% (69.3 - 81.4)	77.6 (10.88 - 403.34)	0.52 (0.43 - 0.63)	NS1 Standard Diagnostics
	Sandoval et al, 2011	161	71	90	57.80% (45.6 - 69.9)	98.9% (96.2 - 100)	97.6% (86.8 - 99.4)	74.8% (66.2 - 81.6)	52.0 (7.33 - 368.66)	0.43 (0.33 - 0.56)	apenas NS1

: número de pacientes na amostra. D: número de pacientes com dengue. Nd: número de pacientes sem dengue. Sn: sensibilidade. IC 95%: intervalo de confiança de 95% de precisão. Sp: especificidade. VPP: Valor preditivo positivo. VPN: Valor preditivo negativo. RV+: razão de verossimilhança positiva. RV-: razão de verossimilhança negativa.

**Apêndice tabela 3 – Acurácia dos testes rápidos imunocromatográficos segundo meio de detecção do vírus utilizado (continuação).**

Tipo de teste	Autor, ano	N	D	Nd	Sn	Sp	PPV	PPN	LR+	LR-	Observações
					(95% CI)	(95% CI)	(95% CI)	(95% CI)	(95% CI)	(95% CI)	
NS1	Tontulawat et al, 2011	237	111	126	70.30%	73.0%	69.6%	73.6%	2.6	0.41	
					(61.2 - 78.0)	(64.7 - 80.0)	(62.7 - 75.8)	(67.3 - 79.1)	1.91 - 3.56	0.30 to 0.55	
	Andries et al, 2012	157	126	31	44.4	96.8%	98.2%	30.0%	13.8	0.57	SD NS1 (utilizando sangue total/hospital)
					(35.6 - 53.6)	(83.3 - 99.9)	(90.6 - 100)	(21.2 - 40)	(1.98 - 95.68)	(0.48 - 0.68)	
	Andries et al, 2012	157	126	31	45.20%	96.6%	98.3%	30.3%	14.0	0.57	SD NS1 (utilizando sangue total/Laboratório)
					(36.4 - 54.3)	(83.3 - 99.9)	(92 - 99.7)	(26.7 - 34.2)	(2.02 - 97.36)	(0.48 - 0.67)	
	Ferraz et al, 2013	77	67	10	94%	100.0%	100.0%	71.4%	infinity	0.06	overall Bioeasy
					(85.6 - 97.7)	(72.3 - 100)				(0.02 - 0.15)	
	Ferraz et al, 2013	77	67	10	91%	100.0%	100.0%	62.5%	infinity	0.09	overall Biorad
				(81.8 - 95.8)	(72.3 - 100)				(0.04 - 0.19)		
Ferraz et al, 2013	77	67	10	88.10%	100.0%	100.0%	55.6%	infinity	0.12	overall Panbio	
				(78.2 - 93.8)	(72.3 - 100)				(0.06 - 0.23)		
Pan-ngum et al, 2013	549	135	414	54.80%	95.1%	66.7%	92.1%	11.2	0.48	overall	
				(43.5 - 65.7)	(92.7 - 96.8)	(54.3 - 77.6)	(89.3 - 94.3)	(7.89 - 15.87)	(0.39 - 0.57)		
Parham et al, 2013	61	48	13	87.50%	15.4%	79.2%	25.0%	1.0	0.81	apenas NS1	
				(75.3 - 94.1)	(4.33 - 42.2)	(74.3 - 83.4)	(7.8 - 56.8)	(0.80 - 1.33)	(0.19 - 3.56)		
Naz et al, 2014	184	142	42	64.10%	100.0%	100.0%	45.2%	infinity	0.36	apenas NS1	
				(55.6 - 72)	(91.6 - 100)	(96 - 100)	(34.8 - 55.8)		(0.29 - 0.45)		

N: número de pacientes na amostra. D: número de pacientes com dengue. Nd: número de pacientes sem dengue. Sn: sensibilidade. IC 95%: intervalo de confiança de 95% de precisão. Sp: especificidade. VPP: Valor preditivo positivo. VPN: Valor preditivo negativo. RV+: razão de verossimilhança positiva. RV-: razão de verossimilhança negativa.

**Apêndice tabela 3 – Acurácia dos testes rápidos imunocromatográficos segundo meio de detecção do vírus utilizado (continuação).**

<b>Tipo de teste</b>	<b>Autor, ano</b>	<b>N</b>	<b>D</b>	<b>Nd</b>	<b>Sn</b> <b>(95% CI)</b>	<b>Sp</b> <b>(95% CI)</b>	<b>PPV</b> <b>(95% CI)</b>	<b>PPN</b> <b>(95% CI)</b>	<b>LR+</b> <b>(95% CI)</b>	<b>LR-</b> <b>(95% CI)</b>	<b>Observações</b>
NS1	Lima et al, 2012	450	220	230	89.6% (84.8 - 92.9)	99.1% (96.9 - 99.8)	99.0% (96.6 - 99.7)	90.8% (87.1 - 93.6)	103.0 (25.9 - 409.6)	0.11 (0.07 - 0.16)	overall
IgM/IgG	Berry et al, 1998	43	12	31	41.70% (19.3 - 68.1)	96.80% (83.8 - 99.4)	83.30% (47.3 - 96.5)	81.10% (72.4 - 87.5)	12.92 (1.68 - 99.44)	0.6 (0.37 - 0.98)	overall IgM
	Berry et al, 1998	43	17	26	47.10% (26.2 - 69)	100% (87.1 - 100)	100% (68.8 - 100)	74.30% (58 - 86.7)	infinity	0.53 (0.34 - 0.83)	overall IgG
	Branch et al, 1999	92	62	30	83.90% (72.8 - 91.0)	100% (88.7 - 100.0)	75%	100.00%	infinity	0.16 0.09 to 0.28	overall
	Blacksell et al, 2006	491	326	165	22.90% (18.3 - 27.6)	98.90% (95.7 - 99.9)	97.40% (90.8 - 99.7)	39.30% (34.6 - 44.2)	18.98 (4.72 - 76.33)	0.78 (0.73 - 0.83)	overall - Core
	Blacksell et al, 2006	491	326	165	17.80% (13.8 - 22.4)	98.20% (94.7 - 99.4)	95.10% (86.3 - 99)	37.70% (33.1 - 42.4)	9.79 (3.11 - 30.76)	0.84 (0.79 - 0.88)	overall - Diazyme
	Blacksell et al, 2006	491	326	165	62.90% (57.4 - 68.1)	69.10% (61.4 - 76)	80.10% (74.7 - 84.8)	48.50% (42 - 55.1)	2.03 (1.60 - 2.59)	0.54 (0.45 - 0.64)	overall – GlobaleMed
	Blacksell et al, 2006	491	326	165	8.60% (5.8 - 12.2)	100% (97.8 - 100)	100% (87.7 - 100)	35.60% (31.3 - 40.2)	infinity	0.91 (0.88 - 0.95)	overall - Minerva
	Blacksell et al, 2006	491	326	165	65.30% (59.9 - 70.5)	97.60% (93.9 - 99.3)	98.20% (95.4 - 99.5)	58.80% (52.7 - 64.7)	26.97 (10.20 - 71.19)	0.36 (0.31 - 0.41)	overall - Panbio
	Blacksell et al, 2006	491	326	165	21.80% (17.4 - 26.7)	98.80% (95.7 - 99.9)	97.30% (90.5 - 99.7)	39% (34.3 - 43.9)	17.97 (4.46 - 72.34)	0.79 (0.75 - 0.84)	overall - Standard Diagnostics
	Blacksell et al, 2006	491	326	165	9.50% (6.6 - 13.2)	97% (93 - 99)	86.10% (70.5 - 95.3)	35.20% (30.8 - 39.8)	3.14 (1.24 - 7.92)	0.93 (0.89 - 0.98)	overall - Teco

N: número de pacientes na amostra. D: número de pacientes com dengue. Nd: número de pacientes sem dengue. Sn: sensibilidade. IC 95%: intervalo de confiança de 95% de precisão. Sp: especificidade. VPP: Valor preditivo positivo. VPN: Valor preditivo negativo. RV+: razão de verossimilhança positiva. RV-: razão de verossimilhança negativa.

**Apêndice tabela 3 – Acurácia dos testes rápidos imunocromatográficos segundo meio de detecção do vírus utilizado (continuação).**

Tipo de teste	Autor, ano	N	D	Nd	Sn (95% CI)	Sp (95% CI)	PPV (95% CI)	PPN (95% CI)	LR+ (95% CI)	LR- (95% CI)	Observações
IgM/IgG	Blacksell et al, 2006	491	326	165	6.40% (4 - 9.7)	99.40% (96.9-99.9)	95.5 (77.2-99.9)	35% (30.7 - 39.5)	10.63 (1.44 - 78.33)	0.94 (0.91 - 0.97)	overall - Tulip
	Cohen et al, 2007	723	132	591	19% (14.2 - 24.9)	96% (94 - 97.4)	64.40% (52.26 - 74.95)	75.60% (74.3 - 76.9)	4.73 (2.85 - 7.86)	0.84 (0.79 - 0.90)	aguda overall
	Cohen et al, 2007	723	132	591	59% (52.1 - 65.6)	95% (92.8 - 96.6)	81.90% (75.47 - 87.01)	85.80% (83.7 - 87.8)	11.87 (8.02 - 17.57)	0.43 (0.36 - 0.51)	convalescente overall
	Nga et al, 2007	200	162	38	66.40% (58.4 - 73.6)	94.40% (84.9-98.1)	97 (91.6-99.0)	51% (41.4 - 60.6)	12.67 (3.27 - 49.02)	0.35 (0.28 - 0.44)	IgG - PanBio D Duo Cassette - convalesc
	Nga et al, 2007	200	162	38	10.6 (6 - 18)	0.99 (94.3-99.8)	91.7 (64.6-98.5)	50.5 (43.5-57.6)	12.49 (2.92 - 53.32)	0.9 (0.86 - 0.95)	IgM - SD Bioline D IgG/IgM strip - conv
	Nga et al, 2007	200	162	38	90.4 (84.6 - 94.2)	0.889 (77.8 - 94.8)	95.7 (90.8 - 98.0)	77.4 (65.6 - 86.0)	8.56 (3.38 - 21.66)	0.11 (0.07 - 0.18)	IgG -SD Bioline D IgG/IgM strip - conv
	Yusuf et al, 2008	50	22	28	45.80% (31.6 - 60.7)	100% (19.8-100)	100% (81.5 - 100)	71% (56 - 84)	infinity	0.55 (0.37 - 0.80)	IgM/IgG
	Congpuong et al, 2008	175	100	75	23% (15.8 - 32.2)	100% (95.13 - 100)	100%	55%	infinity	0.77 (0.69 - 0.86)	overall
	Martínez-Vega et al, 2009	100	65	35	52.20% (40.3-64.2)	84.80% (72.6-97.1)	87.50% (77,3-97,7)	46.70% (34 - 59.3)	3.66 (1.57 - 8.52)	0.56 (0.42 - 0.74)	aguda

N: número de pacientes na amostra. D: número de pacientes com dengue. Nd: número de pacientes sem dengue. Sn: sensibilidade. IC 95%: intervalo de confiança de 95% de precisão. Sp: especificidade. VPP: Valor preditivo positivo. VPN: Valor preditivo negativo. RV+: razão de verossimilhança positiva. RV-: razão de verossimilhança negativa.

**Apêndice tabela 3 – Acurácia dos testes rápidos imunocromatográficos segundo meio de detecção do vírus utilizado (continuação).**

Tipo de teste	Autor, ano	N	D	Nd	Sn (95% CI)	Sp (95% CI)	PPV (95% CI)	PPN (95% CI)	LR+ (95% CI)	LR- (95% CI)	Observações
IgM/IgG	Martínez-Vega et al, 2009	100	65	35	76.10% (65.9-86.3)	75.80% (61.1-90.4)	86.40% (77.7-95.2)	61% (46 – 75.9)	3.3 (1.77 - 6.16)	0.32 (0.20 - 0.51)	convalescente
	Osório et al, 2010	310	218	92	78.4% (72.5 – 83.4)	91.3% (83.77 – 95.53)	95.5% (91.26 – 97.61)	64.1% (57.9 – 69.9)	9.02 (4.64 – 17.55)	0.24 (0.18 – 0.31)	overall
	Pun et al, 2010	131	50	81	70.0% (55.5 - 81.5)	76.5% (56.2 - 80.8)	64.8% (51.5 - 76.1)	80.5% ( 71 - 87)	2.98 (1.94 - 4.60)	0.39 (0.25 - 0.61)	overall
	Aikat et al, 2011	158	29	129	96.4% (85.2 - 99.4)	98.4% (94.5 - 99.6)	93.1% (77.6 - 97.7)	99.2% (96.4 - 99.8)	62.6 (15.7 - 246.76)	0.04 (0.01 - 0.24)	IgM/IgG
	Blacksell et al, 2011	259	99	160	72.7% (62.9 - 81.2)	73.8% (66.2 - 80.4)	63.2% (53.2 - 72)	81.4% (74.1 - 87.4)	2.77 (2.08 - 3.69)	0.37 (0.26 - 0.52)	IgM Merlin
	Blacksell et al, 2011	259	99	160	79.8% (70.5 - 87.2)	46.3% (38.3 - 54.3)	49.9% (40.1 - 55.8)	78.7% (69.1 - 86.5)	1.48 (1.25 - 1.77)	0.44 (0.29 - 0.67)	IgM Biosynex
	Blacksell et al, 2011	259	99	160	70.7% (60.7 - 79.4)	80.0% (73 - 85.9)	68.6% (58.7 - 77.5)	81.5% (74.6 - 87.3)	3.54 (2.53 - 4.94)	0.37 (0.27 - 0.50)	IgM Panbio
	Blacksell et al, 2011	259	99	160	79.2% (70.5 - 87.2)	89.4% (83.5 - 93.7)	82.3% (73.2 - 89.3)	87.7% (81.7 - 92.3)	7.42 (4.68 - 11.76)	0.24 (0.16 - 0.35)	IgM Standard Diagnostics
	Tontulawat et al, 2011	200	162	38	67.3% (59.7 - 74.0)	92.1% (79.2 - 97.3)	97.3% (92.9 - 99.0)	39.8% (34.2 -45.7)	8.52 (2.86 - 25.38)	0.36 (0.28 - 0.45)	IgM - PanBio D Duo Cassette- covalesc

N: número de pacientes na amostra. D: número de pacientes com dengue. Nd: número de pacientes sem dengue. Sn: sensibilidade. IC 95%: intervalo de confiança de 95% de precisão. Sp: especificidade. VPP: Valor preditivo positivo. VPN: Valor preditivo negativo. RV+: razão de verossimilhança positiva. RV-: razão de verossimilhança negativa.

**Apêndice tabela 3 – Acurácia dos testes rápidos imunocromatográficos segundo meio de detecção do vírus utilizado (continuação).**

Tipo de teste	Autor, ano	N	D	Nd	Sn	Sp	PPV	PPN	LR+	LR-	Observações
					(95% CI)	(95% CI)	(95% CI)	(95% CI)	(95% CI)	(95% CI)	
IgM/IgG	Pan-ngum et al, 2013	549	135	414	50.0%	89.5%	46.2%	90.8%	4.74	0.56	IgM
					(38.9 - 61.1)	(86.3 - 92.1)	(35.6 - 56.9)	(87.8 - 93.3)	(3.62 - 6.20)	(0.48 - 0.67)	
IgM/IgG	Pan-ngum et al, 2013	549	135	414	61.9%	79.6%	35.4%	92.0%	3.05	0.47	IgG
					(50.7 - 72.3)	(75.6 - 83.1)	(27.7 - 43.7)	(88.9 - 94.5)	(2.80 - 3.28)	(0.38 - 0.59)	
IgM/IgG	Parham et al, 2013	73	57	16	82.5%	87.5%	95.9%	58.3%	6.6	0.2	IgM
					(70.6 - 90.2)	(64 - 96.5)	(87.8 - 98.7)	(43.7 - 71.6)	(1.79 - 24.24)	(0.11 - 0.36)	
IgM/IgG	Naz et al, 2014	184	142	42	63.4%	76.2%	90.0%	38.1%	2.66	0.48	IgM
					(54.9 - 71.3)	(60.5 - 88)	(82.4 - 95.1)	(27.7 - 49.3)	(1.53 - 4.64)	(0.37 - 0.63)	
IgM/IgG	Naz et al, 2014	184	142	42	48.6%	76.2%	87.3%	30.5%	2.04	0.67	IgG
					(40.1 - 57.1)	(60.6 - 88)	(78 - 93.8)	(21.9 - 40.2)	(1.16 - 3.60)	(0.53 - 0.85)	
IgM/IgG	Naz et al, 2014	184	142	42	72.5%	69.1%	88.8%	42.7%	2.34	0.4	IgG
					(64.4 - 79.7)	(52.9 - 82.4)	(81.6 - 93.9)	(30.7 - 55.2)	(1.48 - 3.72)	(0.28 - 0.56)	
NS1/IgM/IgG	Osório et al, 2010	310	218	92	80.7%	89.1%	94.6%	66.1%	7.43	0.22	overall
					(75 - 85.4)	(81.14 - 93.99)	(90.82 - 96.91)	(59.6 - 72.1)	(4.12 - 13.38)	(0.16 - 0.29)	
NS1/IgM/IgG	Tricou et al, 2010	292	245	47	75.5%	100.0%	100.0%	43.9%	infinity	0.24	NS1 ou IgM
					(56.1 - 68.5)	(93.8 - 100)	(98.0 - 100)	(34.3 - 53.9)		(0.20 - 0.31)	
NS1/IgM/IgG	Tricou et al, 2010	292	245	47	83.7%	97.9%	99.5%	53.5%	39.33	0.17	NS1 ou IgM ou IgG
					(78.4 - 88.1)	(88.7 - 99.9)	(97.3 - 100.0)	(42.4 - 64.3)	(5.65 - 273.61)	(0.13 - 0.22)	
NS1/IgM/IgG	Blacksell et al, 2011	259	99	160	92.9%	88.8%	83.6%	95.4%	8.26	0.08	IgM/NS1 Standart Diagnostics
					(83.9 - 97.1)	(82.8 - 93.2)	(75.4 - 90)	(90.6 - 98.1)	(5.33 - 12.81)	(0.04 - 0.16)	

N: número de pacientes na amostra. D: número de pacientes com dengue. Nd: número de pacientes sem dengue. Sn: sensibilidade. IC 95%: intervalo de confiança de 95% de precisão. Sp: especificidade. VPP: Valor preditivo positivo. VPN: Valor preditivo negativo. RV+: razão de verossimilhança positiva. RV-: razão de verossimilhança negativa.



**Apêndice tabela 3 – Acurácia dos testes rápidos imunocromatográficos segundo meio de detecção do vírus utilizado (continuação).**

Tipo de teste	Autor, ano	N	D	Nd	Sn	Sp	PPV	PPN	LR+	LR-	Observações
					(95% CI)	(95% CI)	(95% CI)	(95% CI)	(95% CI)	(95% CI)	
NS1/IgM/IgG	Blacksell et al, 2011	259	99	160	89.9%	75.0%	69.0%	92.3%	3.6	0.13	IgM/NS1 Panbio
					(82.2–95.0)	(67.6–81.5)	(60.3–76.8)	(86.3-96.2)	(2.73 - 4.74)	(0.07 - 0.24)	
	Fry et al, 2011 – MALASYA	293	263	30	72.5%	96.7%	99.5%	28.7%	21.76	0.28	overall
					(67.5 - 77)	(83.3 - 99.4)	(97.5 - 99.9)	(24.6 - 33.3)	(3.16 - 149.54)	(0.24 - 0.34)	
	Andries et al, 2012	157	126	31	85.7	83.9	95.6	59.1	6.17	0.17	(sangue hospital)
					(78.4 - 91.3)	(66.3 - 94.5)	(90.0 - 98.5)	(43.2 - 73.7)	(2.73 - 13.96)	(0.11 - 0.26)	
	Andries et al, 2012	157	126	31	94.4	90	97.5	77.1	9.44	0.06	(sangue Laboratorio)
					(88.9 - 97.7)	(73.5 - 97.9)	(93.0 - 99.5)	(59.9 - 89.6)	(3.23 - 27.65)	(0.03 - 0.13)	

N: número de pacientes na amostra. D: número de pacientes com dengue. Nd: número de pacientes sem dengue. Sn: sensibilidade. IC 95%: intervalo de confiança de 95% de precisão. Sp: especificidade. VPP: Valor preditivo positivo. VPN: Valor preditivo negativo. RV+: razão de verossimilhança positiva. RV-: razão de verossimilhança negativa.

#### **4.4 ESTUDO 4 - Custo-efetividade do diagnóstico do dengue em um município do Rio de Janeiro.**

**Situação:** Elaboração do manuscrito para publicação

Mata, Verónica Elizabeth; Passos, Sonia Regina Lambert; Maciel, Anna Carolina Foutorua Seixas Rangel; Costa, Betina Moreira; dos Santos, Maria Angelica Borges.

### **INTRODUÇÃO**

O dengue é uma doença viral aguda, causada por um arbovírus, da família Flaviviridae, gênero *Flavivirus*, podendo se apresentar sob a forma de 4 complexos antigênicos distintos, denominados sorotipos: DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4. O principal hospedeiro deste vírus é o mosquito *Aedes*, prevalecendo a espécie *Aedes aegypti*, responsável pela transmissão em primatas e humanos<sup>1</sup>.

Se trata de uma doença com amplo espectro de sinais e sintomas, assemelhando-se a outras doenças febris agudas como malária, tifo, zika, chikungunya e leptospiroses e que pode variar de casos assintomáticos até graves, ou levar ao óbito<sup>2</sup>.

Dados de 2013 revelam que o vírus está presente em mais de 146 países, onde coloca em risco cerca de 4 bilhões de pessoas, com uma incidência global de 810,1/100 mil habitantes, baixa taxa de mortalidade (1,27/1 milhão de habitantes) e elevada carga de doença (92,02 anos de vida/100 mil habitantes ajustados por incapacidade (*Disability Adjusted Life Years - DALY*)<sup>3</sup>.

Trata-se de um grave problema de saúde pública, agravado pelos altos custos com o tratamento desta doença, superando os custos de outras doenças infecciosas importantes, como cólera, gastroenterites causadas por rotavírus e doença de chagas, com um valor estimado de U\$S 8,9 bilhões<sup>3</sup>.

Atualmente, a identificação dos casos suspeitos é baseada em sinais e sintomas inespecíficos<sup>4</sup>, além de exames laboratoriais, muitas vezes caros e demorados como *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR), *Enzyme Linked ImmunonoSorbent Assay* (ELISA) e sorologias pareadas IgM/IgG<sup>5-6</sup>. Estes últimos, atualmente são questionados em cenários de co-circulação de flavivírus (dengue, zika, febre amarela, febre do Nilo e encefalite japonesa) que devido à exposição prévia a

algum flavivírus pode apresentar reação cruzada em métodos ELISA IgM, tornando o seu uso ineficiente<sup>7</sup>.

Nas últimas décadas, métodos rápidos para a detecção da proteína não estrutural 1 (NS1) baseados em ensaio imunocromatográficos, tem sido apresentado como um avanço potencial para a confirmação laboratorial dos casos nos primeiros dias de doença<sup>5,8</sup>. Estes testes permitem a utilização de sangue, soro ou plasma para promover a reação e podem ser realizados em locais sem infraestrutura de laboratorial, por qualquer profissional de saúde minimamente treinado, com resultados em até 20 minutos<sup>9</sup>.

Testes rápidos imunocromatográficos com detecção de NS1 (TRI) foram amplamente avaliados nas últimas décadas evidenciando elevada especificidade (variando de 96%<sup>10</sup> a 100%<sup>11</sup>) e melhor sensibilidade para os sorotipos 1, 2 e 3, variando de 61,3%<sup>10</sup> no DENV-3 a 81,8%<sup>12</sup> para DENV-1 e DENV-2, já em DENV-4 variou de 44,5%<sup>13</sup> a 84,8%<sup>12</sup>.

Neste contexto, TRI poderiam auxiliar o diagnóstico clínico e permitir a instauração do tratamento oportuno a tempo de evitar complicações e custos com tratamentos, muitas vezes, desnecessários.

Considerando a importância diagnóstica destes testes e a escassez de estudos sobre avaliação econômica no âmbito do diagnóstico do dengue no Brasil, se faz necessário desenvolver pesquisas que tenham por objetivo analisar o custo-efetividade de quatro testes rápidos imunocromatográficos com detecção da proteína NS1 para o diagnóstico precoce do dengue em adultos.

## MÉTODOS

Estudo de avaliação econômica de custo-efetividade segundo as diretrizes do Ministério da Saúde do Brasil<sup>14</sup> e o *guideline CHEERS (Consolidated Health Economic Evaluation Reporting Standards)*<sup>15</sup> para comparar quatro testes rápidos imunocromatográficos NS1 para a detecção do vírus dengue: Dengue NS1-Bioeasy<sup>®</sup> (Standard Diagnostic Inc, Coreia), Dengue NS1 Ag Strip-BioRad<sup>®</sup> (BioRad Laboratories Inc, França), IVB Dengue Ag NS1-Orangelife<sup>®</sup> (Orangelife Comercio e Industria Ltda, Brasil) e Dengue NS1-K130-Bioclin<sup>®</sup> (Quibasa Química Básica Ltda, Brasil).

## **População**

A população foi composta por adultos (maiores que 18 anos) de ambos os sexos, sem foco infeccioso estabelecido, com síndrome febril aguda com duração de até 72 horas e pelo menos dois sintomas daqueles estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde<sup>4</sup> (OMS) como caso suspeito de dengue, durante período epidêmico de dengue em março de 2015.

## **Contexto e local do estudo**

O estudo foi realizado em um Hospital Municipal de Emergências (HME) em Resende, Rio de Janeiro. Esta unidade está situada no centro da cidade com alta circulação de usuários e no ano de 2015 foi referência local para o tratamento do dengue. O armazenamento e processamento das amostras foi realizado no Laboratório de Flavivírus do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), referência regional para o diagnóstico e caracterização de vírus de dengue.

O estudo incluiu adultos com síndrome febril aguda de até 72h com dois ou mais dos sintomas sugeridos pela OMS como caso suspeito da doença<sup>4</sup> que procuraram atendimento de maneira espontânea no HME e concordaram em participar assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

## **Aspectos éticos**

O Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (INI), aprovou este estudo em 22/01/2016 sob número CAAE 551189215.9.0000.5262 e conta com Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos RBR-88b5jr, UTN U1111-1145-9451<sup>16</sup>.

## **Perspectiva do estudo**

Foram abordadas a perspectiva do Sistema Único de Saúde (SUS) e a perspectiva do indivíduo acrescida ou não à do SUS, as quais consideram os custos e benefícios do sistema de saúde acrescidos ou não daqueles experimentados pelos indivíduos<sup>17</sup>. Assim, para melhor entendimento e visualização foram descritos os custos e benefícios na perspectiva do SUS e do indivíduo.

## **Comparadores**

Nesta avaliação foram comparadas quatro tecnologias relacionadas ao diagnóstico rápido de dengue: Dengue NS1-Bioeasy<sup>®</sup> (Standard Diagnostic Inc, Coréia), Dengue NS1 Ag Strip-BioRad<sup>®</sup> (Laboratórios BioRad, França), IVB Dengue AgNS1-Orangelife<sup>®</sup> (Orangelife Comércio e Indústria Ltda, Brasil) e Dengue NS1-K130-Bioclin<sup>®</sup> (Quibasa Química Básica Ltda, Brasil).

## **Horizonte temporal**

Por se tratar de uma doença aguda foi utilizado como referência o tempo médio de doença dos pacientes durante a epidemia de dengue em 2015, em Resende (tempo médio de 3,5 dias, variando de 1 a 22 dias).

## **Taxa de desconto**

Não foi utilizada nenhuma taxa de desconto por se tratar de uma análise com horizonte temporal inferior a um ano<sup>14</sup>,

## **Desfechos**

Neste estudo foram avaliados os desfechos cura (considerada como alta médica ou cessação dos sintomas) e óbito, os quais são relevantes pois refletem as evoluções da história natural da doença.

## **Medida de efetividade**

A medida de efetividade utilizada foi dias de trabalho perdidos por incapacidade, calculados a partir dos relatos dos próprios pacientes e segundo a acurácia dos quatro testes rápidos imunocromatográficos NS1 avaliados.

## **Coleta de dados clínicos e laboratoriais**

Inicialmente, os pacientes selecionados responderam um questionário sobre sinais clínicos e sintomatologia<sup>13</sup> associada ao dengue e a seguir, duas amostras de sangue foram coletadas em tubos a vácuo por enfermeiras ou acadêmicos de medicina com prévia assepsia com álcool 70% e punção venosa braquial com agulha 25x7 mm BD Vacutainer<sup>®</sup>. Um tubo de coleta com EDTA K2 foi encaminhado ao laboratório do

hospital para realização de hemograma completo. O segundo tubo com ativador de coágulo e gel separador, para obtenção de soro, foi transportado ao Laboratório de Flavivírus, onde permaneceu congelado a  $-70^{\circ}\text{C}$  para subsequente caracterização da amostra e realização dos testes rápidos imunocromatográficos (TRI) com soro.

## **Acurácia dos testes rápidos imunocromatográficos**

### **Teste referência**

Os casos positivos de dengue foram definidos através da positividade do método RT-PCR, estes foram realizados segundo o protocolo recomendado pela OMS<sup>18</sup>. Já os pacientes considerados não-dengue foram aqueles que apresentaram resultado negativo pelo método RT-PCR.

Este teste foi realizado no Laboratório de Flavivírus por uma bióloga mascarada para o resultado dos testes índices.

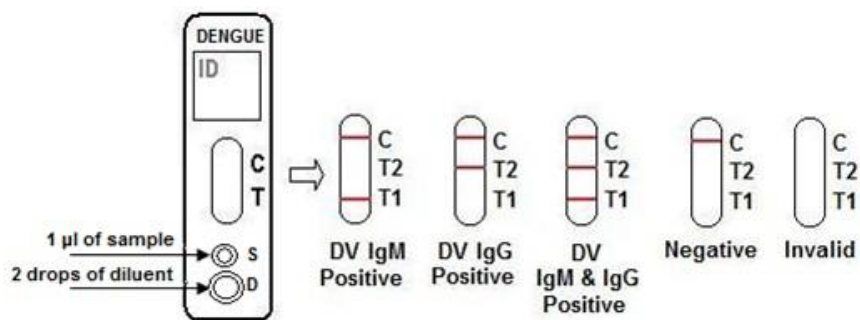
### **Testes índices**

Foram utilizados os testes rápidos imunocromatográficos com detecção da proteína não estrutural 1: Dengue NS1-Bioeasy<sup>®</sup> (Standard Diagnostic Inc, Coreia), Dengue NS1 Ag Strip-BioRad<sup>®</sup> (Laboratórios Bio-Rad, França), IVB Dengue AgNS1-Orangelife<sup>®</sup> (Orangelife Comércio e Indústria Ltda, Brasil) e Dengue NS1-K130-Bioclin<sup>®</sup> (Quibasa Química Básica Ltda, Brasil).

Três dos TRI<sup>19-21</sup> tem apresentação comercial do tipo cassete retangular com um orifício no qual pode ser colocado sangue total, soro ou plasma e uma janela para leitura do resultado. O teste Bio-Rad<sup>®22</sup>, com formato de fita teste, permite apenas o uso de soro ou plasma, requer um tampão de migração, um tubo de ensaio para promover a reação imunocromatográfica e uma pipeta. Estes últimos dois acessórios não se encontravam disponíveis no kit comercializado.

A interpretação dos testes deve ser realizada após 15 ou 20 minutos de iniciada a reação e pode ser executado por qualquer profissional de saúde minimamente treinado<sup>19</sup> conforme mostra a figura 1.

**Figura 1 – Realização e interpretação dos testes imunocromatográficos,**



Fonte: Dengue Eden Test Bioeasy®, Korea: Bioeasy Diagnóstica Ltda, 2015.

Todos os soros dos pacientes suspeitos de dengue foram submetidos aos quatro TRI, os quais foram realizados de acordo com as instruções<sup>19-22</sup> de cada fabricante por uma bióloga ou enfermeira, de forma independente e mascaradas para o teste referência.

### **Coleta dos dados de custo**

Foram utilizados dois instrumentos para a coleta de dados. O primeiro com as informações extraídas dos prontuários de cada paciente para coleta dos custos do sistema de saúde, com o detalhamento e quantitativo de consultas médicas e de enfermagem realizadas por cada paciente, assim como exames, procedimentos, medicações administradas durante o período de permanência do paciente no hospital. O segundo, um formulário realizado através de entrevista telefônica durante o mês de abril de 2015 para detectar os custos dispendidos pelos pacientes durante o tratamento da doença. Este visava obter informações quanto: ao quantitativo de dias de trabalho perdidos por incapacidade (perda de produtividade), necessidade de acompanhantes e a perda de produtividade destes, transporte para o atendimento médico/hospitalar, alimentação durante a permanência no hospital, bebidas e medicamentos para o tratamento da doença.

A perspectiva do SUS foi acrescida à os custos e benefícios da perspectiva do indivíduo<sup>17</sup>, assim serão apresentados os custos e fontes de cada uma destas perspectivas separadamente para melhor visualização e entendimento.

### **Custos na perspectiva do Sistema Único de Saúde**

Nesta perspectiva foram utilizados os custos médicos diretos para o tratamento do dengue. Foi adotada a técnica de micro-custeio e os dados obtidos a partir de um

formulário (ANEXO 1) para extração dos custos médicos diretos com informações sobre tipo e quantitativo de procedimentos, exames laboratoriais e/ou de imagem, insumos, medicamentos, consultas médicas e de enfermagem, a partir do prontuário médico de cada participante (Quadro 1).

Os custos médicos diretos mínimos, médios e máximo foram obtidos de seguinte maneira:

- **Medicações/hidratações:** os custos mínimo, máximo e médio foram extraídos do Banco de Preço em Saúde (BPS)<sup>23</sup>, valores referentes ao Estado ou município de Rio de Janeiro em março de 2015.
- **Exames e consultas:** estes custos foram extraídos do Sistema de Gerenciamento da Tabela de Procedimentos, Medicamentos e órteses, próteses e materiais especiais do SUS (SIGTAP)<sup>24</sup> e no BPS<sup>23</sup>, para o município de Resende em março de 2015, ou em sua ausência, município ou estado mais próximo. Como nesta base de dados é disponibilizado apenas o custo unitário, este mesmo valor foi considerado como custo mínimo, médio e máximo,
- **Internações:** obtido a partir de dados para o município de Resende em março de 2015 do Departamento de Informática do SUS (DATASUS)<sup>25</sup>, sendo o custo médio diário da internação de R\$295,25 (quadro 2).
- **Testes rápidos imunocromatográficos NS1 para diagnóstico de dengue:** o custo referente aos testes rápidos foi obtido a partir dos preços praticados pelos fabricantes durante este período.



**Quadro 1 – Relação das medicações, hidratações, exames, consultas, diária de internação e custos em reais dispendidos pelo Sistema Único de Saúde para o tratamento de dengue no município de Resende em 2015.**

Descrição Item	Apresentação	Preço médio	Preço mínimo	Preço máximo	Fonte
<b>Medicações/Hidratações</b>					
Cloreto de sódio 0,9% - Solução injetável, Sistema fechado	Bolsa 250 ml	1,89	0,87	3,75	Banco de Preços <sup>23</sup>
Dipirona Sódica 500 mg	Comprimido	0,06	0,06	0,22	Banco de Preços <sup>23</sup>
Dipirona Sódica 500 mg/ml, Solução injetável	Ampola 2 ml	0,46	0,32	1,74	Banco de Preços <sup>23</sup>
Metoclopramida cloridrato 5 mg/ml, Solução injetável	Ampola 2 ml	0,34	0,23	0,68	Banco de Preços <sup>23</sup>
Omeprazol 10 mg	Cápsula	0,48	0,47	0,90	Banco de Preços <sup>23</sup>
Omeprazol 20 mg	Cápsula	0,05	0,03	0,13	Banco de Preços <sup>23</sup>
Sais para reidratação oral, pó, composto por: cloreto de sódio 3,5g + glicose 20g, + citrato de sódio 2,9g + cloreto de potássio 1,5g, para 1,000ml de solução pronta, segundo padrão OMS, envelope contendo 27,9g	Envelope	0,37	0,30	1,26	Banco de Preços <sup>23</sup>
Paracetamol 500 mg	Comprimido	0,03	0,02	0,13	Banco de Preços <sup>23</sup>
Paracetamol 750 mg	Comprimido	0,04	0,04	0,15	Banco de Preços <sup>23</sup>
Dexametasona 2 mg/ml, solução injetável	Ampola 1 ml	1,25	0,48	3,50	Banco de Preços <sup>23</sup>
Diclofenaco, sal potássico 25mg/ml, solução injetável	Ampola 3 ml	0,56	0,38	1,80	Banco de Preços <sup>23</sup>
Ranitidina Cloridrato 25mg/ml, solução injetável	Ampola 2 ml	0,54	0,30	1,62	Banco de Preços <sup>23</sup>
Escopolamina Butilbrometo 20mg/ml, solução injetável	Ampola 1 ml	0,92	0,43	2,34	Banco de Preços <sup>23</sup>
Prometazina Cloridrato 25mg/ml, solução injetável	Ampola 2 ml	1,29	0,51	2,78	Banco de Preços <sup>23</sup>
Captopril 50mg	Comprimido	0,03	0,02	0,09	Banco de Preços <sup>23</sup>
Vitaminas do complexo B, B1, B2, B5, B6 e PP, solução injetável	Ampola 2ml	0,70	0,59	1,63	Banco de Preços <sup>23</sup>
Hidroclorotiazida 25mg	Comprimido	0,02	0,01	0,07	Banco de Preços <sup>23</sup>
Insulina, Glulisina 100UI/ml, solução injetável	Frasco 10ml	74,08	68,85	258,77	Banco de Preços <sup>23</sup>
Insulina, Determir, 100U/ml, solução injetável com sistema de aplicação	Tubete 3ml	62,25	34,51	78,33	Banco de Preços <sup>23</sup>
Insulina, Glulisina 100 UI/ml, solução injetável, refil	Tubete 3ml	25,62	20,66	72,10	Banco de Preços <sup>23</sup>
Insulina humana NPH 100U/ml, injetável	Frasco 10ml	10,94	8,80	44,00	Banco de Preços <sup>23</sup>
Tramadol cloridrato 100mg	Comprimido	2,34	1,63	4,80	Banco de Preços <sup>23</sup>
Prometazina cloridrato 25mg	Comprimido	0,06	0,03	0,20	Banco de Preços <sup>23</sup>

Bromoprida 4mg/ml	Frasco 20ml	0,96	0,63	2,10	Banco de Preços <sup>23</sup>
Clonidina cloridrato 0,1mg	Comprimido	0,11	0,11	0,28	Banco de Preços <sup>23</sup>
Fenoterol Bromidrato 5mg/ml	Frasco 20ml	1,43	1,27	3,60	Banco de Preços <sup>23</sup>
Ipratrópio Brometo 0,25mg/ml, Solução para inalação	Frasco 20ml	0,57	0,51	2,12	Banco de Preços <sup>23</sup>
Amoxicilina 500mg	Cápsula	0,10	0,09	0,30	Banco de Preços <sup>23</sup>
Ringer, associado com Lactato de sódio, solução injetável, sistema fechado	Bolsa 500ml	2,59	1,20	5,90	Banco de Preços <sup>23</sup>
Glicose 50%, solução injetável	Ampola 10ml	0,20	0,14	0,60	Banco de Preços <sup>23</sup>
Multivitaminas com sais minerais, vits: B2, C, E e Betacaroteno, minerais: cobre, zinco e selênio, bioflavonóides cítricos, acetilcisteína, glutatona, 50mg + 300mg + 100 UI + 10,000 UI + 2mg + 25mg, 0,1mg + 250mg + 200mg + 10mg	Drágea	2,40	2,40	2,40	Banco de Preços <sup>23</sup>
<b>Exames laboratoriais/imagem</b>					
RX		6,88	6,88	6,88	SIGTAP <sup>24</sup>
Sorologia		17,16	17,16	17,16	SIGTAP <sup>24</sup>
EAS		3,70	3,70	3,70	SIGTAP <sup>24</sup>
Hemograma		4,11	4,11	4,11	SIGTAP <sup>24</sup>
Teste rápido NS1 Bioeasy®	Cassete	22,00	22,00	22,00	Dados própria pesquisa
Teste rápido NS1 Bioclin®	Cassete	9,90	9,90	9,90	Dados própria pesquisa
Teste rápido NS1 BioRad® (pipeta + teste + tubo de ensaio)	Strip (fita)	13,06	13,06	13,06	Dados própria pesquisa
Teste rápido NS1 Orangelife®	Cassete	18,00	18,00	18,00	Dados própria pesquisa
<b>Outros</b>					
Diária hospitalização		295,25	295,25	295,25	DATASUS <sup>25</sup>
Consulta médica		10,00	10,00	10,00	SIGTAP <sup>24</sup>
Consulta não médica		6,30	6,30	6,30	SIGTAP <sup>24</sup>

### Custos na perspectiva do indivíduo

Dados referentes ao quantitativo dos insumos utilizados para o tratamento da doença (desde o início dos sintomas até a cessação dos mesmos ou a alta médica) foram obtidos de 90 pacientes por via telefônica utilizando um questionário semi-estruturado (ANEXO 2) com os pacientes suspeitos de dengue selecionados durante a epidemia de 2015, durante o mês de abril do mesmo ano.

O custo do tratamento dos pacientes dos quais não foi possível contato telefônico foi resultante do quantitativo de consultas médicas realizadas no HME, obtidas a partir dos registros no prontuário de cada paciente (contidas no formulário utilizado na perspectiva do SUS) e o custo diário por absenteísmo.

Foram utilizados os custos dos diferentes insumos dispendidos pelos pacientes quando auto-relatados, Caso contrário os custos médio, mínimos e máximo foram obtidos de seguinte maneira (Quadro 2):

- **Medicações:** estes custos de desembolso direto (*out-of-pocket*) foram obtidos a partir de dados da Câmara de Regulação do Mercado de Medicamentos (CMED)<sup>26</sup> para o Estado do Rio de Janeiro em março de 2015. Foram considerados o custo de fábrica (custo mínimo), o custo máximo ao consumidor (custo máximo) e o custo médio foi calculado a partir dos valores mínimo e máximo.
- **Bebidas consumidas para a reidratação oral durante o tratamento da doença:** os custos foram obtidos através dos boletins diários de preços disponibilizados pelas Centrais de Abastecimento do Estado do Rio de Janeiro (CEASA)<sup>27</sup> no período de 16 a 23 de março de 2015 e dados da Controladoria Geral do Município do Rio de Janeiro<sup>28</sup>.
- **Alimentação durante a permanência na instituição de saúde:** foram utilizados os custos relatados pelos pacientes durante a entrevista telefônica. Nos casos de ausência destes dados, foram utilizados os valores mínimo, médio e máximo, calculados a partir dos “insumos consumidos” e informados pelos pacientes durante a mesma entrevista.
- **Transporte:**
  1. **Custo do transporte público:** foi considerado o valor praticado na época para uma passagem de ônibus urbano, sendo de R\$3,00<sup>29</sup>.
  2. **Custo do transporte privado ou taxi:** este custo foi calculado através do somatório do valor inicial do transporte (R\$4,95) acrescido de R\$3,16 por quilometro de distância realizado, sendo estes os valores praticados no ano de 2015<sup>3</sup>. Foi calculada a distância média dos bairros dos quais os sujeitos da nossa pesquisa eram oriundos e a seguir o cálculo do custo para cada um destes<sup>3</sup>. Por não haver variação no custo deste transporte, foi utilizado o mesmo valor para os custos médio, mínimo e máximo.
  3. **Custo do transporte particular:** foi considerado o valor de R\$0,30 para cada km de distância realizado, calculado a partir do preço mínimo, médio e máximo de revenda da gasolina comum para o mês de março de 2015 no Estado do Rio de Janeiro<sup>32</sup> e o consumo de gasolina de um carro popular (8,4 litros/100km)<sup>33</sup>.

- Cuidador: O custo do cuidador foi calculado a partir dos dias de absenteísmo laboral do cuidador, relatado pelos pacientes durante a entrevista telefônica e a razão entre o Produto Interno Bruto per capita (PIB) diário da região em 2014<sup>34</sup>.
- Perda de produtividade: Calculado a partir do quantitativo de dias de absentismo laboral relatados durante a entrevista telefônica e a razão entre o Produto Interno Bruto per capita (PIB) diário da região em 2014<sup>34</sup>, segundo última atualização do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE).

**Quadro 2 – Relação dos insumos e custos em reais dispendidos pelo indivíduo para o tratamento de dengue no município de Resende em 2015.**

Medicações		Preço mínimo	Preço máximo	Preço médio	Fonte
Paracetamol 500MG comp		6,63	9,62	8,13	CMED <sup>26</sup>
Dipirona 500mg oral 20 ml		6,26	8,36	7,31	CMED <sup>26</sup>
Dipirona 500mg comp x 30		8,82	11,72	10,27	CMED <sup>26</sup>
Plasil gotas		5,99	7,97	6,98	CMED <sup>26</sup>
Plasil comp		5,70	7,58	6,64	CMED <sup>26</sup>
Ibuprofeno 400mg x 20		8,26	10,98	9,62	CMED <sup>26</sup>
Dexclorfeniramina com betametasona		19,01	25,27	22,14	CMED <sup>26</sup>
Fenergam		7,46	9,92	8,69	CMED <sup>26</sup>
Allegra 120mg		17,27	22,96	20,12	CMED <sup>26</sup>
Allegra 180mg		26,35	35,03	30,69	CMED <sup>26</sup>
Sais de rehidratação oral cada envelope		0,90	1,19	1,05	CMED <sup>26</sup>
Alimentação e bebidas					
Alimentação		Preço mínimo	Preço máximo	Preço mediano	Fonte
Lanche		5,00	75,00	15,00	Dados própria pesquisa
Isotônico		2,85	4,00	3,43	Dados própria pesquisa
Água de coco		5,00	5,00	5,00	Dados própria pesquisa
Água		2,00	2,00	2,00	Dados própria pesquisa
Transporte					
Transporte em carro particular		Preço mínimo	Preço máximo	Preço médio	
Consumo carro popular lts gasolina/km	0,09 litros/km	0,25	0,30	0,27	INMETRO <sup>33</sup> ; ANP <sup>32</sup>
Bairro de origem	Distância em Km até o HME	Preço mínimo	Preço máximo	Preço médio	Fonte
Paraíso	4,50	1,15	1,36	1,23	Google Maps <sup>31</sup> , INMETRO <sup>33</sup> ; ANP <sup>32</sup>

Barra	11,50	2,93	3,47	3,13	Google Maps <sup>31</sup> , INMETRO <sup>33</sup> ;ANP <sub>32</sub>
Manejo	1,20	0,25	0,36	0,33	Google Maps <sup>31</sup> , INMETRO <sup>33</sup> ;ANP <sub>32</sub>
Penedo	17,00	4,33	5,13	4,63	Google Maps <sup>31</sup> , INMETRO <sup>33</sup> ;ANP <sub>32</sub>
Fátima	3,80	0,97	1,15	1,03	Google Maps <sup>31</sup> , INMETRO <sup>33</sup> ;ANP <sub>32</sub>
Novo Surubí	4,20	1,07	1,27	1,14	Google Maps <sup>31</sup> , INMETRO <sup>33</sup> ;ANP <sub>32</sub>
Santa Isabel	2,50	0,64	0,75	0,68	Google Maps <sup>31</sup> , INMETRO <sup>33</sup> ;ANP <sub>32</sub>
Vicentino	4,20	1,07	1,27	1,14	Google Maps <sup>31</sup> , INMETRO <sup>33</sup> ;ANP <sub>32</sub>
Liberdade	0,90	0,23	0,27	0,25	Google Maps <sup>31</sup> , INMETRO <sup>33</sup> ;ANP <sub>32</sub>
Jardim do Sol	6,20	1,58	1,87	1,69	Google Maps <sup>31</sup> , INMETRO <sup>33</sup> ;ANP <sub>32</sub>
Surubi Velho	10,50	2,67	3,17	2,86	Google Maps <sup>31</sup> , INMETRO <sup>33</sup> ;ANP <sub>32</sub>
Itatiaia	24,00	6,11	7,24	6,53	Google Maps <sup>31</sup> , INMETRO <sup>33</sup> ;ANP <sub>32</sub>
Engenheiro Passos	29,60	7,54	8,92	8,06	Google Maps <sup>31</sup> , INMETRO <sup>33</sup> ;ANP <sub>32</sub>
Vila Julieta	1,60	0,41	0,48	0,44	Google Maps <sup>31</sup> , INMETRO <sup>33</sup> ;ANP <sub>32</sub>
Lavapés	1,00	0,25	0,30	0,27	Google Maps <sup>31</sup> , INMETRO <sup>33</sup> ;ANP <sub>32</sub>
Cabral	3,60	0,92	1,09	0,98	Google Maps <sup>31</sup> , INMETRO <sup>33</sup> ;ANP <sub>32</sub>
Santa Cecília	1,20	0,31	0,36	0,33	Google Maps <sup>31</sup> , INMETRO <sup>33</sup> ;ANP <sub>32</sub>
Jardim Brasília	2,60	0,66	0,78	0,71	Google Maps <sup>31</sup> , INMETRO <sup>33</sup> ;ANP <sub>32</sub>
Itapuca	6,20	1,58	1,87	1,69	Google Maps <sup>31</sup> , INMETRO <sup>33</sup> ;ANP <sub>32</sub>
Vila Moderna	2,90	0,74	0,87	0,79	Google Maps <sup>31</sup> , INMETRO <sup>33</sup> ;ANP <sub>32</sub>

Alambari	2,80	0,71	0,84	0,76	Google Maps <sup>31</sup> , INMETRO <sup>33</sup> ;ANP <sub>32</sub>
Jardim Esperança	11,60	2,95	3,50	3,16	Google Maps <sup>31</sup> , INMETRO <sup>33</sup> ;ANP <sub>32</sub>
União	46,40	11,81	13,99	12,63	Google Maps <sup>31</sup> , INMETRO <sup>33</sup> ;ANP <sub>32</sub>
Jardim Primavera	11,90	3,03	3,59	3,24	Google Maps <sup>31</sup> , INMETRO <sup>33</sup> ;ANP <sub>32</sub>
Santo Amaro	3,80	0,97	1,15	1,03	Google Maps <sup>31</sup> , INMETRO <sup>33</sup> ;ANP <sub>32</sub>
Montese	4,30	1,09	1,30	1,17	Google Maps <sup>31</sup> , INMETRO <sup>33</sup> ;ANP <sub>32</sub>
<b>Transporte em Taxi</b>		<b>Preço Mínimo</b>	<b>Preço máximo</b>	<b>Preço médio</b>	<b>Fonte</b>
Taxi bandeira		4,95	4,95	4,95	Journal OGlobo <sup>30</sup>
Adicional taxi por km		3,16	3,16	3,16	Journal OGlobo <sup>30</sup>
<b>Bairro de origem</b>	<b>Distância em Km até o HME</b>	<b>Preço mínimo</b>	<b>Preço máximo</b>	<b>Preço médio</b>	<b>Fonte</b>
Manejo	1,20	8,74	8,74	8,74	Google Maps <sup>31</sup> , Journal OGlobo <sup>30</sup>
Engenheiro Passos	29,60	98,49	98,49	98,49	Google Maps <sup>31</sup> , Journal OGlobo <sup>30</sup>
Novo Surubí	4,20	18,22	18,22	18,22	Google Maps <sup>31</sup> , Journal OGlobo <sup>30</sup>
Cabral	3,60	16,33	16,33	16,33	Google Maps <sup>31</sup> , Journal OGlobo <sup>30</sup>
Paraíso	4,50	19,17	19,17	19,17	Google Maps <sup>31</sup> , Journal OGlobo <sup>30</sup>
<b>Transporte de Ônibus</b>				<b>Preço médio</b>	<b>Fonte</b>
Valor da passagem unitária				3,00	Journal OGlobo <sup>29</sup>
<b>Perda de produtividade</b>					
<b>Salário</b>		<b>PIB anual</b>	<b>PIB mensal</b>	<b>PIB diário</b>	<b>Fonte</b>
Produto Interno Bruto (PIB) per cápita para o município de Resende/RJ, 2014		62.389,93	5.199,16	173,31	IBGE <sup>34</sup>

### Custo do óbito

O custo do óbito por dengue foi calculado a partir dos Anos de Vida Perdidos (AVP) ou *Years of Life Lost* (YLL) do estudo de Zagne et al (1994)<sup>35</sup> e o PIB per capita para o município de Resende/RJ em 2014<sup>34</sup>.

No referido estudo, a média de AVP por dengue foi de 32,44 anos e o PIB per capita de R\$ 62.389,93. Desta forma, o custo do óbito por dengue foi de R\$ 2.023.929,33.

## **Moeda utilizada**

Todos os custos foram expressos na unidade monetária Real Brasileiro (R\$) de 2015.

## **Probabilidades**

As probabilidades utilizadas no modelo de custo-efetividade foram provenientes da avaliação da acurácia dos quatro TRI NS1 e de dois formulários: um com informações extraídas diretamente dos prontuários médicos e outro com informações coletadas durante entrevista telefônica realizada com os pacientes atendidos durante a epidemia de 2015 no HME. Foram utilizadas as taxas de hospitalização por dengue clássica, por dengue clássica ou hemorrágica e por outras causas. As taxas de mortalidade utilizadas foram as de óbito por dengue e por outras causas para a faixa etária do nosso estudo (30 a 39 anos). Todas as taxas foram calculadas para o Brasil durante o período de duração da doença (3,5 dias) em março de 2015, segundo dados do DATASUS<sup>25</sup>.

## **Plano de Análise de Dados**

Para variáveis quantitativas foram descritas as frequências simples e medidas de dispersão. Foram calculadas as medidas de acurácia: sensibilidade, especificidade, valores preditivos positivo e negativo e razões de verossimilhança positiva e negativa dos TRI com respectivos intervalos de confiança (IC) de 95%.

Variáveis das quais não foi possível obter os valores mínimos e máximos, foram utilizados o desconto e o acréscimo de 20% do seu valor médio, respectivamente.

O software de entrada de dados foram o *Epidata 3.1*<sup>36</sup>, para a análise dos dados de acurácia serão utilizados os *softwares R Commander 3.2.1*<sup>37</sup> e *WinPepi 11.50*<sup>38</sup>.

Planilhas auxiliares foram elaboradas para consolidar as informações do inventário dos custos e efetividades segundo a acurácia de cada teste.

Para a análise de custo-efetividade foi utilizado o modelo de análise árvore de decisão, através do *software TreeAge Pro*<sup>39</sup> e calculada a razão incremental de custo-efetividade (RICE). O resultado foi expresso em reais por dias de trabalho perdidos por incapacidade e anos perdidos por incapacidade.

Foi realizada a análise de sensibilidade determinística, onde foi avaliada individualmente, a influência das variáveis consideradas de maior relevância no modelo

de custo efetividade utilizando seus limites inferiores e superiores. Esta análise permite identificar qual ou quais variáveis podem alterar o resultado da análise de custo efetividade.

Para estabelecer se uma tecnologia foi custo-efetiva e se o valor por unidade de efetividade era aceitável, utilizou-se o limiar definido pela OMS<sup>40</sup> e adotado pelo Brasil, onde tecnologias com razão incremental de custo efetividade menor que o valor de um PIB per capita são consideradas muito custo-efetivas e entre um e três PIB per capita, custo-efetivas.

## **RESULTADOS**

### **Caraterísticas da amostra e acurácia dos testes rápidos imunocromatográficos**

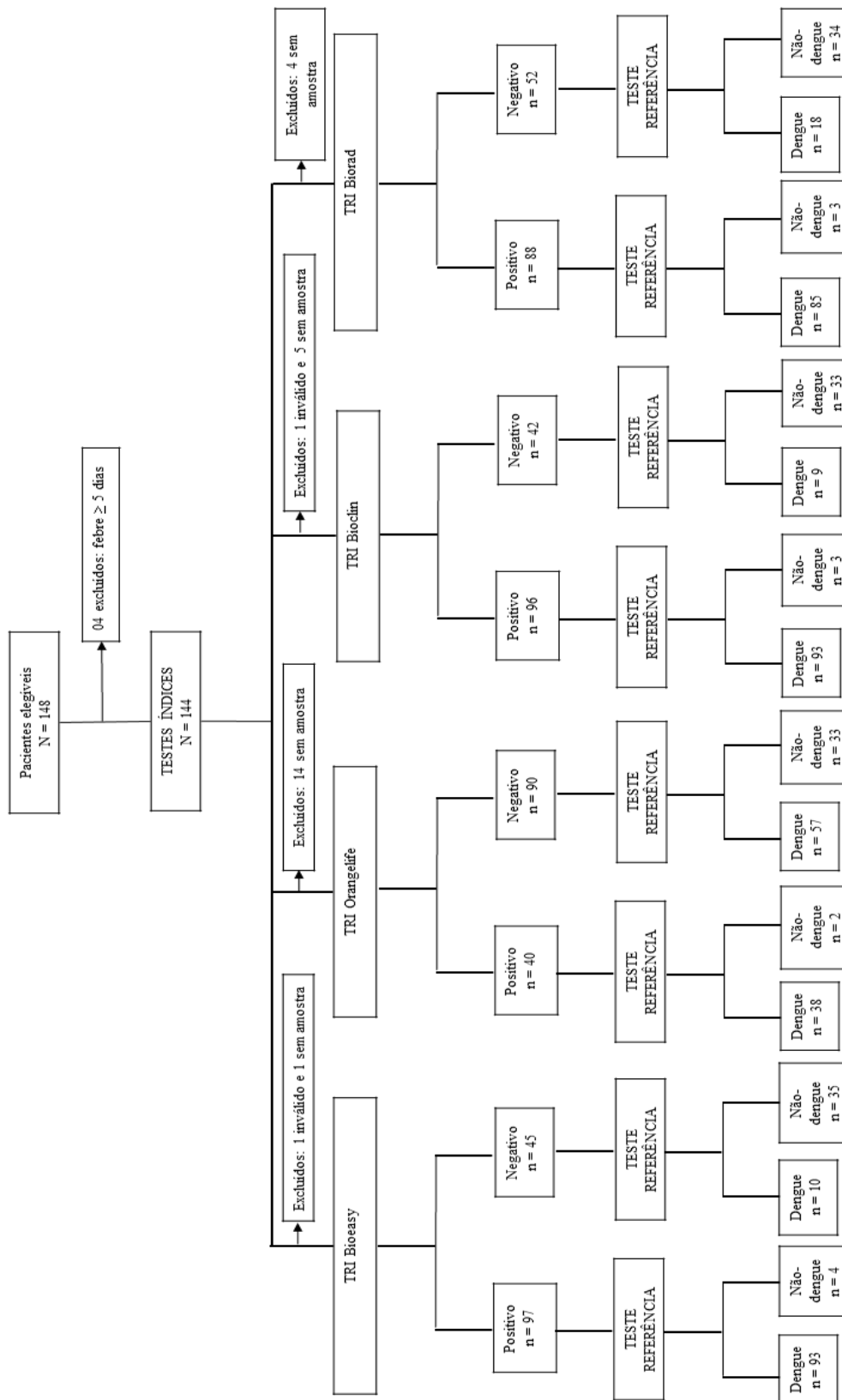
Foram recrutados 148 pacientes, dos quais quatro foram excluídos devido a relatarem cinco ou mais dias de febre (Figura 1). Dos 144 pacientes incluídos, 52,8% eram mulheres. A idade média dos pacientes foi de 34,5 anos, com idades mais elevadas no grupo da dengue (mediana: 36,1 anos, variando de 18 a 82,4) do que no grupo não-dengue (mediana: 27 anos, variando de 18,8 a 62,9),  $p = 0,019$ .

Os pacientes apresentaram uma mediana de 1,4 dias de febre (95% de IQR: 1 a 2) e os sintomas mais frequentes foram mialgia (91%), cefaleia (89,6%), astenia (83,3%) e artralgia (73%). Nenhum dos pacientes evidenciou sinais de gravidade clínica de acordo com os critérios da OMS 2009<sup>4</sup>.

A prevalência da doença foi de 83,3%. Dos 120 casos positivos, 40,3% ( $n = 58$ ) foram infecções primárias. O vírus da dengue foi caracterizado por RT-PCR em 105 amostras.



**Figura 1 - Seleção de amostra e análise laboratorial de 144 casos de dengue suspeitos durante uma epidemia de DENV-1, Resende, 2015.**



Os melhores desempenhos de acurácia foram dos testes Bioeasy® e Bioclin®, sendo cerca de 10 vezes mais positivo em verdadeiros doentes do que em não doentes (RVP = 8,8 e 10,2, respectivamente e variando de 3,5 a 32,4). A acurácia do teste BioRad® foi similar à dos testes Bioeasy® e Bioclin® com razão de verossimilhança negativa superior à dos outros dois testes (RVN = 0,19, variando de 0,12 a 0,29), porém com sensibilidade inferior (82,5%) (Tabela 1).

**Tabela 1 - Acurácia dos testes rápidos imunocromatográficos de 144 pacientes selecionados segundo o padrão de referência**

	Bioeasy®	Orangelife®	Bioclin®	BioRad®
<b>Sensibilidade</b>	90,3%	40,0%	91,2%	82,5%
<b>(95% IC)</b>	(83,0- 94,6)	(30,7 – 50,0)	(84,1 – 95,3)	(74,1 – 88,7)
<b>Especificidade</b>	89,7%	94,3%	91,7%	91,9%
<b>(95% IC)</b>	(76,4 – 95,9)	(81,4 – 98,4)	(78,2 – 97,1)	(78,7 – 97,2)
<b>VPP</b>	95,9%	95,0%	96,9%	96,6%
<b>(95% IC)</b>	(90,6 – 98,3)	(84,7 – 98,5)	(91,8 – 98,8)	(91,1 – 98,7)
<b>VPN</b>	77,8%	36,7%	78,6%	65,4%
<b>(95% IC)</b>	(66,1 – 86,3)	(32,4 – 41,1)	(66,4 – 87,2)	(55,2 – 74,3)
<b>RVP</b>	8,8	7	10,9	10,2
<b>(95% IC)</b>	(3,5 – 22,3)	(1,8 – 27,5)	(3,7 – 32,4)	(3,4 – 30,2)
<b>RVN</b>	0,11	0,64	0,10	0,19
<b>(95% IC)</b>	(0,06 – 0,20)	(0,53 – 0,76)	(0,05 – 0,18)	(0,12 – 0,29)

IC= Intervalo de confiança de 95%, VPP=Valor Preditivo Positivo, VPN=Valor Preditivo Negativo, RVP = Razão de Verossimilhança Positiva, RVN = Razão de Verossimilhança Negativa.

## MODELO DE CUSTO-EFETIVIDADE

A árvore de decisão foi adotada para realizar o modelo de custo efetividade pois permite descrever a história natural de doenças agudas e comparar duas ou mais alternativas tecnológicas para auxiliar os tomadores de decisão quanto àquelas que oferecem maiores benefícios em saúde<sup>41</sup>.

Este modelo buscou incorporar a acurácia dos testes, os possíveis desfechos naturais da doença, além de refletir o fluxo de atendimento médico/hospitalar no local onde foi realizada a coleta de dados.

Assim, a árvore iniciou-se com a triagem clínica inicial para detectar casos suspeitos da doença, utilizando os critérios da OMS<sup>4</sup>. A seguir, foi incorporado o desempenho dos testes e por último o fluxo normal de atendimento dos pacientes.

## **Construção do modelo analítico de custo-efetividade**

A árvore de decisão para a análise de custo-efetividade foi dividida em quatro ramos principais, um para cada teste rápido imunocromatográfico com pesquisa de NS1 (TRI) avaliado: Dengue NS1-Bioeasy® (Standard Diagnostic Inc, Coreia), Dengue NS1 Ag Strip-BioRad® (Bio-Rad Laboratories Inc, França), IVB Dengue Ag NS1-Orangelife® (Orangelife Comercio e Industria Ltda, Brasil) e Dengue NS1-K130-Bioclin® (Quibasa Química Básica Ltda, Brasil).

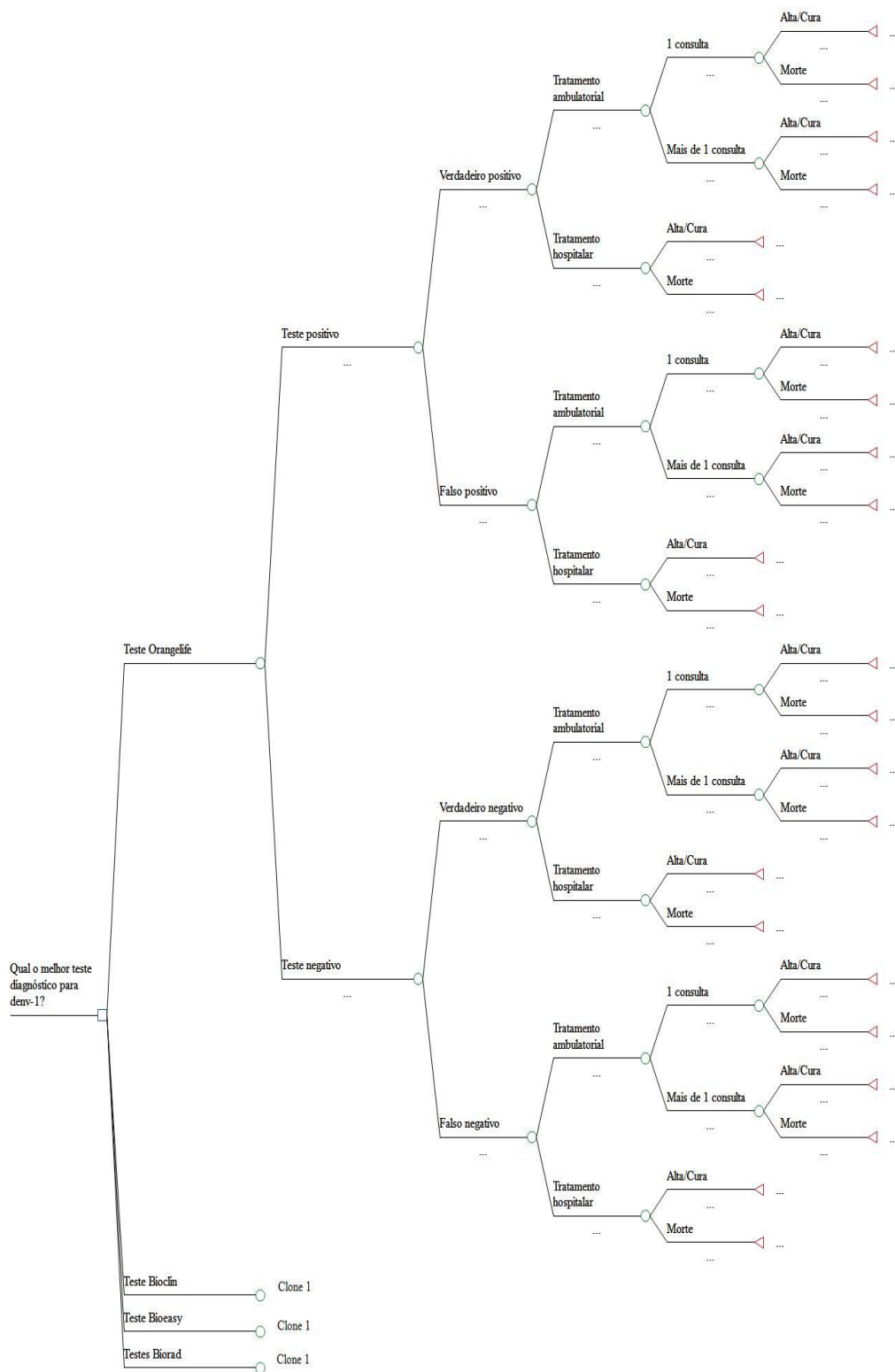
A primeira parte da árvore incorporou o desempenho dos TRI e a segunda parte o fluxo de atendimento do HME durante o tratamento dos pacientes na epidemia de dengue 1, em 2015.

A árvore se iniciou com um ramo para cada um dos testes, os que foram subdivididos em “com dengue” e “sem dengue” incorporando a prevalência da doença. A seguir, o ramo “com dengue” foi dividido em resultado verdadeiro positivo (VP) e em falso positivo (FP), nos quais foi utilizado respectivamente o valor da sensibilidade e seu complementar  $(1 - \text{sensibilidade})$ . Já o ramo “sem dengue” foi dividido em resultado verdadeiro negativo (VN) e falso negativo (FN), incorporando o valor da especificidade e seu complementar  $(1 - \text{especificidade})$ .

Na segunda parte da árvore e para incorporar o fluxo de atendimento durante o tratamento dos pacientes no HME, os ramos da árvore foram subdivididos considerando o tipo de atendimento, em ambulatorial (uma ou mais consultas) e hospitalar. Por último e para incluir os possíveis desfechos do tratamento, os ramos alta/cura e morte foram incluídos para cada tipo de tratamento (figura 1).

As probabilidades (quadro 3), os custos (quadro 4) e as efetividades (quadro 5) de cada ramo utilizados para compor o modelo foram calculadas conforme descrição acima.

**Figura 1 – Árvore de decisão dos testes rápidos imunocromatográficos com detecção de NS1 para o diagnóstico precoce de dengue em 144 adultos durante epidemia, RJ.**



**Quadro 3 - Probabilidade dos valores preditivos para quatro testes rápidos NS1 para dengue segundo tipo de tratamento ambulatorial (com uma ou mais consultas) ou hospitalar, utilizadas na árvore de decisão.**

Nome da variável	Descrição do nome da variável	Prob. Média	Prob. Mínima	Prob. Máxima
<b>Teste Bioclin®</b>				
sen_bclin	Sensibilidade TRI Bioclin®	0,91	0,84	0,95
esp_bclin	Especificidade TRI Bioclin®	0,92	0,78	0,98
p_Bclin_FN_1con	Probabilidade Bioclin® ter resultado negativo, FN e 1 consulta	0,67	0,6	0,75
p_Bclin_VN_1con	Probabilidade Bioclin® ter resultado negativo, VN e 1 consulta	0,52	0,50	0,54
p_Bclin_FP_1con	Probabilidade Bioclin® ter resultado positivo, FP e 1 consulta	0	0	0,33
p_Bclin_VP_1con	Probabilidade Bioclin® ter resultado positivo, VP e 1 consulta	0,35	0,32	0,36
<b>Teste Bioeasy®</b>				
sen_bio	Sensibilidade TRI Bioeasy®	0,90	0,83	0,95
esp_bio	Especificidade TRI Bioeasy®	0,90	0,76	0,96
p_Bio_FN_1con	Probabilidade Bioeasy® ter resultado negativo, FN e 1 consulta	0,6	0,59	0,75
p_Bio_VN_1con	Probabilidade Bioeasy® ter resultado negativo, VN e 1 consulta	0,51	0,49	0,51
p_Bio_FP_1con	Probabilidade Bioeasy® ter resultado positivo, FP e 1 consulta	0	0	0,38
p_Bio_VP_1con	Probabilidade Bioeasy® ter resultado positivo, VP e 1 consulta	0,34	0,31	0,35
<b>Teste Orangelife®</b>				
sen_oran	Sensibilidade TRI Orangelife®	0,40	0,31	0,50
esp_oran	Especificidade TRI Orangelife®	0,94	0,81	0,98
p_Oran_FN_1con	Probabilidade Orangelife® ter resultado negativo, FN e 1 consulta	0,36	0,33	0,36
p_Oran_VN_1con	Probabilidade Orangelife® ter resultado negativo, VN e 1 consulta	0,48	0,46	0,50
p_Oran_FP_1con	Probabilidade Orangelife® ter resultado positivo, FP e 1 consulta	1	0	1
p_Oran_VP_1con	Probabilidade Orangelife® ter resultado positivo, VP e 1 consulta	0,32	0,29	0,35
<b>Teste BioRad®</b>				
sen_brad	Sensibilidade TRI BioRad®	0,83	0,74	0,89
esp_brad	Especificidade TRI BioRad®	0,92	0,79	0,97
p_BRad_FN_1con	Probabilidade BioRad® ter resultado negativo, FN e 1 consulta	0,63	0,57	0,67
p_BRad_VN_1con	Probabilidade BioRad® ter resultado negativo, VN e 1 consulta	0,5	0,49	0,51
p_BRad_FP_1cons	Probabilidade BioRad® ter resultado	0,5	0,5	1

	positivo, FP e 1 consulta			
p_BRad_VP_1con	Probabilidade BioRad® ter resultado positivo, VP e 1 consulta	0,33	0,3	0,34
<b>Outras</b>				
prev_denv1	Prevalência de DENV-1	0,833	0,50	0,90
p_hosp_dengue	Probabilidade de hospitalização dado que tem dengue (VP)	0,001	$8 \times 10^{-4}$	$1,2 \times 10^{-3}$
p_hosp_outracausa	Probabilidade de hospitalização por outra causa (VN, FP)	0,11	0,088	0,132
p_morte_amb_outracausa	Probabilidade de morrer por outras causas ambulatorialmente (VN, FP)	$8,83 \times 10^{-6}$	$7,064 \times 10^{-6}$	$1,0596 \times 10^{-5}$
p_morte_dengue	Probabilidade de morte dos pacientes VP tratados	$1,3 \times 10^{-8}$	$1,04 \times 10^{-8}$	$1,56 \times 10^{-8}$
p_morte_dengue_semtratamento	Probabilidade de morte por dengue sem tratamento (FN)	$2,6 \times 10^{-8}$	$2,08 \times 10^{-8}$	$3,12 \times 10^{-8}$
p_morte_outracausa	Probabilidade de morrer por outras causas (VN, FP)	$2,04 \times 10^{-5}$	$1,632 \times 10^{-5}$	$2,448 \times 10^{-5}$
p_morte_trataamb	Probabilidade de morrer dado que recebeu tratamento ambulatorial (VN, FP)	$1 \times 10^{-11}$	0	$2 \times 10^{-11}$

Prob.: Probabilidade, FN: falso negativo, FP: falso positivo, VP: verdadeiro positivo, VN: verdadeiro negativo.

**Quadro 4 - Custos unitários em reais, utilizados na árvore de decisão, de quatro testes rápidos NS1 para dengue, segundo a acurácia de cada teste e o tipo de tratamento ambulatorial (com uma ou mais consultas) ou hospitalar. Custo do óbito por dengue.**

Nome da variável	Descrição do nome da variável	Custo Médio	Custo Mínimo	Custo Máximo	Custo Médio	Custo Mínimo	Custo Máximo
		Perspectiva do SUS + indivíduo			Perspectiva do SUS		
<b>Teste Bioclin®</b>							
C_teste_bclin	Custo TRI Bioclin®	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9
C_FN_Bclin_1cons	Custo FN ambulatório 1 consulta usando TRI Bioclin®	224,5	222,6	228,3	29,4	27,6	33,3
C_FN_Bclin_mais1	Custo FN usando TRI Bioclin® e mais de 1 consulta	2041,0	2030,0	2062,2	112,3	101,8	133,0
C_FP_Bclin_mais1	Custo FP usando TRI Bioclin® e mais de 1 consulta	666,6	662,5	675,5	69,3	66,0	78,6
C_FP_Bclin_hosp	Custo FP usando TRI Bioclin® hospitalização	742,0	714,0	807,0	395,4	367,4	460,4
C_VN_Bclin_1cons	Custo VN ambulatório 1 consulta usando TRI Bioclin®	514,0	509,9	528,1	28,8	24,9	42,7
C_VN_Bclin_mais1	Custo VN usando TRI Bioclin® e mais de 1 consulta	1274,5	1268,9	1286,6	68,5	63,1	80,4
C_VP_Bclin_hosp	Custo VP usando TRI Bioclin® hospitalização	2343,5	2344,6	2489,3	767,0	726,4	869,2
C_VP_Bclin_1cons	Custo VP ambulatório 1 consulta usando TRI Bioclin®	764,5	759,9	777,3	25,8	22,8	32,6
C_VP_Bclin_mais1	Custo VP usando TRI Bioclin® e mais de 1 consulta	1256,4	1246,4	1288,1	100,0	86,5	128,9

<b>Teste Bioeasy®</b>							
teste_bioeasy	Custo TRI Bioeasy®	22	22	22	22	22	22
C_FN_Bio_1cons	Custo FN usando TRI Bioeasy® e 1 consulta	197,3	194,5	203,2	31,1	28,3	37,1
C_FN_Bio_mais1	Custo FN usando TRI Bioeasy® e mais de 1 consulta	2321,4	2313,2	2337,3	99,5	91,7	115,0
C_FP_Bio_1cons	Custo FP usando TRI Bioeasy® e 1 consulta	858,0	852,3	869,6	31,8	25,6	42,9
C_FP_Bio_mais1	Custo FP usando TRI Bioeasy® e mais de 1 consulta	666,6	662,5	675,5	69,3	66,0	78,6
C_FP_Bio_hosp	Custo FP usando TRI Bioeasy® hospitalizados	742,0	714,0	807,0	395,4	367,4	460,4
C_VN_Bio_mais1	Custo VN usando TRI Bioeasy® e mais de 1 consulta	1252,3	1246,6	1264,3	69,9	63,7	83,4
C_VN_Bio_1cons	Custo VN usando TRI Bioeasy® e 1 consulta	461,2	457,3	474,7	29,6	25,9	42,9
C_VP_Bio_1cons	Custo VP usando TRI Bioeasy® e 1 consulta	748,8	744,5	761,5	24,7	22,0	31,2
C_VP_Bio_mais1	Custo VP usando TRI Bioeasy® e mais de 1 consulta	1240,4	1230,0	1272,7	101,1	87,3	130,8
C_VP_Bio_hosp	Custo VP usando TRI Bioeasy® hospitalizados	2343,5	2344,6	2489,3	767,1	726,4	869,2
<b>Teste Orangelife®</b>							
C_Orange	Custo TRI Orangelife®	18	18	18	18	18	18
C_FN_Oran_1cons	Custo FN ambulatório com 1 consulta usando TRI Orangelife®	803,6	799,7	813,2	28,2	25,4	34,5
C_FN_Oran_mais1	Custo FN ambulatório	1354,6	1346,5	1380,2	113,1	98,0	145,9



	com mais de 1 consulta usando TRI Orangelife®						
C_FN_Oran_hosp	Custo FN hospitalização com 1 consulta usando TRI Orangelife®	3062,3	3101,4	3267,0	395,4	367,4	460,4
C_FP_Oran_1cons	Custo FP ambulatório com 1 consulta usando TRI Orangelife®	210,1	201,5	227,5	36,83	28,2	54,2
C_FP_Oran_hosp	Custo FP hospitalização usando TRI Orangelife®	742,0	714,0	807,0	395,4	367,4	460,4
C_VN_Oran_1cons	Custo VN ambulatório com 1 consulta usando TRI Orangelife®	532,9	529,2	546,9	28,3	24,7	42,0
C_VN_Oran_mais1	Custo VN ambulatório com mais de 1 consulta usando TRI Orangelife®	1105,8	1099,6	1119,0	28,3	24,7	42,0
C_VP_Oran_1cons	Custo VP ambulatório com 1 consulta usando TRI Orangelife®	649,1	645,5	663,0	22,4	21,0	26,4
C_VP_Oran_mais1	Custo VP ambulatório com mais de 1 consulta usando TRI Orangelife®	1209,2	1196,5	1248,3	113,1	98,0	145,9
<b>Teste BioRad®</b>							
C_teste_brad	Custo TRI BioRad®	13,1	13,1	13,1	13,1	13,1	13,1
C_FN_BRad_1cons	Custo FN ambulatório com 1 consulta usando TRI BioRad®	328,6	325,8	335,1	29,0	26,1	35,5
C_FN_BRad_mais1	Custo FN ambulatório mais de 1 consulta usando TRI BioRad®	2436,2	2457,8	2466,6	107,1	97,7	128,2

C_FN_BRad_hosp	Custo FN usando TRI BioRad® hospitalização	2343,5	2344,6	2489,3	767,1	726,4	869,2
C_FP_BRad_1cons	Custo FP ambulatório com 1 consulta usando TRI BioRad®	858,0	852,3	869,6	62,4	58,4	71,8
C_FP_BRad_mais1	Custo FP ambulatório mais de 1 consulta usando TRI BioRad®	959,6	957,7	967,3	62,4	58,4	71,8
C_FP_BRad_hosp	Custo FP usando TRI BioRad® hospitalização	742,0	714,0	807,0	395,4	367,4	460,4
C_VN_BRad_1cons	Custo VN ambulatório com 1 consulta usando TRI BioRad®	475,6	451,5	489,9	28,8	25,0	42,9
C_VN_BRad_mais1	Custo VN ambulatório mais de 1 consulta usando TRI BioRad®	1221,5	1215,8	1233,5	67,1	61,7	79,0
C_VP_BRad_1cons	Custo VP ambulatório com 1 consulta usando TRI BioRad®	806,0	801,3	819,1	25,4	22,6	31,8
C_VP_BRad_mais1	Custo VP ambulatório mais de 1 consulta usando TRI BioRad®	1164,1	1149,5	1196,4	100,2	86,3	129,8
<b>Outros</b>							
C_morte	Custo da morte	2023929,3 3	1619143,4 6	2428715,2 0	2023929,3 3	1619143,4 6	2428715,2 0

FN: falso negativo, FP: falso positivo, VP: verdadeiro positivo, VN: verdadeiro negativo, custo em Reais Brasileiros (R\$).

**Quadro 5 - Efetividade em dias laborais perdidos por incapacidade, segundo a acurácia de quatro testes rápidos NS1 para dengue e o tipo de tratamento ambulatorial (com uma ou mais consultas) ou hospitalar, utilizadas na árvore de decisão.**

Nome da variável	Descrição do nome da variável	Efetividade Média	Efetividade Mínima	Efetividade Máxima
<b>Teste Bioclin<sup>®</sup></b>				
E_Bclin_FN_1cons	Efetividade dos FN com teste Bioclin <sup>®</sup> com 1 consulta médica	0,83	0	1
E_Bclin_FN_maiscons	Efetividade dos FN com teste Bioclin <sup>®</sup> com mais de 1 consulta médica	8	0	21
E_Bclin_FN_interna	Efetividade dos FN com teste Bioclin <sup>®</sup> internados	2	2	2
E_Bclin_FP_maiscons	Efetividade dos FP com teste Bioclin <sup>®</sup> com mais de 1 consulta médica	2,5	0	5
E_Bclin_FP_interna	Efetividade dos FP com teste Bioclin <sup>®</sup> hospitalizados	2	2	2
E_Bclin_VN_1cons	Efetividade dos VN com teste Bioclin <sup>®</sup> com 1 consulta médica	1,82	0	7
E_Bclin_VN_maiscons	Efetividade dos VN com teste Bioclin <sup>®</sup> com mais de 1 consulta médica	4,25	0	15
E_Bclin_VP_1cons	Efetividade dos VP com teste Bioclin <sup>®</sup> com 1 consulta médica	2,84	0	17
E_Bclin_VP_maiscons	Efetividade dos VP com teste Bioclin <sup>®</sup> com mais de 1 consulta médica	3,67	0	18
E_Bclin_VP_interna	Efetividade dos VP com teste Bioclin <sup>®</sup> internados	7	5	9
<b>Teste Bioeasy<sup>®</sup></b>				
E_Bio_FN_1cons	Efetividade dos FN com teste Bioeasy <sup>®</sup> com 1 consulta médica	1,14	0	3
E_Bio_FN_maiscons	Efetividade dos FN com teste Bioeasy <sup>®</sup> com mais de 1 consulta médica	8,75	0	21
E_Bio_FP_1cons	Efetividade dos FP com teste Bioeasy <sup>®</sup> com 1 consulta médica	3	3	3
E_Bio_FP_maiscons	Efetividade dos FP com teste Bioeasy <sup>®</sup> com mais de 1 consulta médica	2,5	0	5
E_Bio_FP_interna	Efetividade dos FP com teste Bioeasy <sup>®</sup> internados	2	2	2
E_Bio_VN_1cons	Efetividade dos VN com teste Bioeasy <sup>®</sup> com 1 consulta médica	1,61	0	7
E_Bio_VN_maiscons	Efetividade dos VN com teste Bioeasy <sup>®</sup> com mais de 1 consulta médica	4,35	0	15
E_Bio_VP_1cons	Efetividade dos VP com teste Bioeasy <sup>®</sup> com 1 consulta médica	2,77	0	17
E_Bio_VP_maiscons	Efetividade dos VP com teste Bioeasy <sup>®</sup> com mais de 1 consulta médica	3,61	0	18
E_Bio_VP_interna	Efetividade dos VP com teste Bioeasy <sup>®</sup> internados	7	5	9
<b>Teste Orangelife<sup>®</sup></b>				
E_Oran_FN_1cons	Efetividade dos FN com teste Orangelife <sup>®</sup> com 1 consulta médica	3,25	0	17
E_Oran_FN_maiscons	Efetividade dos FN com teste Orangelife <sup>®</sup> com mais de 1 consulta médica	4,29	0	13
E_Oran_FN_interna	Efetividade dos FN com teste Orangelife <sup>®</sup> internados	5	5	5

E_Oran_FP_1cons	Efetividade dos FP com teste Orangelife <sup>®</sup> com 1 consulta médica	1	1	1
E_Oran_FP_interna	Efetividade dos FP com teste Orangelife <sup>®</sup> internados	2	2	2
E_Oran_VN_1cons	Efetividade dos VN com teste Orangelife <sup>®</sup> com 1 consulta médica	1,88	0	7
E_Oran_VN_maiscons	Efetividade dos VN com teste Orangelife <sup>®</sup> com mais de 1 consulta médica	3,94	0	15
E_Oran_VP_1cons	Efetividade dos VP com teste Orangelife <sup>®</sup> com 1 consulta médica	2,25	0	7
E_Oran_VP_maiscons	Efetividade dos VP com teste Orangelife <sup>®</sup> com mais de 1 consulta médica	3,35	0	18
<b>Teste BioRad<sup>®</sup></b>				
E_BRad_FN_1cons	Efetividade dos FN com teste BioRad <sup>®</sup> com 1 consulta médica	1,5	0	8
E_BRad_FN_maiscons	Efetividade dos FN com teste BioRad <sup>®</sup> com mais de 1 consulta médica	6,83	0	21
E_BRad_FN_interna	Efetividade dos FN com teste BioRad <sup>®</sup> internados	7	5	9
E_BRad_FP_1cons	Efetividade dos FP com teste BioRad <sup>®</sup> com 1 consulta médica	3	3	3
E_BRad_FP_maiscons	Efetividade dos FP com teste BioRad <sup>®</sup> com mais de 1 consulta médica	5	5	5
E_BRad_FP_interna	Efetividade dos FP com teste BioRad <sup>®</sup> internados	2	2	2
E_BRad_VN_1cons	Efetividade dos VN com teste BioRad <sup>®</sup> com 1 consulta médica	1,65	0	7
E_BRad_VN_maiscons	Efetividade dos VN com teste BioRad <sup>®</sup> com mais de 1 consulta médica	4	0	15
E_BRad_VP_1cons	Efetividade dos VP com teste BioRad <sup>®</sup> com 1 consulta médica	2,89	0	17
E_BRad_VP_maiscons	Efetividade dos VP com teste BioRad <sup>®</sup> com mais de 1 consulta médica	3,57	0	18

FN: falso negativo, FP: falso positivo, VP: verdadeiro positivo, VN: verdadeiro negativo, Efetividade em dias laborais perdidos por incapacidade.

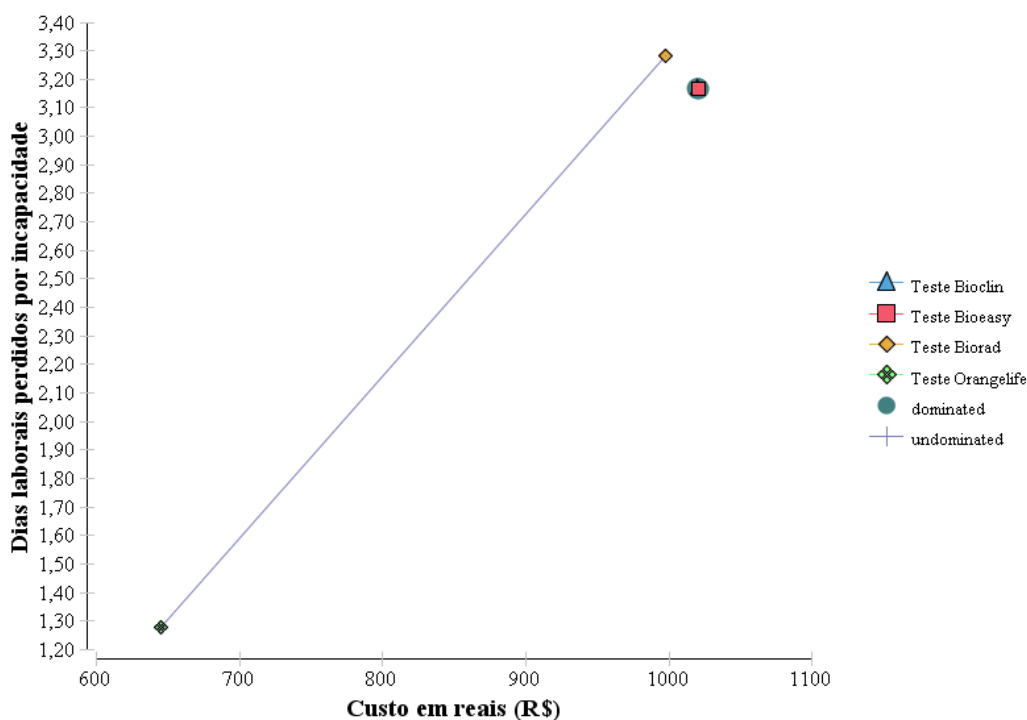
## **PERSPECTIVA DO SUS + INVIDÍDUO**

### **Razão incremental de custo-efetividade**

A razão incremental de custo-efetividade evidenciou que os TRI Biorad<sup>®</sup> teve uma razão incremental de custo-efetividade de R\$304,20 por dia laboral perdido por incapacidade (figura 2 e tabela 1), ou R\$111.134,62 por ano laboral perdido por incapacidade ou *YLD*.

Considerando o valor do PIB per capita de 2015 de R\$62.389,93, o TRI Biorad<sup>®</sup> foi custo-efetivo.

**Figura 2 – Análise de custo-efetividade de testes rápidos imunocromatográficos para o diagnóstico de dengue.**



**Tabela 1 – Razão incremental de custo-efetividade de testes rápidos imunocromatográficos NS1 para o diagnóstico de dengue, na perspectiva do SUS + indivíduo.**

Estatégia	Custo	CI	Efetividade	EI	CI/EI	RICE média	Dominância
Orangelife®	645,01	0,00	1,28	0,00	504,38	0	
Biorad®	998,01	353,00	3,28	2,00	304,20	176,33	
Bioclin®	1019,87	21,88	3,17	-0,11	321,94	-193,65	Dominada
Bioeasy®	1020,66	22,66	3,17	-0,11	322,33	-198,18	Dominada

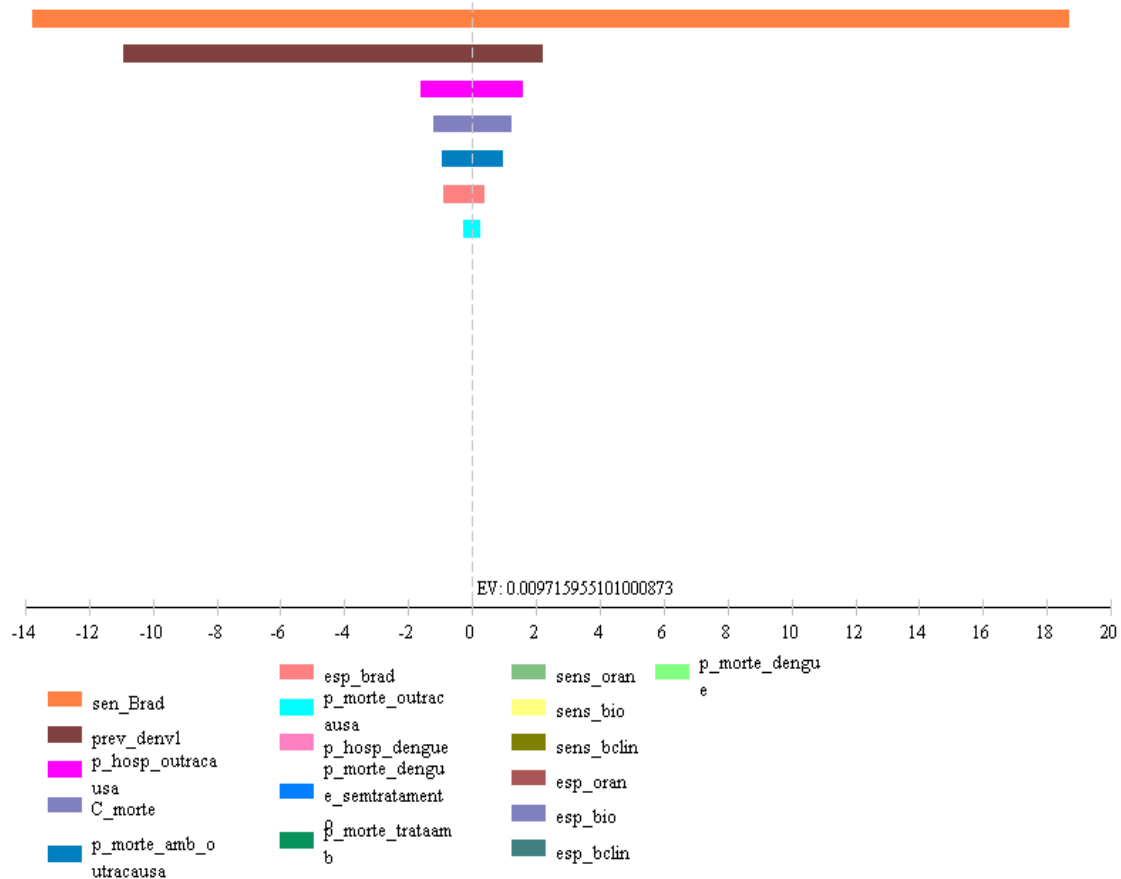
RICE: Razão Incremental de Custo-Efetividade. CI: Custo Incremental, EI: Efetividade Incremental.

### Análise de sensibilidade

Esta análise foi realizada primeiramente com o diagrama de tornado (figura 3) com as variáveis relevantes do modelo (prevalência de DENV-1, acurácia dos TRI e probabilidades de alta/cura e morte pela doença) e utilizando a medida benefício monetário líquido, a qual é resultante da diferença entre os custos e os benefícios. Assim à direita da linha central, observam-se as variáveis que contribuem para que os benefícios superem os custos, contrariamente ao que é observado à esquerda da linha

central, sendo as variáveis sensibilidade do TRI BioRad® e a prevalência de DENV-1 tiveram maior impacto sobre análise de custo-efetividade.

**Figura 3 – Diagrama de tornado das principais variáveis do modelo de custo-efetividade de testes rápidos imunocromatográficos para o diagnóstico de dengue expresso em benefício monetário líquido, na perspectiva do SUS + indivíduo.**



A seguir, as duas variáveis com maior impacto no modelo foram submetidas a análise de sensibilidade bivariada utilizando como disposição a pagar o valor de R\$ 304,27 por dia laboral perdido por incapacidade. Nesta análise o TRI BioRad® apresenta mais benefícios que custos em todos os cenários de prevalência avaliados, entretanto apenas quando o TRI apresenta sensibilidade inferior a 81% (Tabela 2.a).

**Tabela 2.a – Análise de sensibilidade bivariada segundo o benefício monetário líquido para duas variáveis do modelo de custo-efetividade de testes rápidos imunocromatográficos NS1 para o diagnóstico de dengue, considerando uma disposição a pagar de R\$304,27 por dias laborais perdidos por incapacidade, na perspectiva do SUS + Indivíduo.**

Sensibilidade TRI BioRad®		Prevalência de DENV-1				
		0,50	0,60	0,70	0,80	0,90
0,887	TRI Orangelife®	-142,40	-176,49	-210,57	-244,65	-278,74
	TRI BioRad®	-18,98	-17,35	-15,72	-14,10	-12,47
	TRI Bioclin®	-54,30	-54,80	-55,30	-55,80	-56,30
	TRI Bioeasy®	-25,35	-34,91	-44,48	-54,04	-63,61
0,8505	TRI Orangelife®	-142,40	-176,49	-210,57	-244,65	-278,74
	TRI BioRad®	-14,10	-11,50	-8,90	-6,29	-3,69
	TRI Bioclin®	-54,30	-54,80	-55,30	-55,80	-56,30
	TRI Bioeasy®	-25,35	-34,91	-44,48	-54,04	-63,61
0,814	TRI Orangelife®	-142,40	-176,49	-210,57	-244,65	-278,74
	TRI BioRad®	-9,22	-5,65	-2,07	<b>1,51</b>	<b>5,08</b>
	TRI Bioclin®	-54,30	-54,80	-55,30	-55,80	-56,30
	TRI Bioeasy®	-25,35	-34,91	-44,48	-54,04	-63,61
0,7775	TRI Orangelife®	-142,40	-176,49	-210,57	-244,65	-278,74
	TRI BioRad®	-4,35	<b>0,20</b>	<b>4,56</b>	<b>9,31</b>	<b>13,86</b>
	TRI Bioclin®	-54,30	-54,80	-55,30	-55,80	-56,30
	TRI Bioeasy®	-25,35	-34,91	-44,48	-54,04	-63,61
0,741	TRI Orangelife®	-142,40	-176,49	-210,57	-244,65	-278,74
	TRI BioRad®	<b>0,53</b>	<b>6,06</b>	<b>11,58</b>	<b>17,11</b>	<b>22,64</b>
	TRI Bioclin®	-54,30	-54,80	-55,30	-55,80	-56,30
	TRI Bioeasy®	-25,35	-34,91	-44,48	-54,04	-63,61

TRI: Teste rápido imunocromatográfico com detecção de NS1. Valores em benefício monetário líquido.

Estes resultados evidenciam que o TRI Biorad® se mantém custo-efetivo em cenários de prevalência da doença que variam de 50 a 90%, entretanto quando o teste apresenta menor sensibilidade variando de 74,1 a 77,75% deixando em evidência que os resultados falsos negativos não mudam o resultado da análise.

Quando utilizada uma disposição a pagar de R\$512,79 por dia laboral perdido por incapacidade ou R\$187.169,79 o equivalente a três PIB per capita ou limiar máximo para considerar uma tecnologia custo-efetiva, o resultado de custo-efetividade do TRI BioRad® se mantém.

**Tabela 2.b – Análise de sensibilidade bivariada segundo o benefício monetário líquido de duas variáveis do modelo de custo-efetividade de testes rápidos imunocromatográficos NS1 para o diagnóstico de dengue, considerando uma disposição a pagar de R\$512,79 por dias laborais perdidos por incapacidade, na perspectiva do SUS + indivíduo.**

Sensibilidade TRI BioRad®		Prevalência de DENV-1				
		0,50	0,60	0,70	0,80	0,90
0,887	TRI Orangelife®	259,44	184,76	110,08	35,40	-39,28
	TRI BioRad®	<b>604,90</b>	<b>623,20</b>	<b>641,50</b>	<b>659,80</b>	<b>678,10</b>
	TRI Bioclin®	551,12	567,19	583,25	599,31	615,37
	TRI Bioeasy®	603,35	603,27	603,18	603,10	603,02
0,8505	TRI Orangelife®	259,44	184,76	110,08	35,40	-39,28
	TRI BioRad®	<b>611,44</b>	<b>631,05</b>	<b>650,66</b>	<b>670,27</b>	<b>689,87</b>
	TRI Bioclin®	551,12	567,19	583,25	599,31	615,37
	TRI Bioeasy®	603,35	603,27	603,18	603,10	603,02
0,814	TRI Orangelife®	259,44	184,76	110,08	35,40	-39,28
	TRI BioRad®	<b>617,98</b>	<b>638,90</b>	<b>659,82</b>	<b>680,73</b>	<b>701,65</b>
	TRI Bioclin®	551,12	567,19	583,25	599,31	615,37
	TRI Bioeasy®	603,35	603,27	603,18	603,10	603,02
0,7775	TRI Orangelife®	259,44	184,76	110,08	35,40	-39,28
	TRI BioRad®	<b>624,52</b>	<b>646,75</b>	<b>668,97</b>	<b>691,20</b>	<b>713,42</b>
	TRI Bioclin®	551,12	567,19	583,25	599,31	615,37
	TRI Bioeasy®	603,35	603,27	603,18	603,10	603,02
0,741	TRI Orangelife®	259,44	184,76	110,08	35,40	-39,28
	TRI BioRad®	<b>631,07</b>	<b>654,60</b>	<b>678,13</b>	<b>701,67</b>	<b>725,20</b>
	TRI Bioclin®	551,12	567,19	583,25	599,31	615,37
	TRI Bioeasy®	603,35	603,27	603,18	603,10	603,02

TRI: Teste rápido imunocromatográfico com detecção de NS1. Valores em benefício monetário líquido.

## PERSPECTIVA DO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE

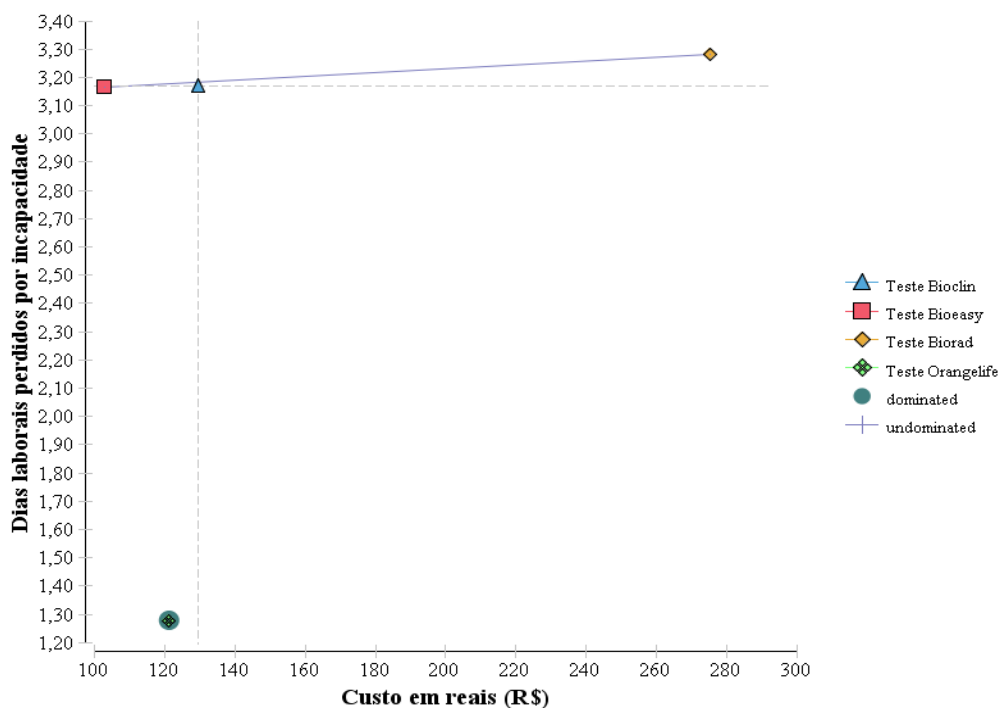
### Razão incremental de custo-efetividade

A razão incremental de custo-efetividade evidenciou que o TRI BioRad® teve a melhor relação de custo e benefício com uma razão incremental de custo-efetividade de R\$83,92 por dia laboral perdido por incapacidade (figura 3 e tabela 1), ou R\$30.629,95 por ano laboral perdido por incapacidade ou *YLD*. Todavia, o TRI Bioeasy® teve custo inferior e benefício similar ao TRI BioRad®, com uma razão incremental de custo efetividade de R\$32,50 por dias laborais perdidos por incapacidade.

Considerando o valor do PIB per capita de 2015 de R\$62.389,93, o TRI Biorad® foi muito custo-efetivo.



**Figura 4 – Análise de custo-efetividade de testes rápidos imunocromatográficos para o diagnóstico de dengue expresso em benefício monetário líquido, na perspectiva do Sistema Único de Saúde.**



**Tabela 3 – Razão incremental de custo-efetividade de testes rápidos imunocromatográficos NS1 para o diagnóstico de dengue, na perspectiva do Sistema Único de Saúde.**

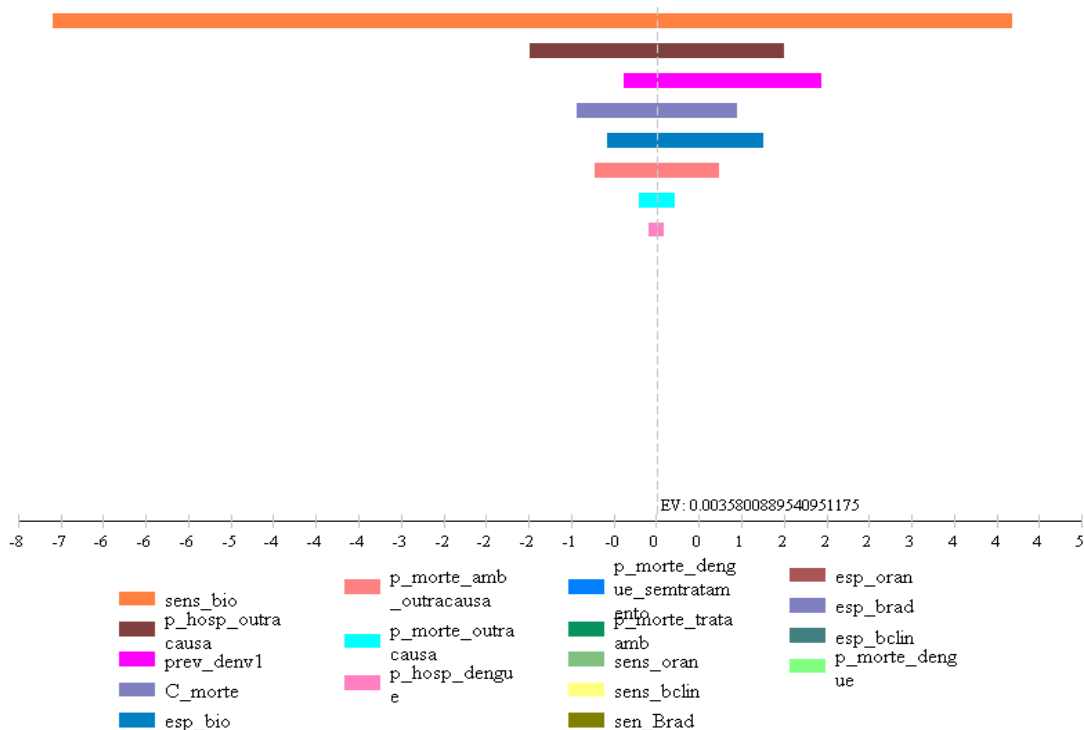
Estatégia	Custo	Custo Incremental	Efetividade	Efetividade Incremental	CI/EI	RICE média	Dominância
Bioeasy®	102,91	0	3,17	0	32,50	0	
Orangelife®	121,25	18,34	1,28	-1,89	94,81	-9,72	Dominada
Bioclin®	129,52	26,61	3,17	$1 \times 10^{-3}$	40,88	18411,38	
BioRad®	275,25	145,73	3,28	0,11	83,92	1291,12	

RICE: Razão Incremental de Custo-Efetividade. CI: Custo Incremental, EI: Efetividade Incremental.

### Análise de sensibilidade

Foi realizado o diagrama de tornado (figura 5) com as variáveis relevantes do modelo (prevalência de DENV-1, acurácia dos TRI e probabilidades de alta/cura e morte pela doença) e utilizando a medida benefício monetário líquido. As variáveis sensibilidade do TRI Bioeasy® e a probabilidade de hospitalização por outras causas.

**Figura 5 – Diagrama de tornado das principais variáveis do modelo de custo-efetividade de testes rápidos imunocromatográficos para o diagnóstico de dengue expresso em benefício monetário líquido, na perspectiva do Sistema Único de Saúde.**



Foi conduzida a análise de sensibilidade bivariada com as duas variáveis com maior impacto no modelo de custo-efetividade utilizando como disposição a pagar o valor de R\$32,50 por dia laboral perdido por incapacidade. Nesta análise o TRI Bioeasy® apresenta mais benefícios que custos em cenários de sensibilidade do teste acima de 88,8% (Tabela 4.a) quando comparado aos outros TRI. Já quando utilizada uma disposição a pagar de R\$170,93 por dia laboral perdido por incapacidade ou R\$62.389,92 o equivalente a um PIB per capita ou limiar para considerar uma tecnologia muito custo-efetiva, o resultado de custo-efetividade do TRI BioRad® se mantém. Entretanto, o TRI Bioeasy® apresenta maior benefício monetário líquido.

**Tabela 4.a – Análise de sensibilidade bivariada segundo o benefício monetário líquido de duas variáveis do modelo de custo-efetividade de testes rápidos imunocromatográficos NS1 para o diagnóstico de dengue, considerando uma disposição a pagar de R\$32,50 por dias laborais perdidos por incapacidade, na perspectiva do Sistema Único de Saúde.**

Sensibilidade TRI BioRad®		Probabilidade de hospitalização por outra causa				
		0,088	0,099	0,11	0,121	0,132
0,946	TRI Orangelife®	-77,69	-75,69	-79,69	-83,68	-87,68
	TRI BioRad®	-165,94	-167,28	-168,63	-169,97	-171,31
	TRI Bioclin®	-26,57	-26,57	-26,57	-26,57	-26,57
	TRI Bioeasy®	<b>5,12</b>	<b>4,65</b>	<b>4,18</b>	<b>3,71</b>	<b>3,24</b>
0,917	TRI Orangelife®	-71,69	-75,69	-79,69	-83,68	-87,68
	TRI BioRad®	-165,94	-167,28	-168,63	-169,97	-171,32
	TRI Bioclin®	-26,57	-26,57	-26,56	-25,56	-26,55
	TRI Bioeasy®	<b>2,68</b>	<b>2,02</b>	<b>1,36</b>	<b>0,71</b>	<b>0,05</b>
0,888	TRI Orangelife®	-71,69	-75,69	-79,69	-83,68	-87,68
	TRI BioRad®	-165,94	-167,28	-168,63	-169,97	-171,31
	TRI Bioclin®	-26,57	-26,57	-26,56	-26,55	-26,54
	TRI Bioeasy®	<b>0,24</b>	-0,61	-1,44	-2,30	-3,15
0,859	TRI Orangelife®	-71,69	-75,69	-79,69	-83,68	-87,68
	TRI BioRad®	-165,94	-167,28	-168,63	-169,97	-171,32
	TRI Bioclin®	-26,57	-26,57	-26,56	-26,55	-26,54
	TRI Bioeasy®	-2,20	-3,24	-4,27	-5,31	-6,34
0,830	TRI Orangelife®	-71,69	-75,69	-79,69	-83,68	-87,68
	TRI BioRad®	-165,94	-167,28	-168,63	-169,97	-171,32
	TRI Bioclin®	-26,57	-26,57	-26,56	-26,55	-26,54
	TRI Bioeasy®	-4,64	-5,86	-7,09	-8,31	-9,54

TRI: Teste rápido imunocromatográfico com detecção de NS1. Valores em benefício monetário líquido.

Esta análise aponta que em cenários com sensibilidade superior a 85% o TRI aumenta a sua capacidade discriminatória, com menor quantidade de falsos negativos independentemente da probabilidade de hospitalização dos casos falsos negativos.

**Tabela 4.b – Análise de sensibilidade bivariada segundo o benefício monetário líquido de duas variáveis do modelo de custo-efetividade de testes rápidos imunocromatográficos NS1 para o diagnóstico de dengue, considerando uma disposição a pagar de R\$170,93 por dias laborais perdidos por incapacidade, na perspectiva do Sistema Único de Saúde.**

Sensibilidade TRI BioRad®		Probabilidade de hospitalização por outra causa				
		0,088	0,099	0,11	0,121	0,132
0,946	TRI Orangelife®	105,35	101,35	97,34	93,34	89,33
	TRI BioRad®	290,43	287,98	285,54	283,09	280,64
	TRI Bioclin®	<b>413,47</b>	<b>412,72</b>	<b>411,98</b>	<b>411,23</b>	<b>410,49</b>
	TRI Bioeasy®	<b>427,83</b>	<b>425,82</b>	<b>429,58</b>	<b>421,81</b>	<b>419,80</b>
0,917	TRI Orangelife®	105,35	101,35	97,34	93,34	89,33
	TRI BioRad®	290,43	287,98	285,54	283,09	280,64
	TRI Bioclin®	<b>413,47</b>	<b>412,72</b>	<b>411,98</b>	<b>411,23</b>	<b>410,49</b>
	TRI Bioeasy®	<b>427,83</b>	<b>425,82</b>	<b>429,58</b>	<b>421,81</b>	<b>419,80</b>
0,888	TRI Orangelife®	105,35	101,35	97,34	93,34	89,33
	TRI BioRad®	290,43	287,98	285,54	283,09	280,64
	TRI Bioclin®	<b>413,47</b>	<b>412,72</b>	<b>411,98</b>	<b>411,23</b>	<b>410,49</b>
	TRI Bioeasy®	<b>427,83</b>	<b>425,82</b>	<b>429,58</b>	<b>421,81</b>	<b>419,80</b>
0,859	TRI Orangelife®	105,35	101,35	97,34	93,34	89,33
	TRI BioRad®	290,43	287,98	285,54	283,09	280,64
	TRI Bioclin®	<b>413,47</b>	<b>412,72</b>	<b>411,98</b>	<b>411,23</b>	<b>410,49</b>
	TRI Bioeasy®	<b>427,83</b>	<b>425,82</b>	<b>429,58</b>	<b>421,81</b>	<b>419,80</b>
0,830	TRI Orangelife®	105,35	101,35	97,34	93,34	89,33
	TRI BioRad®	290,43	287,98	285,54	283,09	280,64
	TRI Bioclin®	<b>413,47</b>	<b>412,72</b>	<b>411,98</b>	<b>411,23</b>	<b>410,49</b>
	TRI Bioeasy®	<b>427,83</b>	<b>425,82</b>	<b>429,58</b>	<b>421,81</b>	<b>419,80</b>

TRI: Teste rápido imunocromatográfico com detecção de NS1. Valores em benefício monetário líquido.

Esta análise de sensibilidade aponta que embora o teste BioRad® apresente maior efetividade que o TRI Bioeasy®, este último gera menores custos e consequentemente maior benefício monetário líquido.

## DISCUSSÃO

Esta análise econômica comparou o custo e efetividade de quatro testes rápidos imunocromatográficos NS1 para a detecção precoce de DENV-1 com adultos do município de Resende no estado do Rio de Janeiro, Brasil.

A análise na perspectiva do SUS + indivíduo apontou o teste BioRad® como aquele custo-efetivo considerando o limiar de custo-efetividade recomendado pela

OMS, com uma razão incremental de R\$304,27 por dia laboral perdido por incapacidade. Já a análise na perspectiva do Sistema Único de Saúde (SUS), destacou os testes Bioeasy® e Biorad® como muito custo-efetivos, segundo o mesmo limiar de custo efetividade com razões incrementais de R\$32,50 e R\$82,50 por dia laboral perdido por incapacidade, respectivamente.

Se trata de testes com diferentes apresentações comerciais, o TRI Bioeasy® tem formato de cassete e o Biorad® apenas possui uma fita imunocromatográfica chamada de *Strip Test*. O primeiro pode ser realizado à beira do leito utilizando sangue, soro ou plasma sanguíneo para promover a reação imunocromatográfica e o segundo, apenas com soro ou plasma em ambiente com mínima infraestrutura laboratorial. Diferenças estas que devem ser consideradas a depender do demandante da tecnologia (SUS + indivíduo ou SUS).

As análises de sensibilidade determinísticas na perspectiva do SUS + Indivíduo apontaram maior benefício do uso do TRI BioRad® conforme aumenta a disposição a pagar. Já na perspectiva do SUS o Teste Bioeasy® apresentou maior benefício monetário líquido quando comparado ao TRI BioRad®.

Se trata do primeiro estudo a realizar uma avaliação econômica sobre testes rápidos imunocromatográficos NS1 para o diagnóstico do dengue na perspectiva do SUS acrescida ou não à do indivíduo, com dados primários de micro-custeio e acurácia diagnóstica em uma amostra bem caracterizada do ponto de vista laboratorial.

No Brasil, a identificação dos casos suspeitos segue os critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS)<sup>4</sup>, baseados em sinais e sintomas inespecíficos para esta doença seguidos de confirmação laboratorial, atualmente com elevado custo e demorados (sorologia pareada, PCR, ELISA, isolamento viral, entre outros) fato que leva à demora na identificação de potenciais casos de gravidade podendo levar ao óbito<sup>5,6</sup>.

O aumento da carga desta doença, devido ao fracasso nas tentativas de controlar o vetor transmissor<sup>42</sup>, tem estimulado à pesquisa por métodos alternativos, como vacinas<sup>43</sup> e testes rápidos imunocromatográficos (TRI) com NS1<sup>8-13</sup> para controle e detecção da doença.

A literatura sobre a acurácia destes TRI tem aumentado nas últimas décadas, evidenciando elevada especificidade e sensibilidades que diferem segundo marca comercial de TRI utilizada<sup>8-13</sup>, sorotipo<sup>11-13</sup> e tipo de infecção (primária e secundária)<sup>44</sup>

avaliada, entretanto, são testes de fácil realização e interpretação, permitindo a sua realização à beira do leito, em locais remotos, por profissionais sem expertise ou com os mais diversos níveis de treinamento e que fornecem o resultado em até 20 minutos<sup>45</sup>.

Esta variabilidade também foi constatada no nosso estudo, onde os TRI apresentaram sensibilidades que variaram de 40% a 91,2% e elevada especificidade (89,7% a 94,3%), com aproximadamente 35% dos casos falsos negativos. Estes dados revelam que se trata de testes confirmatórios e devem ser incluídos a um algoritmo diagnóstico para auxiliar o manejo clínico.

Na presente avaliação econômica, o modelo construído representa um cenário real de uso dos TRI, onde a triagem inicial dos casos suspeitos é realizada através dos critérios estabelecidos pela OMS<sup>4</sup>, seguidos da realização do TRI para confirmação diagnóstica com instauração imediata do tratamento nos casos positivos e acompanhamento dos casos negativos.

Limitações do estudo residem no fato de basear-se em um ensaio clínico como única fonte para uma avaliação econômica<sup>46</sup> devido à ausência de evidência científica sobre os custos e efetividade do tratamento de DENV-1 com os TRI NS1 aqui avaliados, os quais foram completados com dados de fontes governamentais.

Se trata de um estudo local, que utilizou o modelo de árvore de decisão como preconizado em Drummond et al. (2015)<sup>47</sup>, que abrangeu uma faixa completa de evidência sobre os TRI disponíveis no mercado brasileiro, fornecendo subsídios para a decisão no âmbito da sociedade e do sistema de saúde (SUS), respondendo à demanda da Rede Brasileira de Avaliação de Tecnologias em Saúde, por edital em 2013.

Concluindo, o TRI NS1 BioRad<sup>®</sup> mostrou-se custo-efetivo na perspectiva do SUS + indivíduo, assim como este mesmo TRI e o da marca Bioeasy<sup>®</sup> na perspectiva apenas do SUS, em um cenário de epidemia de DENV-1 no Brasil, utilizados como testes confirmatórios atrelados a um algoritmo diagnóstico.

## **REFERÊNCIAS**

1. Peeling RW, Artsob H, Pelegrino JL, Buchy P, Cardoso MJ, Devi S, et al, Evaluation of diagnostic tests: dengue. *Nat Rev Microbiol.* 2010;8(12 Suppl):S30–8,
2. Mayer SV, Tesh RB, Vasilakis N. The emergence of arthropod-borne viral diseases: A global prospective on dengue, chikungunya and zika fevers. *Acta Tropica.* Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.11.020>, Acesso em: 03/03/17.

3. Stanaway DJ, Shepard DS, Undurraga EA, Halasa YA, Coffeng LE, et al. The global burden of dengue: an analysis from the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet Infect Dis.* 2016; 16: 712–23.
4. WHO. Organização Mundial da Saúde, Dengue: diagnosis, treatment, prevention and control. Geneva: Organização Mundial da Saúde, 2009.
5. Guzman A, Istúriz RE. Update on the global spread of dengue. *Int J Antimicrob Agents.* 2010 Nov; 36 Suppl 1:S40-2. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2010.06.018.
6. Blacksell SD, Mammen MP JR, Thongpaseuth S, Gibbons RV, Jarman RG. et al. Evaluation of the Panbio dengue virus nonstructural 1 antigen detection and immunoglobulin M antibody enzyme-linked immunosorbent assays for the diagnosis of acute dengue infections in Laos. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2008. Jan;60(1):43-9.
7. Wilder-Smith A, Gubler DJ, Weaver SC, Monath TP, Heymann DL, et al. Epidemic arboviral diseases: priorities for research and public health. *Lancet Infect Dis.* [online]. December 20, 2016. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30518-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30518-7). Acesso em: 03/03/17.
8. Lima MdrQ, Nogueira RMR, Schatzmayr HG, Santos FBd (2010) Comparison of Three Commercially Available Dengue NS1 Antigen Capture Assays for Acute Diagnosis of Dengue in Brazil. *PLoS Negl Trop Dis* 4(7): e738. doi:10.1371/journal.pntd.0000738.
9. Pai NP, Vadnais C, Denkinger C, Engel N, Pai M. Point-of-Care Testing for Infectious Diseases: Diversity, Complexity, and Barriers in Low- And Middle-Income Countries. *PLoS Med.* 2012; 9(9): e1001306. doi:10.1371/journal.pmed.1001306.
10. Fry SR, Meyer M, Semple MG, Simmons CP, Sekaran SD, Huang JX 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.* 2011; 5(6): e1199. doi:10.1371/journal.pntd.0001199.
11. Tricou V, VU HTT, Quynh NVN, Nguyen CVV, TRAN HTT, et al. Comparison of two dengue NS1 rapid tests for sensitivity, specificity and relationship to viraemia and antibody responses. *BMC Infectious Diseases.* 2010; 10:142.
12. Dussart P, Petit L, Labeau B, Bremand L, Leduc A, 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.* 2008; 2(8): e280. doi: 10.1371/journal.pntd.0000280.
13. Buonora SN, Passos SRL, do Carmo CN, Quintela FM, de Oliveira DNR, dos Santos FB, et al. Accuracy of clinical criteria and an immunochromatographic strip test for dengue diagnosis in a DENV-4 epidemic. *BMC Infectious Diseases.* 2016; 16:37. doi: 10.1186/s12879-016-1368-7.
14. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Ciência e Tecnologia. – 2. Ed. – Brasília: Ministério da Saúde. 2014. 132 p. il. Disponível em:

- [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes\\_metodologicas\\_diretriz\\_avaliao\\_economica.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diretrizes_metodologicas_diretriz_avaliao_economica.pdf). Acesso em 16/02/17.
15. Husereau D, Drummond M, Petrou S et al., CHEERS Task Force. Consolidated Health Economic Evaluation Reporting Standards (CHEERS) statement. *Cost Eff Resour Alloc*. 2013.11 (1):6.
  16. Brasil. Ministério da Saúde. Registro Brasileiro de Ensaios Clínicos. [on line], Disponível em: (<http://www.ensaiosclinicos.gov.br/rg/RBR-88b5jr/>). Acesso em 16/02/17.
  17. Vanni T, Luz PM, Ribeiro RA, Novaes HMD, Polanczyk CA. Economic evaluation in health: applications in infectious diseases. *Cad. Saúde Pública*. Rio de Janeiro. 25(12):2543-2552, 2009.
  18. Lanciotti RS, Calisher CH, Gubler DJ, Chang GJ and Vorndamt AV, Rapid Detection and Typing of Dengue Viruses from Clinical Samples by Using Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction. *Journal of clinical microbiology*. Mar 1992; p. 545-551 Vol. 30. No. 3.
  19. Dengue Eden Test Bioeasy<sup>®</sup>, Korea: Bioeasy Diagnóstica Ltda, 2015. Disponível em: <http://www.hyperbrax.com.br/POC/bula.pdf>. Acesso em: 07/04/2016.
  20. IVB Dengue Ag NS1 OrangeLife<sup>®</sup>, Brazil: Orangelife comércio e indústria Ltda, 2016. [online]. Disponível em: <http://www.dmed.com.br/manuais/denguens1orangelife.pdf>. Acesso em 07/01/16.
  21. Dengue NS1-K130-Bioclin<sup>®</sup>, Brazil: Quibasa Química Básica Ltda. Brasil. 2017. [online]. Disponível em: [http://www.bioclin.com.br/sitebioclin/wordpress/wp-content/uploads/arquivos/instrucoes/INSTRUCOES\\_DENGUE\\_NS1.pdf](http://www.bioclin.com.br/sitebioclin/wordpress/wp-content/uploads/arquivos/instrucoes/INSTRUCOES_DENGUE_NS1.pdf). Acesso em 08/03/17.
  22. Dengue NS1 Ag STRIP Bio-Rad<sup>®</sup>, France: Bio-Rad Laboratories. Inc. 2014. [online]. Disponível em: [http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/en/70700\\_883643\\_EN.pdf](http://www.bio-rad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/en/70700_883643_EN.pdf). Acesso em 07/04/2016.
  23. Brasil. Ministério da Saúde: Banco de Preços em Saúde (BPS). [on line]. Disponível em: <http://aplicacao.saude.gov.br/bps/visao/consultaPublica/index.jsf>. Acesso em 27/12/16.
  24. Brasil, Ministério da Saúde: Departamento de Informática do SUS, Sistema de Gerenciamento da Tabela de Procedimentos, Medicamentos e OPM do SUS (SIGTAP), [online], Disponível em: <http://sigtap.datasus.gov.br/tabela-unificada/app/sec/inicio.jsp>. Acesso em: 16/02/17.
  25. Brasil, Ministério da Saúde: Departamento de Informática do SUS (DATASUS),
  26. Brasil, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Câmara de Regulação do Mercado de Medicamentos (CMED). Lista de preços de medicamentos, [online], Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/documents/374947/2829072/LISTA+CONFORMIDADE\\_2017-02-20.pdf/1a5a4860-15b9-4da2-8967-a38686048172](http://portal.anvisa.gov.br/documents/374947/2829072/LISTA+CONFORMIDADE_2017-02-20.pdf/1a5a4860-15b9-4da2-8967-a38686048172). Acesso em 01/02/17.
  27. Brasil, Rio de Janeiro, Secretaria de Estado e Desenvolvimento Regional, Abastecimento e Pesca, Centrais de Abastecimento do Estado do Rio de Janeiro



- (CEASA). Pesquisa de preços no atacado de hortaliças, frutas, cereais, pescado, flores e plantas ornamentais, [online], Disponível em: [http://www.ceasa.rj.gov.br/ceasa\\_portal/view/ListarCotacoes.asp?pagina=24](http://www.ceasa.rj.gov.br/ceasa_portal/view/ListarCotacoes.asp?pagina=24). Acesso em 16/02/17.
28. Brasil, Rio de Janeiro. Controladoria Geral do Município do Rio de Janeiro. Tabela de preços de mercado de gêneros alimentícios da Prefeitura da cidade do Rio de Janeiro. [online]. Disponível em: [http://www.rio.rj.gov.br/dlstatic/10112/5137678/4136097/PRE\\_TAB\\_20150312.pdf](http://www.rio.rj.gov.br/dlstatic/10112/5137678/4136097/PRE_TAB_20150312.pdf). Acesso em 16/02/17.
29. O Globo, Preço da passagem de ônibus salta para R\$3,40 em Resende, RJ. Disponível em: <http://g1.globo.com/rj/sul-do-rio-costa-verde/noticia/2015/12/preco-da-passagem-de-onibus-salta-para-r-340-em-resende-rj.html>. Acesso em: 31/07/2017.
30. O Globo. Táxis passam a rodar com novas tarifas em Resende, no Sul do Rio, Disponível em: <http://g1.globo.com/rj/sul-do-rio-costa-verde/noticia/2015/07/taxis-passam-rodar-com-novas-tarifas-em-resende-no-sul-do-rio.html>. Acesso em: 31/07/2017.
31. Google. Google Maps. 2017. Disponível em: <https://www.google.com.br/maps/>. Acesso em: 31/07/2017.
32. Brasil. Agência Nacional do Petróleo, gás natural e Biocombustíveis (ANP). Sistema de levantamento de preços. [online]. Disponíveis em: <http://anp.gov.br/wwwanp/precos-e-defesa/234-precos/levantamento-de-precos/868-serie-historica-do-levantamento-de-precos-e-de-margens-de-comercializacao-de-combustiveis>. Acesso em 16/02/17.
33. Brasil. Instituto Nacional de Metrologia. Qualidade e Tecnologia (INMETRO) Tabela de Consumo/Eficiência Energética, [online], disponível em: [http://www.inmetro.gov.br/consumidor/pbe/veiculos\\_leves\\_2015.pdf](http://www.inmetro.gov.br/consumidor/pbe/veiculos_leves_2015.pdf). Acesso em 16/02/17.
34. Brasil. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. Cidades. [online] Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/rj/resende/panorama>. Acesso em 27/10/17.
35. Zagne SM, Alves VG, Nogueira RM, Miagostovich MP, Lampe E & Tavares W (1994) Dengue haemorrhagic fever in the state of Rio de Janeiro Brazil: a study of 56 confirmed cases. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 88, 677–679. In: Luz PM, Grinsztejn, Galvani AP, Disability adjusted life years lost to dengue in Brazil. *Tropical Medicine and International Health*. 14 (2): 237–246, 2009.
36. Lauritsen JM, Bruus M, EpiData (3ed). A comprehensive tool for validated entry and documentation of data. The EpiData Association. Odense, Denmark. 2003-5.
37. R Core Team (2015), R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.

38. Abramson, J.H. WINPEPI updated: computer programs for epidemiologists, and their teaching potential. *Epidemiologic Perspectives & Innovations*, 2011; 8:1.
39. TreeAge Pro 2015, R1.0. *TreeAge Software, Williamstown, MA; software available at <https://www.treeage.com>.*
40. World Health Organization. *Macroeconomics and health: investing in health for economic development. Report of the Commission on Macroeconomics and Health, Geneva: World Health Organization; 2001.*
41. NITA, ME, et.al., *Avaliação de tecnologias em saúde – evidência clínica, análise econômica e análise de decisão, Porto Alegre. ARTMED, 2010.*
42. Torres RJ, Castro J. The health and economic impact of dengue in Latin America, *Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 23 Sup 1:S23-S31, 2007.*
43. Shim E. Cost-Effectiveness of Dengue Vaccination Programs in Brazil, *Am, J, Trop, Med. Hyg., 96(5), 2017, pp, 1227–1234 doi:10.4269/ajtmh,16-0810.*
44. Blacksell SD, Doust JA, Newton PN, Peacock SJ, Day NP, et al. A systematic review and meta-analysis of the diagnostic accuracy of rapid immunochromatographic assays for the detection of dengue virus IgM antibodies during acute infection. *Trans R Soc Trop Med Hyg. 2006 Aug;100(8):775-84. Epub 2006 Mar 23.*
45. Low JGH, Ong A, Tan LK, Chaterji S, Chow A, et al. The Early Clinical Features of Dengue in Adults: Challenges for Early Clinical Diagnosis. *PLoS Negl Trop Dis 2011, 5(5): e1191. doi:10.1371/journal.pntd.0001191.*
46. Sanders GD, Neumann PJ, Basu A, Brock, DW, Feeny D, Krahn M et al. *JAMA 2016; 316 (10): 1093-1103: doi:10.1001/jama.2016.12195.*
47. Drummond MF, Sculpher MJ, Claxton K, Stoddart GL, Torrance GW. *Methods for the Economic Evaluation of Health Care Programmes. Fourth edition. Oxford 2015*

## ANEXO 1 – QUESTIONÁRIO PARA SEGUIMENTO DOS CASOS SUSPEITOS DE DENGUE EM RESENDE.



### Custos Tratamento de Dengue - Projeto Custos

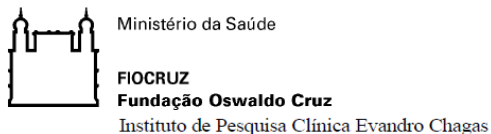
Data da entrevista:									
Entrevistador:									
Identificador Paciente:									
Nome do Paciente:									
Com o que vc trabalha / Qual sua ocupação?									
<b>1 - Antes de procurar o hospital, vc faltou ao trabalho por causa da doença?</b>									
Quantos dias vc faltou ao trabalho?		S/N							
Comrou algum medicamento nesse período?		S/N		Qual (is)	Dosagem	Qt.	Valor R\$		
Hidratou em casa? Se sim, com que (água, isotônico, água de coco, soro, etc.)?		S/N		Qual (is)	Qt.	Valor R\$			
Procurou algum atendimento médico antes do hospital?		S/N							
Se não, pular para item 2									
Se sim									
Qual a instituição?		Nome		Publ/Plano/Part	Qt. De vezes	Valor R\$			
Foi acompanhado? Com quem?		S/N							
Como vc(s) foi(ram) para a instituição (carro / onibus / ambulância / taxi, etc.)?		Qual (is)		Valor R\$					
Tempo de permanência na instituição?		Tempo							
Teve algum gasto do próprio bolso durante a sua permanência?		S/N		Qual (is)	Valor R\$				
Recebeu alimentação (vc e/ou seu acompanhante) da instituição?		S/N		Qual (is)	Para os dois?				
Precisou fazer exames?		Qual (is)		Qt.					
Precisou ser medicado na instituição?		S/N		Qual (is)	Qt.				
Precisou tomar soro?		S/N		Qt.					
Se sim									
Soro Oral?		S/N		Qt.					
Soro na Veia?		S/N		Qt.					
A instituição forneceu medicação para se tratar em casa?		S/N		Qual (is)	Dosagem	Qt.			
Precisou ficar internado?		S/N		Tempo					
Se sim, ficou com acompanhante? Pagou?		S/N		Tempo	Valor R\$				

2 - No dia que vc foi ao hospital, vc faltou ao trabalho?		S/N						
Foi acompanhado? Com quem?		S/N						
Como vc(s) foi(ram) para o hospital (carro / onibus / ambulancia / taxi, etc.)?		Qual (is)		Valor R\$				
Tempo de permanencia no hospital?		Tempo						
Teve algum gasto do proprio bolso durante a sua permanencia?		S/N		Qual (is)		Valor R\$		
Recebeu alimentacao (vc e/ou seu acompanhante) do hospital?		S/N		Qual (is)		Para os dois?		
Precisou fazer exames?				Qual (is)		Qt.		
Precisou ser medicado no hospital?		S/N		Qual (is)		Qt.		
Precisou tomar soro?		S/N		Qt.				
Se sim								
Soro Oral?		S/N		Qt.				
Soro na Veia?		S/N		Qt.				
O hospital forneceu medicacao para se tratar em casa?		S/N		Qual (is)		Dosagem		Qt.
Precisou ficar internado?		S/N		Tempo				
Se sim, ficou com acompanhante? Pagou?		S/N		Tempo		Valor R\$		

3 - Depois de procurar o hospital, vc faltou ao trabalho por causa da doenca?		S/N						
Quantos dias vc faltou ao trabalho?		Qt.						
Comprou algum medicamento nesse periodo?		S/N		Qual (is)		Dosagem		Qt. Valor R\$
Hidratou em casa? Se sim, com que (agua, isotonic, agua de coco, soro, etc.)?		S/N		Qual (is)		Qt.		Valor R\$
Procurou algum atendimento medico depois do hospital?		S/N						
Se não, fim do questionario								
Se sim								
Qual a instituicao?		Nome		Publ/Plano/Part		Qt. de vezes		Valor R\$
Foi acompanhado? Com quem?		S/N						
Como vc(s) foi(ram) para a instituicao (carro / onibus / ambulancia / taxi, etc.)?		Qual (is)		Valor R\$				
Tempo de permanencia na instituicao?		Tempo						
Teve algum gasto do proprio bolso durante a sua permanencia?		S/N		Qual (is)		Valor R\$		
Recebeu alimentacao (vc e/ou seu acompanhante) da instituicao?		S/N		Qual (is)		Para os dois?		
Precisou fazer exames?				Qual (is)		Qt.		
Precisou ser medicado na instituicao?		S/N		Qual (is)		Qt.		
Precisou tomar soro?		S/N		Qt.				
Se sim								
Soro Oral?		S/N		Qt.				
Soro na Veia?		S/N		Qt.				
A instituicao forneceu medicacao para se tratar em casa?		S/N		Qual (is)		Dosagem		Qt.

Precisou ficar internado?		S/N		Tempo	
---------------------------	--	-----	--	-------	--

## ANEXO 2 – FORMULÁRIO DE SEGUIMENTO DE CUSTOS DOS CASOS SUSPEITOS DE DENGUE EM RESENDE.



### Custos Tratamento de Dengue - Projeto Custos

Data do preenchimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Pesquisador: ( ) Verónica ( ) Guilherme ( ) Mayara ( ) Carlos ( )

Outro \_\_\_\_\_

Nº Prontuário: \_\_\_\_\_

Identificador único: TIJ- 15 \_\_\_\_\_

Nome do paciente: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

CEP: \_\_\_\_\_

Bairro: \_\_\_\_\_ Cidade: ( ) Resende ( ) Outra \_\_\_\_\_

**Data do atendimento:** \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

a. Exames laboratoriais: ( ) SIM ( ) NÃO

( ) Hemograma ( ) EAS ( ) RX ( ) Sorologia IgM ( ) Outro:

\_\_\_\_\_

b. Sorologia IgM: ( ) Positiva ( ) Negativa ( ) Não realizada

c. Hidratação endovenosa: ( ) SIM ( ) NÃO

VOLUME EM ML: \_\_\_\_\_

Descrição do soro infundido: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

d. Hidratação oral: ( ) SIM ( ) NÃO

Quantidade envelopes: \_\_\_\_\_

Volume em ml: \_\_\_\_\_

e. Medicação no hospital: ( ) SIM ( ) NÃO

1 ( ) dipirona

2 ( ) paracetamol

3 ( ) Novalgina

4 ( ) Antiemético

5 ( ) Não informado

6 ( ) Outro \_\_\_\_\_

Dosagem e tratamento (dose/dia): \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

f. Medicação para tratamento domiciliar fornecida pela farmácia do Hospital:

( ) SIM ( ) NÃO

1 ( ) dipirona

2 ( ) paracetamol

3 ( ) Novalgina

4 ( ) Antiemético

5 ( ) Não informado

6 ( ) Outro: \_\_\_\_\_

Dosagem e tratamento (dose/dia): \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

g. Internação: ( ) SIM ( ) NÃO

Data de internação: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Data da alta: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

h. Informações importantes: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O vírus dengue é a doença de transmissão vetorial com maior crescimento, frequência e distribuição no mundo (CUCUNAWANGSIH & LUGITO, 2017; STANAWAY et al, 2016). Estimativas globais de 2013, apontaram um total de 58,4 milhões de infecções sintomáticas por este vírus (IC 95% 24 a 122 milhões), com mais de 13.000 óbitos e um custo anual de US\$ 8,9 bilhões (STANAWAY et al, 2016), tornando-a um grave problema de saúde pública (GUZMAN et al, 2010).

Os continentes com maior incidência de dengue são América e Ásia com 84% do total de casos anuais (CONSTELA et al, 2015), sendo a região tropical da América Latina a que apresenta maior taxa de mortalidade (1,35 por milhão de habitantes; IC 95% 0,20 – 1,66) e carga da doença com 15,08 DALYs (IC 95% 7,32 – 28,47) (STANAWAY et al, 2016).

Particularmente o Brasil, tem evidenciado aumento no número de casos e carga na carga da doença, passando de 790.834 casos com 5,9 DALYs em 2010 a mais de 2.600.00 e 21,9 DALYs em 2015 (ARAÚJO et al, 2017), impactando diretamente no aumento dos custos sociais com a doença (MARTELLI et al, 2015).

Trata-se de uma infecção viral com amplo espectro de doença e que varia de casos assintomáticos até graves que levar ao óbito (BLACKSELL et al, 2006). Atualmente o dengue cursa com surtos ou epidemias de doenças febris agudas de similar apresentação clínica como malária, tifo, rickettsioses, leptospiroses, zika e chikungunya.

A identificação de casos suspeitos de dengue no Brasil é realizada com base na evolução e presença de sinais clínicos, assim como de exames laboratoriais segundo os critérios da Organização Mundial da Saúde (OMS) (WHO, 2009). Critérios esses altamente inespecíficos que não permitem a identificação de potenciais casos de gravidade a tempo de evitar complicações ou até o óbito (LOW et al, 2011).

Neste sentido, testes rápidos imunocromatográficos representam um avanço potencial para a confirmação dos casos nos primeiros dias de doença (DIETZ et al, 1990). Trata-se de testes de fácil execução e interpretação, podendo ser realizados por profissionais minimamente treinados, em locais remotos, com resultados em até 20 minutos (PAI et al, 2012). São testes que podem auxiliar o diagnóstico clínico e otimizar o manejo dos pacientes ainda na fase inicial da doença.



A presente tese de doutorado buscou analisar acurácia, confiabilidade e custo-efetividade de testes rápidos imunocromatográficos para o diagnóstico do dengue, através de quatro estudos: uma revisão sistemática da literatura, dois estudos de acurácia diagnóstica e uma avaliação de custo-efetividade.

A revisão sistemática incluiu 34 artigos que avaliaram testes rápidos imunocromatográficos com detecção da proteína NS1, sorologias IgA, IgM/IgG e testes Duo (NS1/IgM/IgG), evidenciando medidas combinadas de sensibilidades de 75% (IC 95% 67 – 82) e especificidades 97% (IC 95% 95 – 99), respectivamente.

Na avaliação segundo a fase da doença, aguda ou convalescente, os TRI com detecção apenas de NS1 apontaram melhor desempenho combinado com sensibilidade de 73,2% (IC 95% 66,2 – 79,2), especificidade de 98,8% (IC 95% 97,1 – 99,5) e RVP 62,18 e RVN= 0,27. Estes achados corroboram os de Zhang et al (2014) com sensibilidade e especificidade de 71% (IC 95% 61 – 79) e 99% (IC 95% 98 – 100), respectivamente.

Em ambos estudos de avaliação do TRI NS1 em cenários de prevalência da doença de 25, 50 e 75%, a probabilidade pós-teste positiva variou de 99 a 100%, com aumento da probabilidade pós-teste negativa, evidenciando o poder confirmatório destes testes.

Dentre as limitações desta revisão foram destacadas baixa qualidade metodológica de grande parte dos estudos incluídos e de padronização no relato dos dados relevantes para caracterização das amostras impossibilitando a avaliação por subgrupos, como sorotipo, idade, entre outros. Limitações estas, reiteradas por Alagarasu et al (2016), Blacksell et al (2012) e Zangh et al (2014).

Nossa revisão finalizou com a recomendação do uso de TRI NS1 para detecção precoce de dengue em pacientes com até sete dias de febre, como testes confirmatórios, devendo estar acoplados a um algoritmo diagnóstico para otimização do seu uso.

Os estudos de acurácia desta tese, confirmam estes achados através de avaliações nos sorotipos de dengue 1 e 4 para quatro marcas comerciais com soro congelado em períodos epidêmicos diferentes (2013 e 2015). Outro estudo realizado durante a mesma epidemia de 2015, comparou a acurácia de uma marca comercial de TRI NS1 utilizando sangue no ponto de cuidado e o resultado com soro após congelamento.

TRI NS1 das marcas Orangelife<sup>®</sup>, Bioclin<sup>®</sup>, BioRad<sup>®</sup> e Bioeasy<sup>®</sup> realizados na fase aguda da doença com soro sanguíneo após congelamento, apontaram altas especificidades (variando de 89,7% a 95,9%) e sensibilidades que variaram segundo o sorotipo. Menor

sensibilidade dos TRI foi atribuída ao sorotipo DENV-4, variando de 14,7% (Orangelife<sup>®</sup>) a 45,4% (Bioeasy<sup>®</sup>), já em cenário onde predominou o DENV-1, variou de 40% (Orangelife<sup>®</sup>) a 91,2% (Bioclin<sup>®</sup>).

Esta variabilidade entre sorotipos de dengue no desempenho dos TRI NS1 foi reportada por outros estudos que avaliaram diversas marcas comerciais utilizando soro sanguíneo, destacando que os sorotipos com melhor sensibilidade nos TRI são o DENV-1, 2 e 3 (FRY et al, 2011; DUSSART et al, 2008; BUONORA et al, 2016).

As diferentes apresentações dos TRI NS1, seja em formato cassete ou *Strip* permitem a sua implementação à beira do leito ou em locais com mínima estrutura laboratorial, utilizando sangue total, plasma ou soro sanguíneo (formato cassete) ou apenas plasma ou soro sanguíneo (*Strip*) (FRY et al, 2011; FERRAZ et al, 2013; ANDRIES et al, 2012). Todavia, escassa é a literatura que avalia o TRI NS1 no ponto do cuidado, utilizando sangue total e desenvolvidos em cenários de vida real, sem a utilização de amostras controlados provenientes de biobancos (DUSSART et al, 2008; TRICOU et al, 2010; LIMA et al, 2010).

O segundo estudo desenvolvido nesta tese procurou suprir esta lacuna do conhecimento, através da avaliação do desempenho do TRI NS1 Bioeasy<sup>®</sup> no ponto de cuidado, em um cenário real, epidêmico, com prevalência do sorotipo 1. Os resultados apontaram desempenho relativamente menor quando o teste foi realizado utilizando sangue total a beira do leito (Sn= 76,7% e Sp= 87%) aquele executado com soro após congelamento no laboratório (Sn= 82,2% e Sp= 100%). Achados também relatados por Gan et al (2014) com o TRI NS1 Bioline<sup>®</sup>, usando sangue total, em uma amostra predominantemente de DENV-2 (Sn= 81,6% e Sp= 98%).

As avaliações da acurácia diagnóstica dos TRI NS1 Bioeasy<sup>®</sup>, BioRad<sup>®</sup>, Bioclin<sup>®</sup> e Orangelife<sup>®</sup> também analisaram a confiabilidade inter e intra-observador, concluindo que profissionais mínimamente treinados podem realizá-los tanto à beira do leito com sangue total quanto em cenários com mínima infraestrutura laboratorial com concordância quase-perfeita em ambos cenários, confirmando o resultado do estudo de Gan et al (2014).

O último estudo, versa sobre uma avaliação de custo efetividade durante uma epidemia de DENV-1, utilizando a perspectiva societal e do SUS. Esta análise evidenciou que o TRI BioRad<sup>®</sup> apresentou melhor relação de custo-efetividade em ambas as perspectivas, seguido do TRI Bioeasy<sup>®</sup> com avaliação similar na perspectiva do SUS. Este resultado permite ao SUS escolher o TRI segundo o cenário (epidêmico ou não) e local onde serão

realizados (com mínima estrutura laboratorial ou remotos), obtendo benefícios monetários líquidos similares.

A partir destes resultados recomendamos que serviços de saúde com alguma infraestrutura de laboratório, realizem os TRI NS1 Bioeasy<sup>®</sup> ou BioRad<sup>®</sup> com soro no laboratório. Do contrário, em locais remotos, sem infraestrutura de laboratório ou durante epidemias recomendamos a identificação dos casos suspeitos de acordo com os critérios clínicos e sintomatológicos da OMS (WHO, 2009) seguidos pelo TRI NS1 Bioeasy<sup>®</sup> com sangue total realizados à beira do leito e leitura aos 15 minutos, com releitura apenas dos resultados inválidos em 30 minutos.

## 6 CONCLUSÕES

- A acurácia dos TRI NS1 Dengue em cenário de prevalência do sorotipo 4 apresentou elevada especificidade e menor sensibilidade que a observada para os outros sorotipos.
- A acurácia dos TRI NS1 Dengue em cenário de prevalência do sorotipo 1 apresentou elevadas especificidade e sensibilidade.
- A acurácia dos TRI NS1 Dengue comparando sangue total à beira do leito e com soro após congelamento no laboratório foi similar.
- TRI NS1 no formato cassete podem ser realizados por profissionais minimamente treinados, em locais sem infra-estrutura laboratorial, com leitura aos 15 minutos e releitura dos resultados inválidos aos 30' de iniciados.
- TRI NS1 é o teste com melhor desempenho na fase aguda da doença, quando comparado aos testes sorológicos.
- Na perspectiva societal, o teste BioRad<sup>®</sup> foi custo-efetivo quando comparado aos TRI NS1 Orangelife<sup>®</sup>, Bioclin<sup>®</sup> e Bioeasy<sup>®</sup>.
- Na perspectiva do SUS, os TRI BioRad<sup>®</sup> e Bioeasy<sup>®</sup> apresentaram benefícios monetários líquidos semelhantes permitindo seu uso em diferentes cenários e locais.

## REFERÊNCIAS

- DAUMAS, RP et al. Interobserver agreement on signs and symptoms of patients with acute febrile illness. **Infection**. 2011 Apr;39(2):135-40.
- ARAÚJO, VEM; BEZERRA, JMT; AMÂNCIO, FF; PASSOS, VMA; CARNEIRO, M. 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**. Maio 2017; 20 sUppl 1: 205-216..
- DERSIMONIAN, R; LAIRD, N. Meta-analysis in clinical trials. **Control Clin Trials**. 1986 Sep;7(3):177-88.
- DIETZ, VJ et al. Epidemic dengue 1 in Brazil, 1986: evaluation of a clinically based dengue surveillance system. **Am J Epidemiol**. 1990 Apr;131(4):693-701.
- DUSSART, P; PETIT, L; LABEAU, B; BREMAND, L; LEDUC, A et al. (2008) 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** 2(8):e280.
- FERRAZ, FO; BOMFIM, MRQ; TOTOLA, AH; ÁVILA, TV; CISALPINO, D; PESSANHA, JEM 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** 58 (2013) 41-46.
- FERREIRA, CF et al. SINUS 2014. Compartilhando Responsabilidades Na Promoção da Justiça. **Guia de Estudos**. [on line]. Disponível em: <http://sinus.org.br/2014/wp-content/uploads/2013/11/OMS-Guia-Online.pdf>. Acesso em 02/05/2015.
- FRY, SR 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**. 2011 Jun;5(6):e1199.
- GAN, VC; TAN, LK; LYE, DC; POK, KY; MOK, SQ et al. (2014) Diagnosing Dengue at the Point-of-Care: Utility of a Rapid Combined Diagnostic Kit in Singapore. **PLoS One** 9(3): e90037.
- GIBSON, G et al. From primary care to hospitalization: clinical warning signs of severe dengue fever in children and adolescents during an outbreak in Rio de Janeiro, Brazil. **Cad. Saúde Pública**. Rio de Janeiro, 29(1):82-90. Jan, 2013.
- GUZMAN, A; ISTURIZ, RE. Update on the global spread of dengue. **International Journal of Antimicrobial Agents**, 2010.
- HALSTEAD, SB. Dengue virus-mosquito interactions. **Annu Rev Entomol**. 2008;53:273-91.

HANG, VT et al. Diagnostic accuracy of NS1 ELISA and lateral flow rapid tests for dengue sensitivity, specificity and relationship to viraemia and antibody responses. **PLoS Negl Trop Dis**. 2009;3(1):e360.

HONORIO, NA et al. Spatial evaluation and modeling of Dengue seroprevalence and vector density in Rio de Janeiro, Brazil. **PLoS Negl Trop Dis**. 2009;3(11):e545.

KANTOR, IN. DENGUE, ZIKA Y CHIKUNGUNYA. In **MEDICINA** - Volumen 76 - Nº 2, 2016.

LIMA, MR et al. Comparison of three commercially available dengue NS1 antigen capture assays for acute diagnosis of dengue in Brazil. **PLoS Negl Trop Dis**. 2010;4(7):e738.

LIMA, MRQ. **Antígeno NS1 dos Vírus Dengue: desempenho de testes disponíveis comercialmente e aplicações alternativas para o diagnóstico precoce das infecções por dengue**. [Dissertação]. Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, 2014.

LOW, JG et al. The early clinical features of dengue in adults: challenges for early clinical diagnosis. **PLoS Negl Trop Dis**. 2011;5(5):e1191.

LUZ, PM et al. Dengue vector control strategies in an urban setting: an economic modelling assessment. **Lancet**. 2011 May 14;377(9778):1673-80.

MARTELLI, CMT; JUNIOR, JBS; PARENTE, MPPD; ZARA, ALSA; OLIVEIRA, CS; BRAGA, C et al. (2015). Economic Impact of Dengue: Multicenter Study across Four Brazilian Regions. **PLoS Negl Trop Dis** 9(9):e0004042.

MASSAD, E et al. Risk of symptomatic dengue for foreign visitors to the 2014 FIFA World Cup in Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. 2014 Jun;109(3):394-7. Epub 2014 May 20.

McBRIDE, WJ. Evaluation of dengue NS1 test kits for the diagnosis of dengue fever. **Diagn Microbiol Infect Dis**. 2009 May;64(1):31-6.

NITA, ME et al. Avaliação de tecnologias em saúde: evidência clínica, análise econômica e análise de decisão. Porto Alegre: **Artmed**, 2010.

NOGUEIRA, RM, EPPINGHAUS, AL. Dengue virus type 4 arrives in the state of Rio de Janeiro: a challenge for epidemiological surveillance and control. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. 2011 May;106(3):255-6.

OECD - **Organization for Economic Co-Operation and Development. Health Technology and Decision Making**. 2005. ISBN-92-64-01620-1.

OPAS. **Boletim epidemiológico, 2011**. Downloads/dengue-cases-2011-11-july-cierre-2%20(1).pdf in

OPAS. Organização Panamericana da Saúde. Number of Reported Cases of Dengue and Severe Dengue (SD) in the Americas, by Country: Deaths (SD/D) x100 CFR North America

Central America and Mexico Figures for 2014 (to week noted by each country) Epidemiological Week / EW 53 (Updated Mar 20, 2015). <file:///C:/Users/ed/Downloads/2014-cha-dengue-cases-jan-19-ew-53.pdf>.

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

PAI NP; VADNAIS, C; DENKINGER, C; ENGEL, N; PAI, M. Point-of-Care Testing for Infectious Diseases: Diversity, Complexity, and Barriers in Low- And Middle-Income Countries. **PLoS Med.** 2012. 9(9): e1001306.

PEELING, RW et al. Evaluation of diagnostic tests: dengue. **Nat Rev Microbiol.** 2010 Dec;8(12 Suppl):S30-8.

PHUONG, HL et al. Detection of dengue nonstructural 1 (NS1) protein in Vietnamese patients with fever. **Diagn Microbiol Infect Dis.** 2009 Apr;63(4):372-8.

PRICE, CP. Point of care testing. **BMJ** 2001; 322 doi: <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.322.7297.1285>. In: Blacksell, SD; Doust, JA; Newton, PN; Peacock, SJ; Day, NP et al. A systematic review and meta-analysis of the diagnostic accuracy of rapid immunochromatographic assays for the detection of dengue virus IgM antibodies during acute infection. **Trans R Soc Trop Med Hyg.** 2006 Aug;100(8):775-84. Epub 2006 Mar 23.

RAMIREZ, AH et al. Evaluation of dengue NS1 antigen detection tests with acute sera from patients infected with dengue virus in Venezuela. **Diagn Microbiol Infect Dis.** 2009 Nov;65(3):247-53.

SAN MARTÍN, JL et al. The Epidemiology of Dengue in the Americas Over the Last Three Decades: A Worrisome Reality. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, 82(1), 2010, pp. 128–135.

SANTOS, SM et al. **Estimativa de custo do programa de controle e prevenção da dengue em Goiânia-GO.** [Dissertação]. Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás. Brasil, 2013.

SÃO PAULO. São Paulo, Secretaria Municipal de Saúde de São Paulo. Coordenação de Epidemiologia e Informação (CEInfo). A Economia da Saúde. Desafios para incorporação da dimensão econômica na produção de informação para a gestão do SUS em São Paulo. Secretaria Municipal de Saúde de São Paulo. **Coordenação de Epidemiologia e Informação (CEInfo).** São Paulo, 2012.

SCHATZMAYR, HG et al. An outbreak of dengue virus at Rio de Janeiro, 1986. **Mem Inst Oswaldo Cruz.** 1986 Apr-Jun;81(2):245-246.

SHU, PY et al. Application of the dengue virus NS1 antigen rapid test for on-site detection of imported dengue cases at airports. **Clin Vaccine Immunol.** 2009 Apr;16(4):589-91.

SIERRA CB et al. Race: a risk factor for dengue hemorrhagic fever. **Arch Virol.** 2007;152(3):533-42.

SINGH, MP et al. Nonstructural protein NS1: giving a new structure to dengue diagnosis. **J Clin Microbiol.** 2010 Dec;48(12):4688; author reply -9.

STANAWAY, DJ; SHEPARD, DS; UNDURRAGA, EA; HALASA, YA; COFFENG, LE et al. The global burden of dengue: an analysis from the Global Burden of Disease Study 2013. **Lancet Infect Dis.** 2016; 16: 712–23.

SUAYA, JA et al. Cost of Dengue Cases in Eight Countries in the Americas and Asia: A Prospective Study. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, 80(5), 2009, pp. 846–855.

TEIXEIRA, MG et al. Epidemiological Trends of Dengue Disease in Brazil (2000–2010): A Systematic Literature Search and Analysis. **PLoS Negl Trop Dis.** 2013. 7(12): e2520. doi:10.1371/journal.pntd.0002520.

TEXEIRA, MG et al. Dengue: twenty-five years since reemergence in Brazil. **Cad Saude Publica.** 2009;25 Suppl 1:S7-18.

TEXEIRA, MG et al. Recent shift in age pattern of dengue hemorrhagic fever, Brazil. **Emerg Infect Dis.** 2008 Oct;14(10):1663.

TRICOU, V.; VU, H.T.T.; QUYNH, N.V.N.; NGUYEN, C.V.V.; TRAN, H.T.; FARRAR, J.; et al. Comparison of two dengue NS1 rapid tests for sensitivity, specificity and relationship to viraemia and antibody responses. **BMC Infectious Diseases.** 2010, 10:142. Doi: 10.1186/1471-2334-10-142.

WANG, S.M., SEKARAN, S.D. 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.**, 83(3), 2010, pp. 690–695 doi:10.4269/ajtmh.2010.10-0117.

WHO. **Dengue and severe dengue.** Atualização 2015. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/#>.

WHO. **Guia de Estudos. SINUS 2014.** <http://sinus.org.br/2014/wp-content/uploads/2013/11/OMS-Guia-Online.pdf>. [22/05/2015]

WHO. Organização Mundial da Saúde. **Dengue: diagnosis, treatment, prevention and control.** Geneva: Organização Mundial da Saúde; 2009.

ZAINAH, S et al. Performance of a commercial rapid dengue NS1 antigen immunochromatography test with reference to dengue NS1 antigen-capture ELISA. **J Virol Methods.** 2009 Feb;155(2):157-60.

ZHANG, H et al. NS1-based tests with diagnostic utility for confirming dengue infection: a meta-analysis. **International Journal of Infectious Diseases.** 26 (2014) 57–66.