
Avaliação dos métodos de ELISA para antígeno NS1 e anticorpos IgM, no diagnóstico da dengue, durante a epidemia ocorrida em 2013, no município de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil

Suely Maia GERACE¹, Jandira Olimpia Francelino da SILVA¹, Edilene Aparecida Duarte da SILVA¹, Ana Carolina de SOUZA¹, Eduardo Bras PERIN², Elaine Cristina Manini MINTO², Marina Von ATZINGEN¹

¹Núcleo de Ciências Biomédicas-Centro de Laboratório Regional Ribeirão Preto-Instituto Adolfo Lutz.

²Laboratório Municipal de Ribeirão Preto-Secretaria Municipal de Saúde-Ribeirão Preto-SP.

No contexto mundial, a dengue pode ser considerada uma das mais importantes arboviroses que afeta o homem. Atualmente, são conhecidos quatro sorotipos antigenicamente distintos: DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4.

Infecções causadas pelo vírus da dengue ocorrem especialmente nos países tropicais, onde os fatores socioambientais favorecem o desenvolvimento e a proliferação do mosquito *Aedes aegypti*, principal vetor do vírus. Esse vetor havia sido erradicado em vários países do continente americano nas décadas de 50 e 60, mas teve sua reintrodução na década de 70, devido às mudanças sociais e ambientais, propiciadas pela urbanização acelerada da época^{1,2}.

Por ser uma doença reemergente, em que inexistem evidências da viabilidade de uma política de erradicação do vetor, a curto prazo, a dengue se torna um problema de grande magnitude e relevância para saúde pública, sendo incluída na Lista de Notificação Compulsória.

No Brasil, a primeira epidemia documentada clínica e laboratorialmente ocorreu em 1981 – 1982 em Boa Vista, RR. Desde então, a dengue vem ocorrendo de forma contínua³. Em Ribeirão Preto,

a primeira epidemia de dengue foi registrada entre novembro de 1990 e março de 1991¹.

A ocorrência de epidemias é geralmente associada à introdução de novos sorotipos em áreas anteriormente indenes ou à alteração do sorotipo predominante. Foi detectada pela vigilância epidemiológica a introdução do sorotipo DENV-1 em 1987, do DENV-2 em 1997 e do sorotipo DENV-3 em 2002. Em 2011, ocorreu a introdução do sorotipo DENV-4 no Estado de São Paulo³.

O ensaio imunoenzimático de captura de anticorpos IgM é considerado um método de rotina para confirmação laboratorial da doença, por ser de fácil execução e apresentar bons resultados. Entretanto, esses anticorpos somente são detectáveis no soro do paciente a partir do sexto dia do início dos sintomas⁴.

Em 2008, unidades sentinelas foram criadas, em alguns municípios estratégicos, pelo Ministério da Saúde utilizando a detecção do Ag NS1 para diagnóstico precoce das infecções por dengue⁵. O antígeno NS1 trata-se de uma glicoproteína viral presente no soro do paciente desde o primeiro dia de doença, permanecendo até o quinto ou sexto dia na forma solúvel⁶.

Em 2009, o Instituto Adolfo Lutz (IAL) descentralizou o diagnóstico de dengue e, devido a alta incidência dos casos no município de Ribeirão Preto, a Secretaria Municipal de Saúde optou por realizar o exame de pesquisa de NS1 a fim de obter maior agilidade na confirmação diagnóstica da doença.

Neste estudo, foram considerados os resultados de exames dos pacientes que preencheram dois requisitos:

- Até o terceiro dia do início dos sintomas colheram sangue e foram encaminhados para o Laboratório Municipal (LMRP) para detecção do antígeno NS1;
- E a partir do sexto dia do início dos sintomas colheram novas amostras que foram encaminhadas ao CLR VI IAL para realização do ELISA IgM.

A estratégia de diagnóstico por pesquisa do antígeno NS1 foi utilizada nos anos de 2009 a 2012, apresentando uma alta sensibilidade. Porém, o ano de 2013 apresentou comportamento diferente, o número de suspeitos de dengue estava em ascensão, enquanto a positividade do ELISA NS1 permanecia baixa.

A parceria junto ao Laboratório de Virologia da FMRP-USP permitiu analisar através de PCR os sorotipos do vírus predominante: 80% dos identificados eram sorotipo DENV-4 e os demais 20%, DENV-1.

De janeiro a abril de 2013, foram realizados 10.014 exames de ELISA NS1 no LMRP, dos quais 8.440 foram não reagentes. No mesmo período, foram realizados 2.334 ELISA IgM no CLR VI – IAL. A análise dos registros permitiu identificar 342 pacientes não reagentes ao teste NS1 do LMRP que colheram uma segunda amostra. Destes, 75 % (256/342) foram reagentes na pesquisa de IgM.

Analisando estes resultados, observa-se uma queda significativa na sensibilidade do ELISA NS1, que pode estar relacionada à predominância do sorotipo DENV-4 no mesmo

período. Há a necessidade de investigar as características estruturais da proteína NS1 entre os diferentes sorotipos para esclarecer a razão da variação de sensibilidade observada no teste de ELISA.

A recomendação mais recente é do “Plano de vigilância, prevenção e controle da dengue”⁷ que indica que casos clínicos com exame NS1 não reagente realizem uma nova coleta após o 6º dia de início dos sintomas para pesquisa de IgM antes de declarar o caso encerrado.

REFERENCIAS

1. Hino, P; Santos, CC; Santos, MO et al. Evolução temporal da dengue no município de Ribeirão Preto, São Paulo, 1994 a 2003. *Ciência & Saúde Coletiva*. 2010; 15(1):233-238.
2. Penna, MLF. Um desafio para a saúde pública brasileira: o controle do dengue. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro. 2003; 19(1):305-309.
3. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Doenças infecciosas e parasitárias: guia de bolso. – 7. ed. rev. – Brasília:Ministério da Saúde, 2008.
4. Silva, FG; Silva, SJS; Rocco, IM et al. Avaliação de kits comerciais para detecção de antígenos NS1-dengue – São Paulo. *BEPA* 2011; 8(91):14-26.
5. Ministério da Saúde, Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Diretrizes nacionais para prevenção e controle de epidemias de dengue / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica – Brasília: Ministério da Saúde, 2009.
6. Shu, PY; Yang, CF; Kao, JF 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;16:589-91.
7. Grupo Executivo da Dengue do Estado de São Paulo. PLANO DE VIGILÂNCIA, PREVENÇÃO E CONTROLE DA DENGUE DO ESTADO DE SÃO PAULO: 2014-2015 – São Paulo: Governo do Estado de São Paulo, 2014.