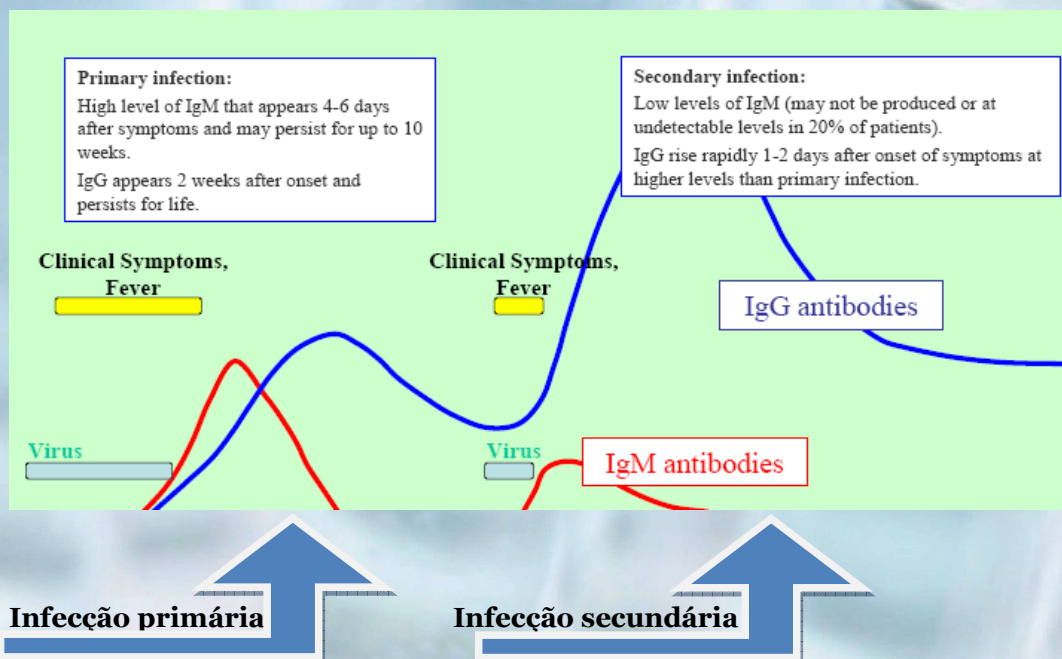


Dengue NS1 Antígeno: Uma Nova Abordagem Diagnóstica

Dengue é uma doença endêmica que afeta mais de 100 países, incluindo as regiões de clima tropical e subtropical da África, Américas, Leste do Mediterrâneo, Sudeste da Ásia e Oeste do Pacífico. A Organização Mundial de Saúde estima que cerca de 50 a 100 milhões de novos casos de infecção pelo vírus da dengue ocorrem pelo mundo todo ano, resultando em 250.000 a 500.000 casos de dengue hemorrágica, perfazendo um total de 25.000 mortes anuais.

O vírus da dengue pertence ao gênero dos Flavivírus, e possui um envelope com material genético constituído de RNA, cujo genoma é composto de três genes de proteínas estruturais que codificam o nucleocapsídeo ou proteína do núcleo, e sete genes de proteínas não-estruturais (NS). Dentre as proteínas da região não-estrutural, a NS1 é uma glicoproteína essencial à replicação do vírus. Durante a fase aguda da infecção pelo vírus da dengue, a NS1 é encontrada circulando no soro de pacientes em concentrações detectáveis por métodos imunoenzimáticos. Portanto uma nova alternativa diagnóstica surge no mercado com a finalidade de detectar a infecção pelo vírus da dengue antes do aparecimento dos anticorpos da classe IgM/IgG, que é o princípio diagnóstico da maioria dos testes.

A resposta imune contra o ataque pelo vírus da dengue se dá na infecção primária, pelo aparecimento de altos níveis de anticorpos da classe IgM entre o quarto e sexto dia após o início dos sintomas, com aparecimento posterior de anticorpos da classe IgG. Na infecção secundária, ocorre um discreto ou nenhum aumento de anticorpos da classe IgM, enquanto que os níveis de IgG aumentam rapidamente entre o primeiro e segundo dia de sintomatologia, com um nível maior que na infecção primária.

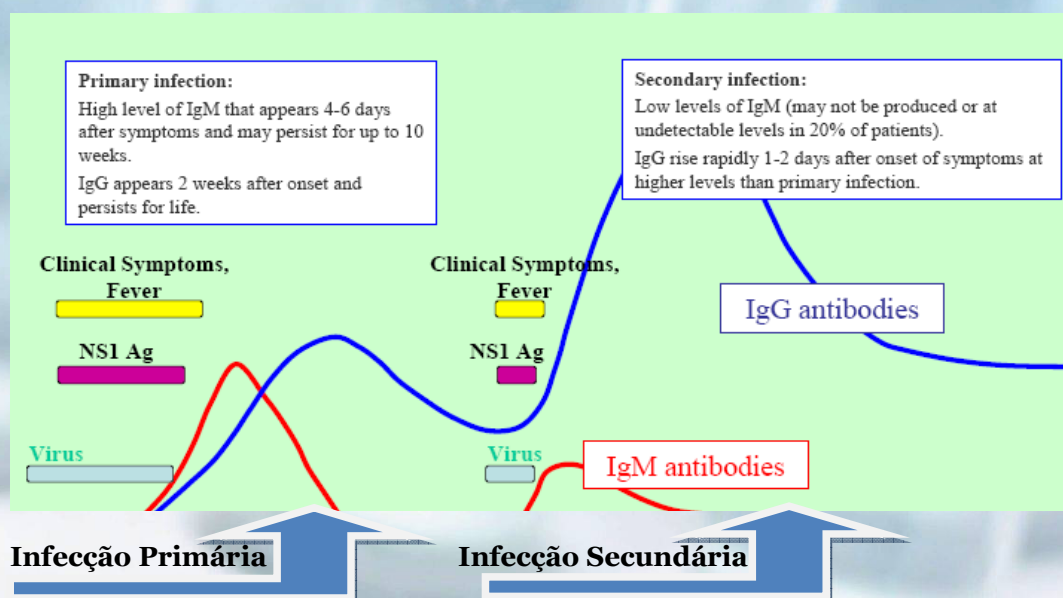


Diante deste quadro alguns desafios diagnósticos ficam evidentes. Abaixo segue um comparativo entre os testes tradicionais de detecção de anticorpos classe IgG/IgM e os testes de biologia molecular por PCR, considerado o padrão de referência diagnóstico.

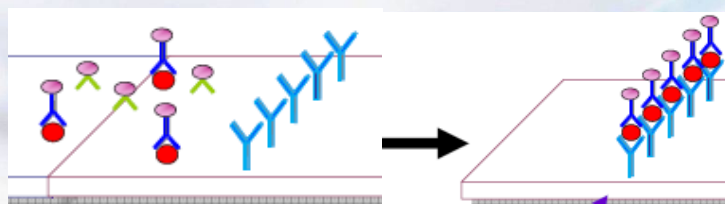
Sorologia IgG/IgM	Biologia Molecular RT-PCR
Aparecimento tardio dos anticorpos após os sintomas clínicos (4 – 6 dias)	Teste muito caro para ser utilizado como rotina diagnóstica
Alta possibilidade de resultados falso-negativos no início da doença	Necessita de condições técnicas e de ambiente de trabalho especiais para evitar os interferentes do método (contaminações)
Presença de anticorpos de classe IgM persistente após infecção primária, podendo apresentar resultados falso-positivos por alguns meses após a doença	Técnica demorada para a necessidade de obtenção de um rápido resultado
Apresenta baixa especificidade diagnóstica, podendo apresentar reação cruzada com outros flavivírus	Utilizado somente por laboratórios especializados

Diante das limitações dos métodos acima surge a necessidade da realização de um diagnóstico que possibilite uma confirmação precoce da infecção pelo vírus da dengue logo após o início dos sintomas, e que este teste seja de fácil e rápida realização, apresentando alta sensibilidade e especificidade diagnóstica.

O teste de detecção do antígeno NS1 do vírus da dengue apresenta uma excelente correlação com a replicação viral e permite uma detecção mais precoce do vírus (24 horas após o início dos sintomas), além de ser encontrado nas infecções primárias e secundárias, o que pode ser observado no gráfico abaixo:



Este teste, consiste na detecção do Antígeno NS1 da região não-estrutural do vírus da dengue por um ensaio imunoenzimático (EIA), através da utilização de um anticorpo Anti-NS1 na fase sólida que se ligará ao antígeno NS1 presente na amostra de soro do paciente infectado. A figura abaixo ilustra a seqüência de reação.



Conjugado marcado com Anti-NS1



Antígeno NS1 presente na amostra do paciente



Fase sólida contendo Anticorpo Anti-NS1

Este teste de detecção do antígeno NS1 apresenta altas sensibilidade e especificidade diagnósticas conforme descrição abaixo:

Alta sensibilidade na detecção precoce

100% de detecção em infecções primárias
86% de detecção em infecções secundárias

Alta especificidade diagnóstica

100% de especificidade (não apresenta reação cruzada com outros Flavivírus)

Capacidade de detecção dos 4 sorotipos do vírus da dengue

Com a mesma sensibilidade e especificidade diagnóstica

Ensaio de fácil realização

Controle de visualização da reação
Resultados confiáveis
Excelente reprodutibilidade

Estudos comparativos demonstram excelente correlação entre o teste de antígeno NS1 e o teste de biologia molecular RT-PCR na detecção dos 4 sorotipos do vírus da dengue após 24 horas do início dos sintomas.

Dengue Sorotipo	Número de amostras testadas por RT-PCR	Número de testes positivos com teste Antígeno NS1	Sensibilidade %
DEN-1	42	38	90,5
DEN-2	42	37	88,1
DEN-3	107	94	87,9
DEN-4	48	43	89,6
Todos os Sorotipos	239	212	88,7

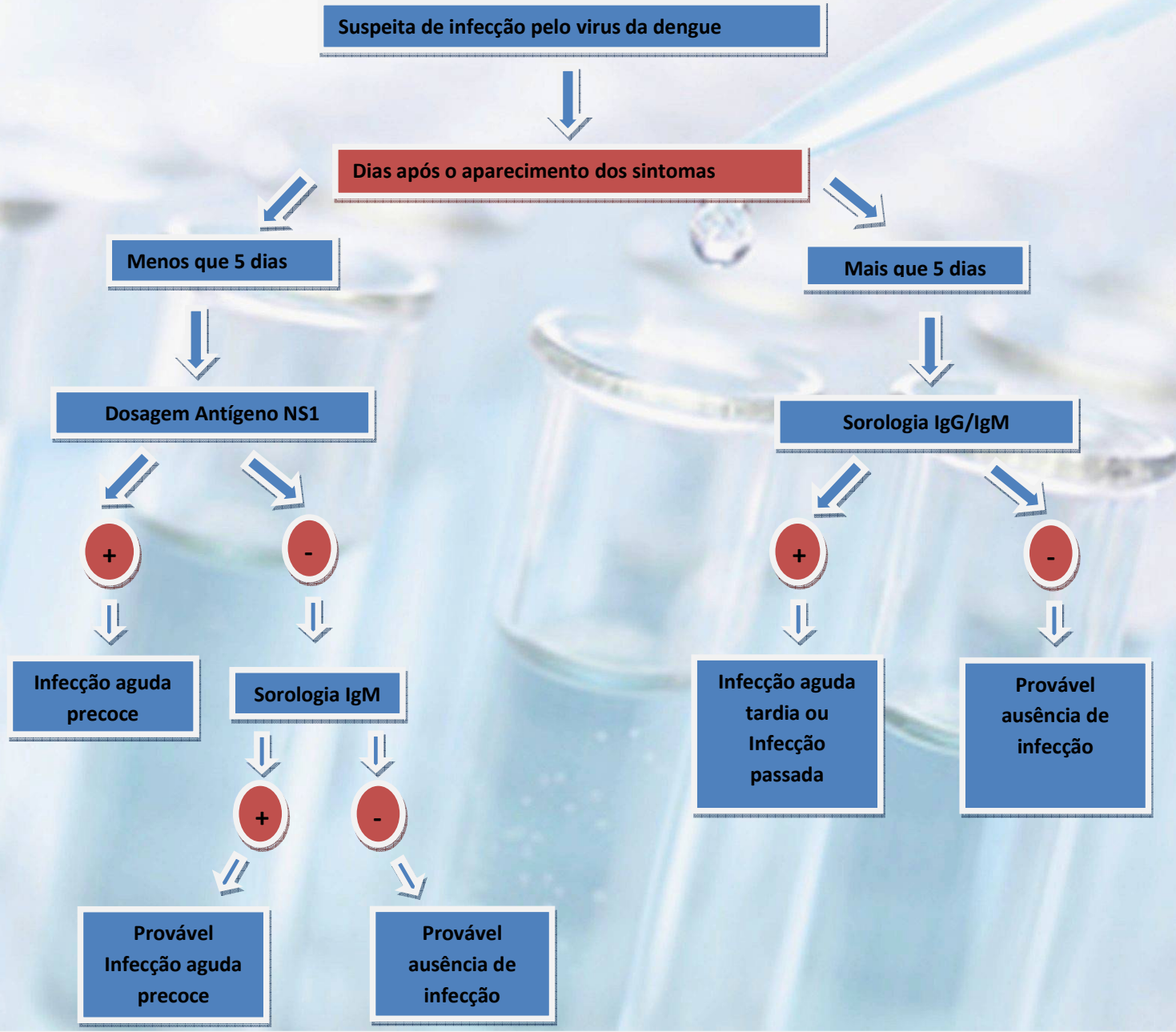
A especificidade diagnóstica se confirma quando o teste de Antígeno NS1 é testado em pacientes não portadores do vírus da dengue na seguinte situação:

Painel Sorológico	Resultados Negativos	Resultados Positivos	Especificidade
Doadores de sangue (203)	203	0	100% (203/203)
Pacientes com febre sem dengue (50)	50	0	100% (50/50)
Total (253)	253	0	100% (253/253)

Uma detecção precoce do antígeno NS1 do vírus da dengue permite ao médico assistente:

- ✓ A confirmação do diagnóstico de dengue sem reações cruzadas com outros Flavivírus (100% de especificidade);
- ✓ Um diagnóstico rápido e diferencial diante de outras doenças que apresentam quadros febris no paciente;
- ✓ Um início rápido do tratamento do paciente;
- ✓ A diminuição da mortalidade devido a complicações da doença.

Segue abaixo algoritmo para o diagnóstico da dengue:



|.....Diagnóstico Recente.....|.....Diagnóstico Tardio.....|