AVALIAÇÃO DA POSITIVIDADE DA PROTEÍNA NS1 POR TESTE RÁPIDO EM DIFERENTES SOROTIPOS DO VÍRUS DA DENGUE

Gabriela Aya Missawa (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Aline Ávila Brustolin, Luciana Dias Ghiraldi Lopes (Orientador). E-mail: ldglopes@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Medicina, Clínica Médica.

Palavras-chave: Dengue; NS1; RT-PCR.

RESUMO

A dengue é uma arbovirose de ampla distribuição, cujo diagnóstico laboratorial é fundamental devido à inespecificidade das manifestações clínicas. Entre os métodos diretos, destaca-se a detecção da proteína NS1, cuja sensibilidade pode variar conforme o momento da coleta e a quantidade de vírus circulante. Este estudo teve como objetivo avaliar a positividade de NS1 em amostras previamente positivas para DENV por RT-PCR, comparando os sorotipos DENV-1, DENV-2 e DENV-3 e diferentes níveis de viremia. Foi realizado estudo transversal, analítico e retrospectivo, utilizando 75 amostras da soroteca do Laboratório de Virologia Clínica da Universidade Estadual de Maringá, coletadas em 2025 e distribuídas igualmente entre os três sorotipos. As amostras foram submetidas ao teste imunocromatográfico Dengue Duo Bioline e os dados analisados no software R, considerando nível de significância de 5%. A positividade para NS1 foi de 53% (40/75), com Ct médio de 27,8 (DP = 5,9). Não foram observadas diferenças significativas na positividade de NS1 entre DENV-1 (48%), DENV-2 (52%) e DENV-3 (60%; p = 0,7). Entretanto, a positividade foi significativamente maior nas amostras com Ct ≤ 30 (76%) em comparação àquelas com Ct > 30 (36%; p < 0,001), sendo observada menor chance de detecção de NS1 em amostras com Ct > 30 (OR = 0,18; IC95%: 0,06–0,47). Conclui-se que a maior quantidade de RNA viral esteve associada à maior detecção de NS1, enquanto o sorotipo não apresentou influência significativa. Os achados

reforçam a importância do momento da coleta para o desempenho diagnóstico do NS1 e evidenciam suas limitações quando comparado ao RT-PCR.

INTRODUÇÃO

A Dengue é uma arbovirose causada pela infecção do vírus da Dengue (DENV), o qual possui quatro sorotipos circulantes (DENV 1-4). A transmissão ocorre pela picada de mosquitos do gênero *Aedes*, gerando um quadro sistêmico, de febre aguda e de amplo espectro clínico, podendo variar desde quadros assintomáticos a quadros graves e com risco de óbito. Uma vez que os sintomas da patologia são inespecíficos, torna-se essencial a confirmação laboratorial para diagnóstico acurado e possibilidade de manejo precoce. Dentre os métodos diagnósticos laboratoriais, existem os testes diretos (isolamento viral, RT-PCR e detecção da proteína NS1), os quais devem ser realizados até o 5º dia de sintomas; e os testes indiretos (detecção de IgM e IgG), os quais podem ser realizados a partir do 6º dia de sintomas.
Como objetivo, o presente estudo pretendeu analisar a positividade da proteína NS1 em amostras previamente positivas para o vírus da Dengue por biologia molecular (RT-PCR), comparando resultados entre os sorotipos circulantes (DENV-1, DENV-2 e DENV-3) em amostras de diferentes padrões de viremia, tempo de coleta após o início dos sintomas e sorotipo de DENV.

MATERIAIS E MÉTODOS

Estudo transversal analítico observacional retrospectivo de base laboratorial com amostras provenientes da soroteca do Laboratório de Virologia Clínica da Universidade Estadual de Maringá. Foram utilizadas amostras com diagnóstico prévio de infecção por DENV pelo vírus da Dengue confirmados por RT-PCR (Kit IBMP Biomol ZDC-Zika, Dengue e Chikungunya (Instituto de Biologia Molecular do Paraná – IBMP, Curitiba, Paraná Brasil), do ano de 2025.

Teste imunocromatográfico para Dengue
Foram submetidos ao teste imunocromatográfico para Dengue 75 amostras distribuídas de maneira igualitária entre os diferentes sorotipos circulantes (25 de DENV-1, 25 de DENV-2 e 25 de DENV-3). Essas amostras foram submetidas ao teste imunocromatográfico Dengue Duo Bioline (Abbott), seguindo as instruções do fabricante. Resumidamente, 100 µL de plasma foram pipetados no poço indicado da amostra “S” (Dengue NS1 Ag), 10 µL de plasma foram pipetados no poço quadrado seguido de 4 gotas do diluente de ensaio no poço com forma redonda. Os resultados foram interpretados ao fim de 15 a 20 minutos.

Análise de dados
Utilizou-se amostragem não probabilística por conveniência, com estratificação intencional por sorotipo viral e cotas iguais de DENV-1, DENV-2 e DENV-3. Foram

calculadas as taxas de positividade de NS1 e realizadas comparações entre sorotipos pelo teste do qui-quadrado, adotando-se significância de 5%. Os desfechos NS1, IgM e IgG foram tratados como variáveis binárias, tendo DENV-3 como categoria de referência nos modelos de regressão logística. Variáveis contínuas foram descritas por média e desvio-padrão ou mediana e intervalo interquartil, e as categóricas por frequências absolutas e relativas. Comparações entre grupos utilizaram os testes do qui-quadrado, exato de Fisher ou Wilcoxon. As estimativas foram apresentadas como odds ratios (OR) e IC95%. As análises foram realizadas no R.

Aprovação ética
Este trabalho foi aprovado pelo Comitê Permanente de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (COPEP-UEM), sob o parecer número 7.799.654.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise das 75 amostras positivas para DENV por RT-PCR revelou positividade para NS1 em 53% (40/75). O Ct médio foi de 27,8 (DP = 5,9), com 44% das amostras apresentando Ct ≤ 30. As coletas ocorreram entre 2 e 8 dias após o início dos sintomas, predominantemente no quinto dia (37%). Não foram observadas diferenças significativas entre os sorotipos quanto ao Ct, positividade para NS1, detecção de IgM ou IgG.

Quanto aos sorotipos, o DENV-3 apresentou maior positividade para NS1 (60%), seguido por DENV-2 (52%) e DENV-1 (48%), sem diferença significativa (p = 0,7). A regressão logística, ajustada pelos dias até a coleta, também não demonstrou associação entre sorotipo ou tempo de sintomas e a positividade para NS1. A ausência de diferenças pode estar relacionada a outros fatores, como viremia, momento da coleta e estado imunológico, além do reduzido número de amostras por grupo. Em relação à viremia, a positividade para NS1 foi significativamente maior em amostras com Ct ≤ 30 (76%) do que naquelas com Ct > 30 (36%; p < 0,001). Amostras com Ct > 30 apresentaram menor chance de positividade para NS1 (OR = 0,18; IC95%: 0,06–0,47), corroborando a associação entre maior quantidade de RNA viral e maior detectabilidade da proteína durante a fase aguda da infecção (Tabela 1).

Tabela 1. Associação entre CT e positividade de NS1

Características	OR	IC95%	P-Valor
CT (Dicotômico)			
CT menor ou igual a 30	—	—	
CT maior que 30	0.18	0.06, 0.47	<0.001

Quanto aos sorotipos, não houve diferença significativa na positividade para NS1, variando de 48% no DENV-1 a 60% no DENV-3. A regressão logística também não identificou associação entre sorotipo ou tempo de sintomas e a positividade para NS1. Por outro lado, a positividade para NS1 foi significativamente maior nas amostras com Ct ≤ 30 (76%) do que naquelas com Ct > 30 (36%; p < 0,001), indicando associação entre maior quantidade de RNA viral e maior detectabilidade da proteína NS1.

CONCLUSÕES

Os resultados demonstraram associação entre maior quantidade de RNA viral (Ct ≤ 30) e maior positividade para NS1, sem diferenças significativas entre os sorotipos. A detecção de NS1 foi influenciada pelo momento da coleta e apresentou associação inversa com IgG, sugerindo influência da resposta imunológica. Além disso, foram observadas limitações na sensibilidade do NS1 em relação ao RT-PCR, com 12% das amostras negativas para NS1, IgM e IgG.

AGRADECIMENTOS

À Fundação Araucária pelo apoio financeiro, fundamental para a realização deste trabalho e à minha orientadora, também imprescindível.

REFERÊNCIAS

BERTOLINI, D. A.; LOPES, L. D. G.; SATO, L. S. Important considerations regarding the laboratory diagnosis of dengue. RBAC, v. 57, n. 1, p. 19-27, 2025. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/391230790_Important_considerations_regarding_the_laboratory_diagnosis_of_dengue. Acesso em: 29 maio 2025

HERMANN, L. L. et al. Evaluation of a Dengue NS1 Antigen Detection Assay Sensitivity and Specificity for the Diagnosis of Acute Dengue Virus Infection. PLoS Neglected Tropical Diseases, v. 8, n. 10, e3193, 2014. Disponível em: https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0003193. Acesso em: 29 maio 2025.