

Avaliação da acurácia de testes diagnósticos sorológicos para o vírus Zika: uma síntese de evidências

Evaluation of the accuracy of diagnostic serological tests for the Zika virus: an evidence synthesis

Mariana Pastorello Verotti¹
Flávia Maura Chagas Moreira de Lima Coelho²
Erika Barbosa Camargo³
Claudio Maierovitch P. Henriques⁴
Luciana Guerra Gallo⁵
Flavia Tavares Silva Elias⁶
Daniel Savignon Marinho⁷

¹Fundação Oswaldo Cruz/Brasília

²Hospital Santa Luzia/Brasília

³Fundação Oswaldo Cruz/Brasília

⁴Fundação Oswaldo Cruz/Brasília

⁵Universidade de Brasília, Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical

⁶Fundação Oswaldo Cruz/Brasília

⁷Rede de Plataformas Tecnológicas da Fundação Oswaldo Cruz/Rio de Janeiro (PDTIS/FIOCRUZ/RJ)

Correspondência

Mariana Pastorello Verotti
mariana.verotti@fiocruz.br

Flávia Maura Chagas Moreira de Lima Coelho
flaviamaura7@hotmail.com

Erika Barbosa Camargo
erika.barbosacamargo@gmail.com

Claudio Maierovitch P. Henriques
claudio.henriques@fiocruz.br

Luciana Guerra Gallo
lucianaggallo@gmail.com

Flavia Tavares Silva Elias
flavia.elias@fiocruz.br

Daniel Savignon Marinho
danielsavignomarinho@gmail.com

RESUMO

Objetivo: Avaliar acurácia de testes sorológicos para diagnóstico de Zika.

Método: Utilizadas as bases: Embase, Cochrane, Pubmed e Portal de Evidências da BVS. Critérios de inclusão consideraram intervenção, indicação e desenho do estudo. Na avaliação de qualidade de evidências aplicou-se a classificação de QUADAS II.

Resultados: Seleccionados 3 artigos que referem à avaliação e acurácia de testes IgM e IgG, comparado com o método de biologia molecular RT-PCR e o PRNT como padrão ouro.

Conclusão: Dadas as características e velocidade de propagação da doença, testes diagnósticos acessíveis, precisos e de baixo custo são ferramentas essenciais para o trabalho de atenção e vigilância.

Palavras-chave: Zika virus; Infecção; Diagnóstico; Teste imunológico; Técnicas laboratoriais; RT-qPCR.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the accuracy of serological tests for the diagnosis of Zika.

Method: The databases used were: Embase, Cochrane, Pubmed and the VHL Evidence Portal. Inclusion criteria considered intervention, indication and study design. In assessing the quality of evidence, the QUADAS II classification was applied.

Results: 3 articles selected that refer to the evaluation and accuracy of IgM and IgG tests, compared with the RT-PCR molecular biology method and PRNT as the gold standard.

Conclusion: Given the characteristics and speed of spread of the disease, accessible, accurate and low-cost diagnostic tests are essential tools for attention and surveillance work.

Keywords: Zika Virus; infection; diagnosis; immunological test; Laboratory techniques, RT-qPCR.

INTRODUÇÃO

O vírus Zika é um membro da família Flaviviridae, gênero Flavivirus, que foi originalmente descoberto em 1947 em Uganda¹. Durante várias décadas, o vírus Zika parecia estar geograficamente restrito à África equatorial, com algumas incursões documentadas na Ásia²⁻³. Embora vários estudos tenham demonstrado evidência sorológica de exposição humana ao vírus Zika em toda a África, acreditava-se que este vírus não era um grande ameaça à saúde pública.

Contudo, em 2007, o potencial epidêmico do vírus Zika tornou-se aparente quando foi identificado como o agente causador de um surto em Yap State, Estados Federados da Micronésia, onde houve 49 casos confirmados, 59 infecções prováveis e dezenas de casos suspeitos⁴⁻⁵. Desde 2007, várias epidemias ocorreram em toda a Região do Oceano Pacífico, incluindo um grande surto em 2013 na Polinésia Francesa⁶.

Os primeiros casos de infecção por Zika com etiologia definida em laboratório no Brasil foram identificados em 29 de abril de 2015 por pesquisadores da Universidade Federal da Bahia (UFBA), em 9 de maio de 2015 pela Fiocruz/PR e em 20 de maio de 2015 pelo Instituto Adolfo Lutz/SP, por meio de técnica de RTq-PCR. Os resultados foram confirmados pelo laboratório de referência nacional, Instituto Evandro Chagas/SVS/MS. Posteriormente, houve registro de circulação do vírus Zika nas 27 Unidades Federadas do Brasil. Foram confirmados 211.770 casos da Semana Epidemiológica (SE) 1 a SE 49/2016, mostrando uma capacidade de dispersão impressionante, somente observada para outro arbovírus durante a dispersão do chikungunya nas Américas⁷.

O quadro clínico de Zika tem semelhanças com o de dengue, de chikungunya e mesmo de febre amarela, síndromes febris transmitidas pelo *A. aegypti*. A febre, nas quatro doenças, pode ser

acompanhada por outros sintomas gerais, tais como cefaleia, exantema, mal-estar, edema e dores articulares, por vezes intensas. Ademais, essas arboviroses podem desencadear complicações neurológicas e autoimunes, conforme os dados epidemiológicos evidenciaram na Polinésia Francesa durante uma epidemia em 2013⁸.

As manifestações clínicas da infecção por arbovírus podem variar de pessoa a pessoa. Os sintomas comumente observados estão associados à doença febril, ocorrendo variações do quadro patogênico e clínico, como artralgia, erupções cutâneas, síndrome hemorrágica e síndrome neurológica⁹.

Os testes de diagnóstico para a infecção pelo vírus Zika podem ser realizados usando métodos moleculares ou sorológicos, o problema destes últimos é a possibilidade de resultados falsos positivos em pessoas com anticorpos contra dengue, levando ao sobre diagnóstico da infecção pelo vírus Zika^{5,10}.

O diagnóstico laboratorial específico de Zika baseia-se, principalmente, na detecção de RNA viral a partir de espécimes clínicos. O período virêmico não está totalmente estabelecido, mas acredita-se que seja curto, o que permitiria, em tese, a detecção direta do vírus em soro até 4 -7 dias após o início dos sintomas, sendo, entretanto, ideal que o material a ser examinado seja colhido até o 4º dia¹¹. Os ácidos nucleicos do vírus foram detectados em sangue humano entre 1 e 11 dias após o início dos sintomas, e o vírus foi isolado em sangue de primata não humano até 9 dias após inoculação experimental¹²⁻¹³.

Em estudo conduzido em Singapura e na Indonésia, utilizando RTq-PCR, não se verificaram reações cruzadas entre o vírus Zika e outros agentes que apresentam doença febril exantemática em amostras testadas para vírus da dengue 1-4, encefalite japonesa, febre amarela, hepatite B e C,

febre do chikungunya, Ross River, citomegalovírus, Epstein-Barr, varicela zóster, herpes simplex 1, herpes-vírus B19, adenovírus e subtipos de enterovírus humanos, incluindo enterovírus humano 71, echovírus 6, poliovírus Sabin tipo 1, 2, e 3, e os coxsackievírus A10 e B4¹².

No Brasil, o exame para confirmação de Zika é a reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa em tempo real (RTq-PCR), realizada em laboratórios de referência da rede do Sistema Único de Saúde (SUS)¹¹.

O principal objetivo deste estudo foi realizar uma revisão sobre os testes de diagnóstico sorológicos de infecção pelo vírus Zika, para encontrar as evidências sobre a acurácia de um teste: sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo, (VPP), valor preditivo negativo (VPN)¹⁴.

MÉTODO

Estratégia de Busca

Foi realizada revisão da literatura para construção de uma síntese de evidências incluindo estudos de acurácia diagnóstica avaliando testes sorológicos para detecção de anticorpos IgM e IgG para Zika, por teste *in house* ou por teste comercial registrado na Anvisa, comparados com teste por neutralização de redução de placas (PRNT) – realizado *in house* - e/ou pela metodologia de biologia molecular em tempo real pela técnica de (RTq-PCR) - realizado *in house*- em populações expostas ao vírus.

Os estudos foram identificados por meio de busca nas bases de dados EMBASE, Cochrane, PubMed e BVS. Foram utilizadas como palavras-chave “Zika Virus”, “Zika Virus Infection”, “NS1 protein, zika virus”, “Diagnosis” “Immunologic Tests”, “Clinical Laboratory Techniques”, “Diagnostic Tests, Routine” e “Diagnostic Test Approval”. As buscas foram conduzidas entre os dias 6 e 8 de novembro de 2017. Não houve restrição de busca por ano de condução do estudo, tipo de estudo, tempo de seguimento da população, ou idioma de publicação – embora a busca tenha sido realizada apenas com as palavras-chave em inglês.

Critérios de seleção

Foram considerados critérios de inclusão: artigo científico completo, publicado em periódico

revisado por pares que incluísse população com suspeita de Zika, utilizasse teste sorológico IgM e IgG para Zika, acrescido do teste PRNT ou RTq-PCR e informasse a acurácia dos testes. Foram incluídos estudos de acurácia de testes diagnósticos, revisão sistemática e estudos de coorte.

Foram excluídos estudos com populações sem suspeita de Zika, sem dados de diagnóstico laboratorial para Zika, teste de ácido nucléico (NAT), resultados completos ausentes e outros métodos epidemiológicos de menor nível de evidência.

Extração, avaliação da qualidade e análise de dados

A busca teve como objetivo extrair dados de acurácia, para tanto, utilizou-se ficha de coleta de dados padronizada, contendo, entre outras, as seguintes variáveis: identificação do estudo (autor, ano e título), tipo de estudo, população incluída, objetivo do estudo, números de casos verdadeiros positivos, falsos positivos, falsos negativos e verdadeiros negativos.

Para avaliar a qualidade e risco de vieses dos estudos incluídos, foi utilizada a ferramenta QUADAS-2 (*Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies*), da Universidade de Bristol¹⁵⁻¹⁶.

As informações foram extraídas em duplicata, por revisores independentes e cegos entre si. Discordâncias e discrepâncias entre os resultados foram resolvidas por consenso. A síntese dos dados extraídos de cada estudo foi apresentada em quadros, figuras e descritivamente. Os dados de sensibilidade e especificidade foram combinados e apresentados conjuntamente. As análises foram conduzidas com o apoio dos softwares RevMan® e Excel 2013®.

RESULTADOS

Foram encontradas 65 publicações, sendo 10 excluídas por duplicidade. Após análise de títulos e resumos, cinco foram selecionadas para leitura integral do texto e três atenderam critérios de qualidade metodológica: LHuillier et al. (2017)¹⁷, Safronetz et al. (2017)¹⁸ e Steinhagen et al. (2016)¹⁹ (Tabela 1).

Tabela 1

Caracterização dos estudos incluídos. Brasília-DF, 2018

AUTOR	ANO	TÍTULO	POPULAÇÃO ALVO	Teste Index	Teste de Referência
L'Huillier Arnaud G.	2017	Evaluation of Euroimmun Anti-Zika Virus IgM and IgG Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for Zika Virus Serologic Testing	213 pacientes (223 amostras de soro) submetidos ao laboratório do Canadá	Teste sorológico IgM e IgG	PRNT e RT-PCR
Safronetz, David	2017	Evaluation of 5 Commercially Available Zika Virus Immunoassays	75 pacientes viajantes canadenses para área endêmica de ZIKAV	Teste sorológico IgM e IgG	PRNT e RT-PCR
Steinhagen, Katja	2016	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	27 pacientes positivos para ZIKAV por PCR. Grupo I: viajantes para áreas endêmicas n=8 e Grupo II: residente em área endêmica n= 19.	Teste sorológico IgM e IgG	PRNT e RT-PCR

Os três estudos¹⁸⁻²⁰ envolveram uma população total de 315 pessoas e analisaram os testes de IgM e IgG de forma combinada, testando o kit comercial da Euroimmun®. O teste de IgM realizado de maneira separada foi avaliado nos estudos de Safronetz *et al.* (2017)¹⁸ (kits comerciais da Novatec®, Abcan® e Inbios®) e Steinhagen *et al.* (2016)¹⁹ (kit comercial da Euroimmun®). O teste de IgG realizado de maneira separada foi efetuado por Steinhagen (não informou a marca do teste avaliado)¹⁹. A análise dos estudos demonstrou uma heterogeneidade nos anticorpos mensurados. Ao comparar a sensibilidade destes testes, observou-se uma grande diferença nos valores de sensibilidade e especificidade como demonstrado nas figuras 1 e 2.

L'Huillier *et al.* (2017)²⁰ comparou os ensaios comerciais anti-ZIKV IgM e IgG, RTq-PCR com o PRNT atualmente em uso, e também com o MAC ELISA®. O estudo traz como população 347 amostras de soro, divididas em duas coortes. A coorte 1, com 223 amostras de 213 pacientes não analisa a sensibilidade e especificidade por tipo de teste. A coorte 2, com 124 amostras, analisa

especificamente o teste da Euroimmun® e aponta para uma sensibilidade de 92,3% (IC 95%: 82,1-100) e especificidade de 65% (IC 95% 50,2-79,8) (Figura 1).

O estudo de Safronetz *et al.* (2017)¹⁸ utilizou 75 amostras e como testes de referência o MAC ELISA®, o PRNT e o RTq-PCR, para comparar a sensibilidade e especificidade de quatro ensaios sorológicos para o ZIKV. Analisando o teste sorológico anti-ZIKV IgM e IgG, foi encontrada uma sensibilidade de 83% (IC 95%: 64-94) e especificidade de 100% (IC95%:83-100). Ao comparar com o PRNT, encontrou sensibilidade de 10% (IC 95%: 5-45,8) e especificidade de 100% (IC 95%:83.4-100) ao comparar com Rtq-PCR¹⁸.

O teste sorológico IgM não combinado da Novatec®, na análise de Safronetz *et al.* (2017)¹⁸, teve sensibilidade de 37% (IC 95%:20 -56) e especificidade de 64% (IC 95%: 43 - 81), comparando com PRNT e sensibilidade de 30% (IC 95%:8 - 64) e especificidade 76% (IC 95% 54 - 90) usando como teste de referência RTq-PCR¹⁸.

No mesmo estudo, analisando o teste sorológico IgM não combinado da Abcam®, comparado com PRNT, Safronetz *et al.* (2017)¹⁸ encontrou uma sensibilidade de 57% (IC 95% 38-74) e especificidade de 100% (IC 95% 83 -100). Usando como teste de referência RTq-PCR, o teste demonstrou sensibilidade de 10% (IC 95% 5 - 45,8) e especificidade de 100% (IC 95% 83 -100)¹⁸.

Quanto ao teste sorológico IgM não combinado da Imbios®, usando como teste de referência RTq-PCR, Safronetz demonstrou sensibilidade de 100% (IC 95% 86-100) e especificidade de 96% (IC 95% 78 -100) e ao comparar com PRNT, a sensibilidade foi de 60% (IC 95% 27- 86) e especificidade de 96% (IC 95% 78 -100)¹⁸. Steinhagen *et al.* (2016)¹⁹ analisou 27 indivíduos divididos em dois grupos, viajantes procedentes de áreas endêmicas para o vírus Zika (grupo 01, n=08) e residentes de áreas endêmicas para o vírus Zika (grupo 02, n= 19). Os testes de sensibilidade foram realizados em dois momentos, antes de completar seis dias do início dos sintomas e a partir dos seis dias completos, utilizando como padrão ouro o RTq-PCR¹⁹.

Quanto ao grupo 01, nos primeiros cinco dias do início dos sintomas, o teste sorológico IgM não combinado apresentou uma sensibilidade de 87,5% (IC 95%:50,8-99,9) e a partir do sexto dia, de 100% (IC 95%: 51,1 - 100). O teste sorológico IgG não combinado mostrou uma sensibilidade de 37,5% (IC 95% 3,5-69,6) nos primeiros cinco dias do início dos sintomas, e a partir do sexto dia, de 60% (IC 95% 22,9 – 88,4). A análise do teste sorológico IgG e IgM combinados nos primeiros cinco dias do início dos sintomas encontrou uma sensibilidade de 87,5% (IC 95% 50,8-99,9) e a partir do sexto dia, de 100% (IC 95% 51,1 – 100). A especificidade, ao utilizar amostras com alto potencial de reação cruzada, foi de 92,2% (IC 95% 97 - 100) para IgM e 96,6% (IC 95% 97,6 - 100) para teste de IgG. Ao utilizar amostras de indivíduos saudáveis esse indicador foi de 99,8% (IC 95% 99,2 - 100) nos testes de IgM e de IgG¹⁹.

Em relação ao grupo 02, o estudo analisou IgM e IgG combinado, IgM e IgG comercial da Euroimmun® anti-ZIKV, com a técnica de RTq-PCR. O teste IgG anti-ZIKV teve sensibilidade de 78,9% (15/19, IC (5% 56,1-92,1) e especificidade de 99,8% (1023/1025, IC 95% 99,2 - 100). O IgM anti-ZIKV trouxe sensibilidade de 31,6% (06/19, IC 95% 15,2-54,2) e especificidade de 99,8% (1023/1025, IC 95% 99,2 - 100). Na fase ativa e tardia da infecção por ZIKV ≥6 dias após o iní-

cio dos sintomas), a reatividade IgM anti-ZIKV foi observada em 58,8% (10/17 IC 95% 36,0-78,4) dos pacientes com PCR ZIKV positivo, enquanto a IgG anti-ZIKV era detectável em 88,2% (15/17 IC 95% 64,4-98,0). A sensibilidade combinada (IgM e/ou IgG) atingiu 100% (17/17 IC 95% 78,4-100,0) entre os casos confirmados por RTq-PCR (Figura 1 e Figura 2)¹⁹.

Steinhagen *et al.* (2016)¹⁹ avaliou ainda a especificidade dos testes utilizando 1.015 soros de pessoas saudáveis de diferentes países. Foram encontrados resultados anti-ZIKV IgM positivo em 1/99 (1,0%) de amostras argentinas e 1/500 (0,2%) de amostras alemãs provenientes de doadores de sangue, no entanto, nenhum resultado foi positivo para 100 mulheres grávidas e 88 crianças na Alemanha, 128 zimbabuenses e 100 doadores de sangue americanos. Nas coortes de zimbabuenses e argentinos doadores de sangue, mulheres grávidas e crianças alemãs, não houve reatividade para o anti-ZIKV IgG. O mesmo teste foi positivo em 1/100 (1,0%) das amostras americanas e 1/500 (0,2%) nas de doadores de sangue alemães (Figura 2)¹⁹.

DISCUSSÃO

Os três estudos de acurácia de testes diagnóstico para o Zika Virus (L'Huillier *et al.* (2017)²⁰; Safronetz *et al* (2017)¹⁸; Steinhagen *et al.* (2016)¹⁹ apontam para maiores valores de sensibilidade e especificidade em exames diagnósticos por IgM e IgG combinados em comparação aos testes IgM e IgG não combinados. A especificidade mostrou-se maior do que a sensibilidade em todos os estudos incluídos.

Todos os testes IgM, de diferentes marcas apresentaram oscilação de sensibilidade podendo chegar a 10%, ou seja, a capacidade do teste para identificar os indivíduos que possuem a doença (casos) é baixa. Safronetz *et al* (2017)¹⁸ encontrou baixa sensibilidade para os testes IgM das marcas Abcam® e Novatec®, quando comparados ao teste PRNT, o qual que caracteristicamente apresenta alta sensibilidade²¹. A falta de sensibilidade em testes diagnósticos afeta diretamente as estimativas do risco de uma doença²², podendo interferir nas atividades de vigilância em saúde.

No que concerne aos testes IgM e IgG testados da Euroimmun, a avaliação da sensibilidade variou entre os diferentes autores. Huiller *et al.* (2017)¹⁷ e Safronetz *et al.* (2017)¹⁸ encontraram valores

baixos na análise comparativa com PCR, enquanto Steinhagen *et al.* (2017)¹⁹ encontrou o oposto.

A sensibilidade pode ser influenciada pelo momento de realização do exame, como demonstrado no estudo de L'Huillier *et al.* (2017)²⁰, ao avaliar este indicador conforme o período entre o início dos sintomas e a coleta da amostra. Este estudo apresentou, em até três dias, sensibilidade de 30,3% para a presença de IgG, aumentando para 50%, quando o teste foi realizado entre o quinto e décimo dia de início dos sintomas. Deste modo, este estudo aponta para uma associação positiva entre o tempo de seguimento da doença e a sensibilidade do teste, pelo menos até o décimo dia de início dos sintomas. O momento de realização do teste é determinante na sensibilidade dos testes para diagnóstico de Zika, inclusive para a detecção da viremia pelo teste padrão ouro para diagnóstico²³ - RTq-PCR – cujo período ideal para detecção é de até quatro dias após a infecção²⁴.

Quanto à especificidade combinada (IgM/ IgG), em geral seus resultados são mais baixos que a especificidade de testes isolados de IgM. O estudo de L'Huillier *et al.* (2017)²⁰ apresenta valores de especificidade maior para indivíduos que viajaram para áreas endêmicas do que indivíduos que residiam em áreas endêmicas. É possível que o elevado valor encontrado nos estudos esteja associado à primo-exposição de indivíduos sem contato anterior com outros flavivírus. Deste modo, é importante que novos estudos analisando populações com diferentes exposições sejam realizados, para analisar populações com maior viabilidade de implantação do teste.

Em relação aos Valores Preditivos Positivos e Negativos (VPP0 e (VPN) respectivamente, pudemos observar que no estudo de L'Huillier *et al.* (2017)²⁰, a chance do indivíduo avaliado e com resultado positivo (VPP) ser realmente doente é de 38% para coorte 1 e 63% para a coorte 2, enquanto a probabilidade de um indivíduo avaliado e com resultado negativo (VPN) ser realmente normal é de 97% coorte 1 e 93% para a coorte 2. Enquanto no estudo de Safronetz *et al.* (2017)¹⁸, a chance do indivíduo avaliado e com resultado positivo (VPP) ser realmente doente foi evidenciado no kit de IgM da marca Abcam (VPP=100%) quando comparado com os outros kits, sendo que o kit da IgM e IgG Euroimmun teve um resultado de 50% e 4% de VPP respectivamente. Já a probabilidade de um indivíduo avaliado e com resultado negativo (VPN) ser realmente normal foi de 100% para o

IgM da marca Inbios. No estudo de Steinhagen *et al.* (2017)¹⁹ a chance do indivíduo avaliado e com resultado positivo (VPP) ser realmente doente foi evidenciado no kit Elisa IgM e IgG combinado com 85,19% no grupo 1 e 80,95% no grupo 2 quando comparado com os kits de IgM e IgG isolados. Quando se comparou o VPN, a probabilidade de um indivíduo avaliado e com resultado negativo (VPN) ser realmente normal foi de 99,61% para o grupo 1 e 100% para o grupo 2 quando comparado com os kits de IgM e IgG isolados.

Assim, embora alguns kits comerciais divulguem resultados altamente acurados, ao compararmos os estudos incluídos nessa revisão, percebemos que os valores de especificidade encontrados foram heterogêneos, tanto nos ensaios de IgM isolados como IgM e IgG combinados. Estes dados levantam questionamentos quanto à reprodutibilidade dos testes, característica importante para a implantação dos métodos na rotina dos serviços. Esta propriedade é especialmente relevante em cenários onde os testes sejam realizados por diferentes profissionais/laboratórios e regiões, pois é fundamental que os testes utilizados sejam confiáveis e reprodutíveis²⁵.

Neste sentido, o diagnóstico laboratorial oportuno é um fator desafiante por conta da baixa viremia e da reatividade cruzada com outros flavivírus²⁶. A limitação da sensibilidade encontrada nos imunoenaios comerciais para Zika, também evidenciada por outros autores⁵, pode afetar as triagens iniciais de caso, influenciando nas medidas de controle de uma infecção viral capaz de causar trágicos impactos na sociedade²⁷.

As consequências catastróficas associadas à infecção pelo Zika vírus, especialmente durante a gestação, permitem compreender a importância da acurácia dos testes utilizados para diagnóstico. Esta necessidade é maior nas populações expostas ao risco de infecção por outras arboviroses com sintomatologia semelhante, onde o erro diagnóstico, comum ao usar o critério clínico-epidemiológico, torna-se um problema tanto para os sistemas de vigilância e controle da doença, quanto para o manejo clínico do paciente²⁸. Estudo de revisão mostra um panorama de testes disponíveis, e por vezes concorrentes, para Zika, Chikungunha e Dengue e trançando os desafios para diagnóstico diferencial e tempestividade necessária para se prevenir as anomalias congênitas na gestação²⁹.

O Brasil convive com dengue há algumas décadas e há poucos anos sofreu a introdução do ví-

rus Chikungunya, seguida pelo Zika. A epidemia causada por este vírus na Região Nordeste, em 2015, não foi documentada em números, pois a circulação da doença foi intensa antes que se identificasse o agente causador e não havia rotina para notificação dos casos. Na ocasião, em várias localidades suspeitava-se que os casos fossem de dengue³⁰, o que chama ainda mais a atenção para a necessidade de testes com boa acurácia para o diagnóstico diferencial. A mesma intensidade de expansão não foi observada em todas as regiões do país, o que faz crer que a proporção de pessoas susceptíveis à infecção seja muito grande, embora ainda desconhecida.

Dentre as limitações deste estudo destaca-se que, como outras metanálises, está sujeita a falhas dos estudos primários incluídos na análise, como a variação de características das populações incluídas nos estudos primários. Assim, é importante ressaltar que as populações incluídas nos estudos primários foram heterogêneas, no entanto as proporções de expostos às regiões endêmicas foi baixa. Ainda assim, característi-

cas referentes à acurácia do teste não se alteram diferentemente dos valores preditivos, que são influenciados pela prevalência.

Adicionalmente, o número restrito de estudos que atenderam aos critérios de elegibilidade e, portanto, foram incluídos neste artigo limita a extrapolação destes resultados para outros testes diagnósticos realizados *in house*. Nesse sentido, outros estudos com amostras maiores e bem caracterizadas serão necessários para avaliar a acurácia diagnóstica destes e outros métodos diagnósticos.

Ressalta-se que a circulação persistente do vírus Zika vem sendo observada desde a sua introdução, sugerindo que seu comportamento permanecerá endêmico no país. Assim, há possibilidade de ocorrência de epidemias a depender de coincidências entre fatores climáticos, entomológicos e a circulação do vírus. Dadas as características e a velocidade possível de propagação, testes diagnósticos acessíveis, precisos e de baixo custo serão ferramentas essenciais para apoio ao trabalho de atenção e vigilância³¹.

REFERÊNCIAS

1. Dick GWA, Kitchen SF, Haddow AJ. Isolations and serological specificity. Transactions of the royal society of tropical medicine and hygiene. 1952;46(5). [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(52\)90042-4](https://doi.org/10.1016/0035-9203(52)90042-4)
2. Wikan N, Smith DR. Zika virus: History of a newly emerging arbovirus. The Lancet Infectious Diseases [Internet]. 2016;16(7):e119–26. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30010-X](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30010-X)
3. Weaver SC, Costa F, Garcia-Blanco MA, Ko AI, Ribeiro GS, Saade G, et al. Zika virus: History, emergence, biology, and prospects for control. Antiviral Research [Internet]. 2016;130:69–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2016.03.010>
4. Duffy MR, Chen TH, Hancock WT, Powers AM, Kool JL, Lanciotti RS, et al. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. New England Journal of Medicine. 2009;360(24):2536–43. <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa0805715>
5. 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. Emerging Infectious Diseases [Internet]. 2008;14(8):1232–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2600394/?tool=pubmed>
6. Cao-Lormeau, VM, Roche, C, Teissier, A, Robin, E, Berry, AL, Mallet H. Zika Virus, French Polynesia, South Pacific, 2013. Emerging Infectious Diseases. 2014;20(6):1085–6. <https://doi.org/10.3201/eid2006.140138>

7. Campos GS, Bandeira AC, Sardi SI. Zika Virus Outbreak, Bahia, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*. 2015;21(10):1885–6. <https://doi.org/10.3201/eid2110.150847>
8. Vasconcelos PF da C. Doença pelo vírus Zika: um novo problema emergente nas Américas? *Revista Pan-Amazônica de Saúde*. 2015;6(2):9–10. <http://dx.doi.org/10.5123/S2176-62232015000200001>
9. Roth A, Mercier A, Lepers C, Hoy D, Duituturaga S, Benyon E, et al. Concurrent outbreaks of dengue, chikungunya and zika virus infections – An unprecedented epidemic wave of mosquito-borne viruses in the Pacific 2012–2014. *Eurosurveillance*. 2014;19(41):1–8. <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES2014.19.41.20929?TRACK=RSS>
10. Landry ML, St George K. Laboratory diagnosis of zika virus infection. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine [Internet]*. 2017;141(1):60–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.5858/arpa.2016-0406-SA>
11. Secretaria de Vigilância em Saúde. Febre pelo vírus Zika: uma revisão narrativa sobre a doença. *Boletim Epidemiológico*. 2015;46(26):1–7. (<http://www.saude.gov.br/images/pdf/2015/agosto/26/2015-020-publica----o.pdf>)
12. Balm MND, Lee CK, Lee HK, Chiu L, Koay ESC, Tang JW. A Diagnostic Polymerase Chain Reaction Assay for Zika Virus. *Journal of Medical Virology*. 2012;84:1501–1505. <https://doi.org/10.1002/jmv.23241>
13. Sudre B, Danielsson N, Rakotoarivony LM, Bortel W Van, Zeller H, Jansa J. Zika virus infection outbreak, French Polynesia. *European Centre for Disease Prevention and Control, Stockholm*. 2014;(February). (<https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/media/en/publications/Publications/Zika-virus-French-Polynesia-rapid-risk-assessment.pdf>)
14. Celentano D, Szklo M. *Gordis Epidemiology*. 6th editio. 2018. 433 p. ISBN: 9780323552295.
15. Whiting P, Rutjes AWS, Reitsma JB, Bossuyt PMM, Kleijnen J. The development of QUADAS: a tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews. *BMC Medical Research Methodology* 2003;. 2003;3(25):1–13. <https://link.springer.com/article/10.1186/1471-2288-3-25>
16. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência T e IED de C e T. Diretrizes metodológicas : elaboração de pareceres técnico-científicos / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Ciência e Tecnologia. – 4. ed. Brasília : Ministério da Saúde, 2014. 2014. 80 p.
17. L’Huillier AG, Hamid-Allie A, Kristjanson E, Papa-georgiou L, Hung S, Wong CF, Stein DR, Olsha R, Goneau LW, Dimitrova K, Drebot M, Safronetz D, Gubbay JB. 2017. Evaluation of Euroimmun anti-Zika virus IgM and IgG enzyme-linked immunosorbent assays for Zika virus serologic testing. *J Clin Microbiol* 55:2462–2471. <https://doi.org/10.1128/JCM.00442-17>
18. Safronetz, D., Sloan, A., Stein, D. R., Mendoza, E., Barairo, N., Ranadheera, C., Scharikow, L., Holloway, K., Robinson, A., Traykova-Andonova, M., Makowski, K., Dimitrova, K., Giles, E., Hiebert, J., Mogk, R., Beddome, S., & Drebot, M. (2017). Evaluation of 5 Commercially Available Zika Virus Immunoassays. *Emerging infectious diseases*, 23(9), 1577–1580. <https://doi.org/10.3201/eid2309.162043>
19. Steinhagen K, Probst C, Radzimski C, Schmidt-Chanasit J, Emmerich P, van Esbroeck M, et al. 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 surveillance [Internet]*. 2016;21(50). Available from: <http://dx.doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.50.30426>
20. L’Huillier AG, Hamid-Allie A, Kristjanson E, Papa-georgiou L, Hung S, Wong CF, et al. Virus IgM and IgG Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for Zika Virus. *Journal of Clinical Microbiology*. 2017;55(8):2462–71. DOI: 10.1128/JCM.00442-17
21. ANS. Agência Nacional de Saúde Suplementar. VÍRUS ZIKA: DIAGNÓSTICO. GGRAS/DIPRO março - 2016;1–18. http://www.ans.gov.br/images/stories/Legislacao/camara_tecnica/2016_gt_viruszika/gt_viruszika_1_reuniao_apresentacaocosaude.pdf
22. Fischer C, Pedroso C, Mendrone Jr A, Maria Bispo de Filippis A, Carlos Rosário Vallinoto A, Moraes Ribeiro B, et al. External Quality Assessment for Zika Virus Molecular Diagnostic Testing, Brazil 888 *Emerging Infectious Diseases* • www DISPATCHES. 2018;24(5). Available from: <https://doi.org/10.3201/eid2405.171747>

- 23.23. Javanian M, Masrour-Roudsari J, Ebrahimipour S. Clinical diagnosis challenges in Zika virus infection. *Caspian journal of internal medicine* [Internet]. 2018 [cited 2019 Sep 10];9(4):416–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30510661>
24. 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. *Emerging Infectious Diseases*. 2008;14(8):1232–9. doi: 10.3201/eid1408.080287
25. Peters R, Stevenson M. Zika virus diagnosis: challenges and solutions. *Clinical Microbiology and Infection* [Internet]. 2019 Feb 1 [cited 2019 Sep 10];25(2):142–6. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1198743X18307742>
26. Waggoner JJ, Pinsky BA. Zika Virus: Diagnostics for an Emerging Pandemic Threat. *Journal of Clinical Microbiology* [Internet]. 2016 [cited 2019 Sep 10];54(4):860–7. Available from: <https://jcm.asm.org/content/jcm/54/4/860.full.pdf>
27. Programa das Nações Unidas para o Desenvolvimento PNUD, Federação Internacional das Sociedades da Cruz Vermelha e do Crescente Vermelho FRIC. Uma avaliação do impacto socioeconômico do vírus Zika na América Latina e Caribe: Brasil, Colômbia e Suriname como estudos de caso [Internet]. 1st ed. New York; 2017 [cited 2019 Sep 10]. 102 p. Available from: [https://www.undp.org/content/dam/rblac/docs/Research and Publications/HIV/UNDP-RBLAC-Zika-07-20-2017-Portuguese-WEB.pdf](https://www.undp.org/content/dam/rblac/docs/Research%20and%20Publications/HIV/UNDP-RBLAC-Zika-07-20-2017-Portuguese-WEB.pdf)
28. Braga U, Bressan C, Paula A, Dalvi R, Calvet A, Daumas RP, et al. Accuracy of Zika virus disease case definition during simultaneous Dengue and Chikungunya epidemics. 2017;2:1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179725>
29. Eppes C, Rac M, Dunn J, Versalovic J, Murray KO, Suter MA, et al. Testing for Zika virus infection in pregnancy: key concepts to deal with an emerging epidemic. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* [Internet]. 2017;216(3):209–25. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajog.2017.01.020>
30. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Vírus Zika no Brasil A resposta do SUS. Ministério da Saúde; 2017. 1–138 p. (https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/virus_zika_brasil_resposta_sus.pdf)
31. Zanotto PM de A, Leite LC de C. The Challenges Imposed by Dengue, Zika, and Chikungunya to Brazil. *Frontiers in immunology*. 2018;9(August):1964. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01964>