



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**

**CENTRO DE MEDICINA**

**DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA**

**NATÁLIA VASCONCELOS DE SOUZA**

**IDENTIFICAÇÃO DE DENGUE EM PACIENTES COM SÍNDROME FEBRIL  
AGUDA**

**FORTALEZA**

**2016**

**NATÁLIA VASCONCELOS DE SOUZA**

**IDENTIFICAÇÃO DE DENGUE EM PACIENTES COM SÍNDROME FEBRIL  
AGUDA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Patologia. Área de concentração: Patologia.

Orientadora: Profa. Dra. Danielle Malta Lima.  
Coorientador: Prof. Dr. Jeová Keny Baima Colares.

**FORTALEZA**

**2016**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca de Ciências da Saúde

- 
- S713i Souza, Natália Vasconcelos de.  
Identificação de dengue em pacientes com síndrome febril aguda / Natália Vasconcelos de Souza. – 2016.  
72 f. : il. color.
- Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Departamento de Patologia e Medicina Legal, Programa de Pós-Graduação em Patologia, Mestrado em Patologia, Fortaleza, 2016.  
Área de Concentração: Patologia.  
Orientação: Profa. Dra. Danielle Malta Lima.  
Coorientação: Prof. Dr. Jeová Keny Baima Colares.
1. Dengue. 2. Aedes. 3. Febre. 4. Ensaio de Imunoabsorção Enzimática. I. Título.

---

CDD 614.58852

**NATÁLIA VASCONCELOS DE SOUZA**

**IDENTIFICAÇÃO DE DENGUE EM PACIENTES COM SÍNDROME FEBRIL  
AGUDA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Patologia.

Aprovada em: \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Danielle Malta Lima (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dra. Maria Jânia Teixeira  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Maurício Fraga van Tilburg  
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

---

Prof. Dr. Francisco Jarbas Santos de Sousa  
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

A Deus. Aos meus queridos e amados pais e irmãos, pelo apoio irrestrito em todos os momentos de minha vida. E ao meu amado, que soube tão bem compreender os meus momentos de ausência em função deste trabalho.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força espiritual para desenvolver este trabalho.

À CAPES, pelo apoio financeiro com a manutenção da bolsa de auxílio, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico – CNPq pelo apoio financeiro.

Ao Curso de Pós Graduação em Patologia pela oportunidade.

À minha orientadora Profa. Dra. Danielle Malta Lima, pela excelente orientação, dedicação, apoio e estímulo para o desenvolvimento deste projeto e para meu crescimento pessoal.

Aos professores participantes da banca examinadora, doutora Maria Jânia Teixeira, doutor Maurício Fraga van Tilburg e doutor Francisco Jarbas Santos de Sousa pelo tempo dedicado ao meu trabalho, pelas valiosas colaborações e sugestões.

À Prof. doutora Maria Jânia Teixeira, pelo apoio e disponibilidade dos espaços físicos do Laboratório de Parasitologia do Departamento de Patologia e Medicina Legal - UFC.

Aos professores do Curso de Pós Graduação em Patologia, pelos valiosos ensinamentos.

Aos colegas da turma de mestrado, pelas reflexões, críticas e sugestões recebidas.

À Valéria e à Paula, secretárias da Coordenação do Curso em Pós Graduação em Patologia, pela paciência e colaboração em todas as fases burocráticas desta caminhada.

À Lucineide, técnica dos laboratórios do setor de parasitologia/DPML/UFC pelo imenso apoio e colaboração na manutenção do laboratório.

Ao Laboratório de Análises Clínicas do Núcleo de Atenção Médica Integral – NAMI, localizado na Universidade de Fortaleza UNIFOR.

À Universidade de Fortaleza – UNIFOR, pela disponibilidade estrutural para o desenvolvimento deste projeto.

Aos amigos Daniela, Raull, Iolanda, Lucas, Camila, André e Lana do Laboratório de Virologia da Universidade de Fortaleza – UNIFOR, que estiveram sempre ao meu lado apoiando e colaborando nos meus experimentos.

À Professora Clea Fragoso Vieira pelo apoio ortográfico no desenvolvimento deste trabalho.

Aos meus pais, Suzana e Silvério, pelo apoio, compreensão, ajuda e, em especial, por todo o carinho ao longo deste percurso.

Ao meu avô Francisco que, apesar de não estar mais entre nós, sempre acreditou no meu sucesso e ao meu Tio João Ricardo que sempre torceu e contribuiu com este sonho.

Aos meus irmãos Marília, Mariene, Mateus e Mariana pela paciência, compreensão e ajuda.

Ao meu marido Jalyson, que me apoiou e colaborou nos momentos mais difíceis desta caminhada.

“A maior recompensa para o trabalho do homem não é o que ele ganha com isso, mas o que ele se torna com isso” John Ruskin



## RESUMO

A dengue é considerada a mais importante arbovirose transmitida aos seres humanos. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), calcula-se que entre 50 a 100 milhões de pessoas infectadas surjam anualmente em mais de 100 países. Em média 550 mil doentes necessitam de hospitalização e 20 mil morrem devido à doença. Contudo, a maioria dos casos são assintomáticos, podendo gerar a não procura por atendimento médico e, como consequência, a subestimação dos casos da doença. O presente estudo teve por objetivo identificar os principais sintomas apresentados pelos participantes com suspeita clínica de dengue, atendidos em instituições de atenção primária e terciária localizadas no município de Fortaleza. Foram avaliados 114 participantes com suspeita clínica de dengue, recrutados no ambulatório e na enfermaria do Hospital São José de Doenças Infecciosas e nas Unidades de atenção primária à saúde (UAPS) Mattos Dourado e Francisco Pereira de Almeida, no município de Fortaleza, no período de janeiro de 2013 a dezembro de 2014. Os testes de diagnóstico específico realizados para dengue foram: imunocromatográfico NS1, imunoenzimático ELISA IgM e IgG. Dos 114 participantes, 78 (68,42%) foram positivos para dengue em pelo menos um dos testes específicos realizados, sendo 74 (64,9%) positivos para IgM, 3 (2,6%) para o NS1 e 1 (0,8%) participante foi positivo em ambos os testes. A faixa etária mais acometida foi entre 20 – 39 anos, sendo diagnosticados participantes com dengue em todos os meses de recrutamento. Observou-se uma considerável incidência de pacientes com possível infecção secundária, sugerindo uma ampla circulação do vírus no Estado do Ceará, tornando-se necessária a aplicação de ações mais efetivas para a contenção do agente transmissor e uma maior conscientização da população. As amostras utilizadas para realização do teste ELISA IgM foram coletadas do 1º ao 5º dia de sintomas, não sendo este o sugerido pela OMS para realização do teste, porém obtendo uma alta positividade, estes resultados demonstram a necessidade de mais estudos a cerca da aplicação desta ferramenta para se obter um diagnóstico mais precoce, permitindo que este paciente seja conduzido de forma mais rápida, auxiliando assim na sua melhora e impedindo que evolua para quadros mais graves.

**Palavras-chave:** dengue, *aedes aegypti*, síndrome febril, ELISA, NS1

## ABSTRACT

Dengue is considered one arbovirus more important transmitted to humans. Of the Agreement with the World Health Organization (WHO) estimated that between 50-100 million people infected annually arise in over 100 Countries. Medium 550 thousand patients require hospitalization and 20,000 die from the disease. However, most cases are asymptomatic and can generate a not in seeking medical care and, as a consequence, an underestimation of the disease cases. The present study aimed to identify the main symptoms presented those participants with clinical suspicion of dengue, attended in primary care and tertiary institutions located in Fortaleza. Were evaluated 114 participants with clinical suspicion of dengue were recruited in and Clinic in the ward of São José Hospital for Infectious Diseases and NAS Units Primary Health Care (UAP) Mattos Dourado and Francisco Pereira de Almeida, in Fortaleza, in the period January 2013 to December 2014. The specific diagnosis of testicular done paragraph dengue Were: NS1 immunoassay, enzyme-linked immunosorbent ELISA IgG and IgM. Of the 114 participants, 78 (68.42%) Were Positive paragraph dengue in less than hum hair testicles Specific done, BEING 74 (64.9%) IgM Positive paragraph, 3 (2.6%) for NS1 and 1 (0, 8%) participants was positive in both techniques. The most affected age group was between 20-39 years old, being diagnosed with dengue participants in all month recruitment. There was considerable a incidence patients with possible secondary infection, suggesting a wide circulation make any Ceara State viruses, making it necessary an application effective actions paragraph once the transmitter agent and containment a greater awareness of the population. As samples used for IgM ELISA Test realization collected were do 1 at the 5th day of symptoms, not being the suggested by WHO to Test procedure, however getting a high positivity, these results show the need for more studies a fence application of this tool paragraph to get more early human diagnosis, allowing que this patient be conducted faster way, assisting in your so improvement and preventing que of this evolve for tables more graves.

**Keywords:** dengue, *Aedes aegypti*, febrile syndrome, ELISA, NS1

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Áreas de risco da dengue .....	16
Figura 2	Casos e incidência de dengue no Ceará, 1986 a 2014.....	18
Figura 3	Municípios do Ceará com casos notificados e confirmados de dengue no Ceará.....	19
Figura 4	Genoma do vírus dengue.....	21
Figura 5	Resposta humoral na infecção da dengue com relação ao tempo de evolução da doença.....	28
Figura 6	Fluxograma dos pacientes incluídos e excluídos do estudo.....	35
Gráfico 1	Pacientes positivos pelos testes: Imunocromatográfico NS1 e ELISA IgM por dias de febre.....	41
Gráfico 2	Distribuição dos casos confirmados para dengue por meses e locais de recrutamento.....	43
Gráfico 3	Comparação da presença de sinais de alarme entre pacientes confirmados laboratorialmente para dengue e dengue-símile.....	45

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Pacientes positivos para dengue em um dos testes realizados.....	40
Tabela 2	Associação entre o local e a quantidade de dias de febre.....	41
Tabela 3	Distribuição da faixa etária, gênero e locais de recrutamentos dos participantes positivos para dengue.....	42
Tabela 4	Resumo descritivo e resultado do teste de ajustamento para cada sintoma .....	43
Tabela 5	Associação entre o local coletado e o grupo (IgM e IgG).....	46

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DC	Dengue clássica
DCC	Dengue com complicações
DENV1	Vírus Dengue 1
DENV2	Vírus Dengue 2
DENV3	Vírus Dengue 3
DENV4	Vírus Dengue 4
FC	Fixação de Complemento
FHD	Febre Hemorrágica da dengue
FII	Ficha individual de investigação
FIN	Ficha individual de notificação
IH	Inibição de hemaglutinação
IV	Isolamento viral
Kb	Kilobases
OMS	Organização Mundial de Saúde
PNCD	Plano de controle da dengue
SCD	Síndrome do choque da dengue
SIH-SUS	Sistema de Informação hospitalar do sistema único de saúde
SIM	Sistema de informações sobre mortalidade
SINAN	Sistema de informações de agravos de notificações

SUS

Sistema único de saúde

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>17</b>
1.1 Epidemiologia.....	17
1.2 Agente etiológico.....	21
1.3 Transmissão .....	23
1.4 Patogênese .....	24
1.5 Manifestações clínicas .....	25
1.6 Diagnóstico.....	27
1.7 Notificação dos casos confirmados .....	30
1.8 Diagnóstico diferencial.....	31
1.9 Justificativa.....	332
<b>2 OBJETIVO .....</b>	<b>343</b>
2.1 Objetivo geral .....	343
2.2 Objetivos específicos .....	343
<b>3 METODOLOGIA.....</b>	<b>354</b>
3.1 Aspectos éticos .....	354
3.2 Delineamento do estudo .....	354
3.3 População do estudo .....	374
3.3.1 Total de participantes recrutados .....	385
3.4 Coleta de dados.....	376
3.5 Definição de caso de dengue .....	376
3.6 Coleta e processamento das amostras.....	386
3.7 Testes realizados.....	387
3.7.1 Prova do laço .....	387
3.7.2 Teste Imunocromatográfico - NS1 Ag Strip.....	387

3.7.3 ELISA IgM.....	39
3.7.4 ELISA IgG.....	398
3.8 Análises de dados .....	398
<b>4. RESULTADOS .....</b>	<b>40</b>
4.1 Diagnóstico.....	40
4.2 Características epidemiológicas .....	43
4.3 Infecções secundárias .....	46
<b>5 DISCUSSÃO .....</b>	<b>48</b>
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>53</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>54</b>
<b>APÊNDICE .....</b>	<b>66</b>



# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Epidemiologia

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), calcula-se que entre 50 a 100 milhões de pessoas infectadas surjam anualmente em mais de 100 países, em que 40% da população mundial residem em áreas com risco de transmissão do vírus dengue (Figura 1). Em média 550 mil doentes necessitam de hospitalização e 20 mil morrem devido à doença (BRASIL MS, 2011), sendo endêmica em pelo menos 100 países das Américas, Ásia, Caribe e do Pacífico (GUZMAN *et al.*,2010; SAN MARTINS *et al.*,2010). Contudo, a maioria dos casos são assintomáticos, podendo gerar uma não procura por atendimento médico e, como consequência, uma subestimação dos casos da doença (GÓMEZ,WILLOQUET, 2009).

Figura 1 – Áreas de risco da dengue.



Fonte: WHO, 2011

A dengue é considerada a mais importante arbovirose transmitida aos seres humanos (WHO, 2009), sendo reconhecida em textos médicos datado da segunda metade do século XVIII onde foram descritos surtos epidêmicos na Ásia, África e América do Norte (LUPI *et al.*, 2007). A dengue tem sido considerada um grave problema de saúde mundial, sendo a virose urbana mais difundida em todo mundo, ocorrendo principalmente em áreas

tropicais e subtropicais em que as condições do ambiente são favoráveis ao desenvolvimento do mosquito transmissor *Aedes aegypti* (SES-SP, 2011), sendo este o principal vetor urbano adaptado nestas regiões e amplamente disseminado com a expansão do comércio e o aumento das viagens nos últimos 50 anos (MOUSSON *et al.*,2005).

As áreas geográficas em que a transmissão da dengue ocorre tem se expandido, e os quatro sorotipos do vírus (DENV 1, DENV 2, DENV 3 e DENV 4) agora estão circulando na Ásia, África e nas Américas (RODRIGUEZ-ROCHE *et al.*,2005). Entre 2007 a 2011 cerca de 64% dos casos de dengue foram diagnosticados na América do Sul, em países como Argentina, Paraguai e Uruguai. No Brasil, foram notificados 98% dos casos, sendo o país que possui a maior taxa de letalidade desta região (VERDEAL *et al.*, 2011).

A doença é endêmica no Brasil (SANTOS *et al.*, 2011), desde a década de 80 e, atualmente, ainda enfrenta dificuldades no controle e sua dispersão do vírus dengue em mais de 70% dos municípios brasileiros (TEIXEIRA, 2008). Os primeiros relatos literários de epidemias de dengue no Brasil datam de 1916, tendo ocorrido em Niterói e na cidade de São Paulo (TEIXEIRA, 2008; MEIRA 1916 apud BARRETO).

Em 1986 no Rio de Janeiro ocorreu a introdução do sorotipo 1 e em 1990 do sorotipo 2 (BARROS *et al.*, 2008; PESSANHA *et al.*, 2009). A incidência de dengue em 1993 aumentou consideravelmente, caindo em 1999, tornando a crescer em 2000 (FERREIRA *et al.*, 2009), quando foi encontrado em circulação o sorotipo 3 (BRASIL MS, 2010). No ano seguinte, em 2001, o Brasil reportou cerca de 390.000 casos, e destes, 670 de dengue hemorrágica (LUPI *et al.*, 2007).

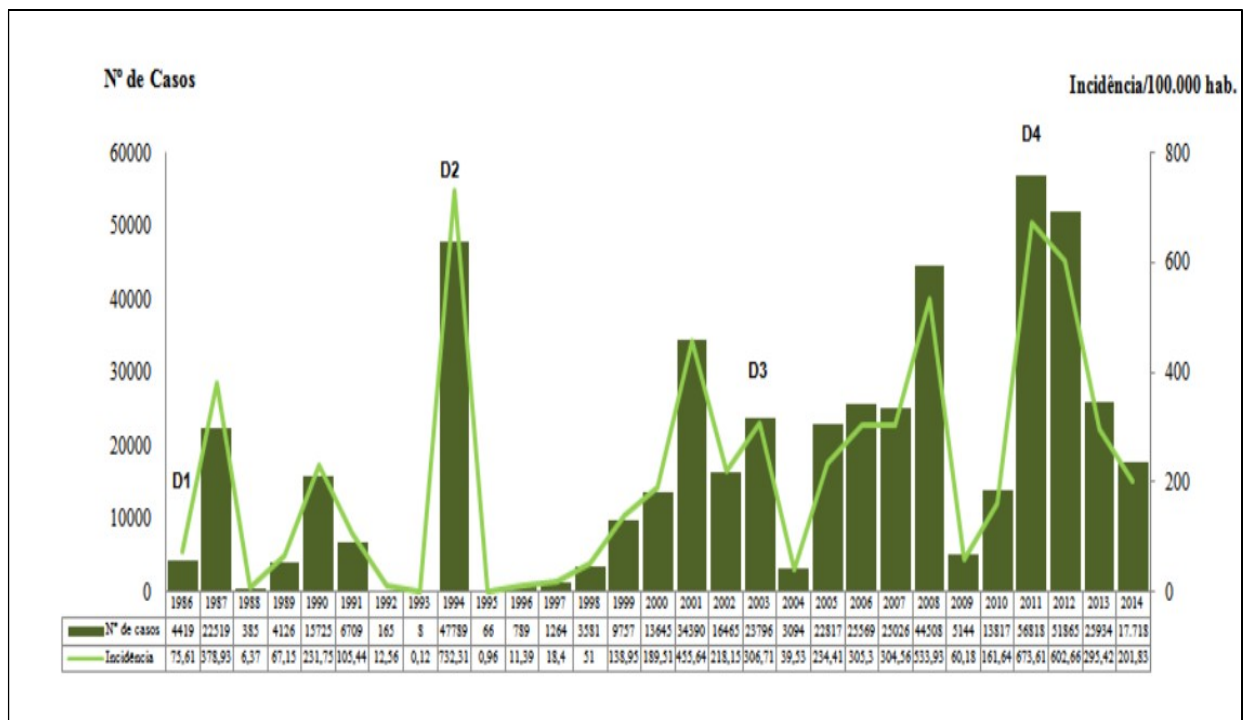
Com a introdução do sorotipo 4, em 2010, a situação se agravou ainda mais, uma vez que surgiu a possibilidade de uma nova e grave epidemia pelo vírus, devido a população encontrar-se suscetível às infecções por este sorotipo, apesar de todo avanço do Sistema Único de Saúde (SUS) com relação à prevenção e vigilância da doença (TEIXEIRA *et al.*, 2011).

Em 2014, foram notificados em todo país 591.080 casos suspeitos de dengue, destes as regiões onde ocorreu um maior número de casos prováveis da doença foram o Sudeste que teve 312.318 (52,8%) dos casos, seguido pelo Centro-Oeste com 114.814 (19,4%) e o Nordeste 90.192 (15,3%) casos (BRASIL MS 2015).

No Ceará, foram registrados os primeiros casos do vírus dengue em 1986 após a reintrodução do vírus no país, sendo registrado até o presente momento 6 epidemias no estado, a saber, em 1987, 1994, 2001, 2008, 2011 e 2012 (figura 2). Destacando três epidemias neste período, a de 1994, 2008 e a de 2011. Em 1994, foram confirmados os primeiros casos de febre hemorrágica com o isolamento do sorotipo DENV-2 (SOUZA *et al.*, 1995; CEARÁ, 2014) e até 2001, co-circularam no estado os sorotipos DENV-1 e DENV-2. Em 2008, destacando-se pelo alto índice de casos graves, e em 2011, pela quantidade de casos clássicos da doença em 27 municípios do Ceará, o índice de casos ultrapassou os 300 casos por 100.000 habitantes (COMSEMS, 2011; CEARÁ 2015).

Em 2002, foi isolado o DENV-3 que de 2003 a 2006 teve sua maior prevalência e em 2007, o DENV-2 retornou a circular no Ceará. Em 2010, o DENV-1, cuja entrada no Ceará ocorreu em 1986, permaneceu com poucos casos epidemiológicos, recirculando no estado com taxa de isolamento maior que 98%. No final de 2011, pela primeira vez no estado foi isolado o DENV-4, principal responsável pelas epidemias atuais (CEARÁ, 2014).

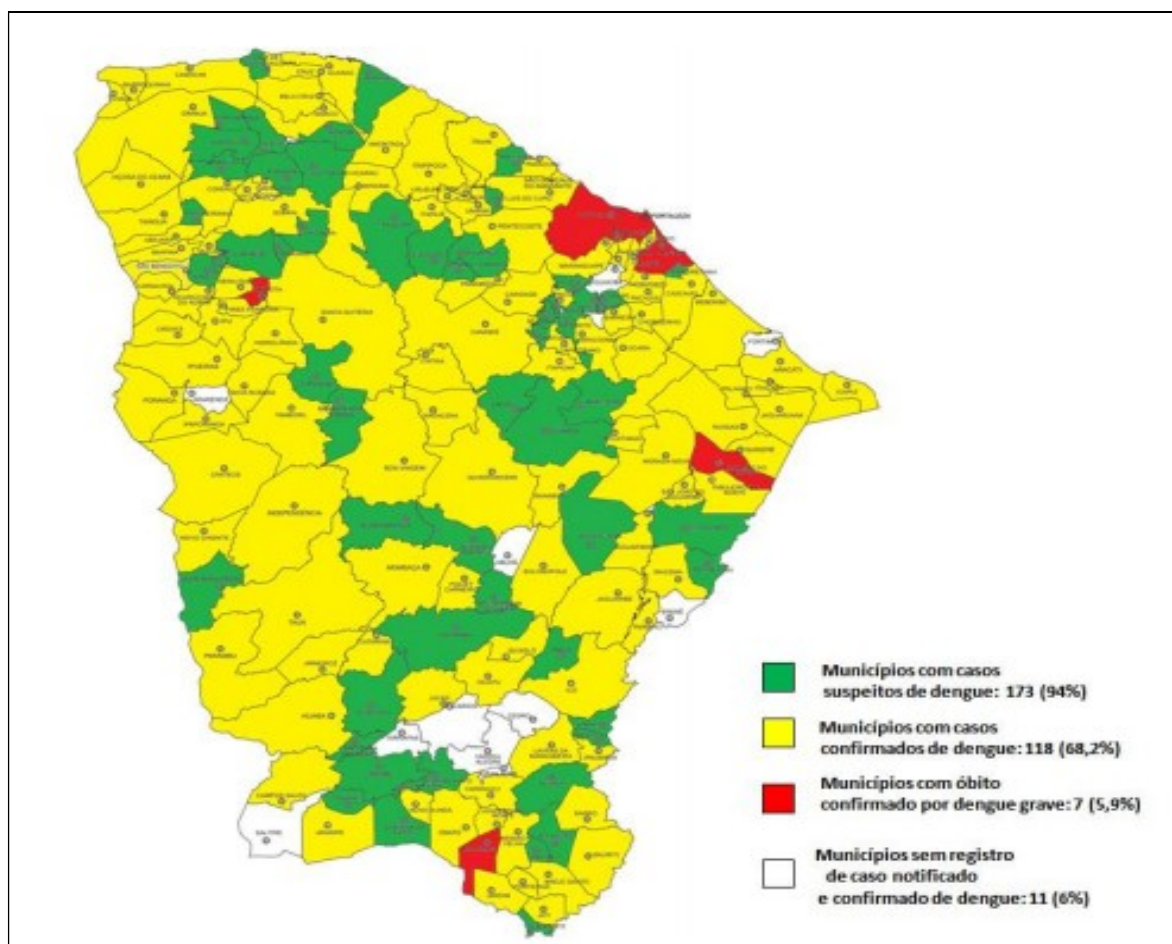
Figura 2. Casos e incidência de dengue no estado do Ceará, 1986 á 2014.



Fonte: SESA/COPROM/NUVEP 2014

Em 2015, foram notificados 28.199 casos suspeitos da doença até o dia 08 de maio, e destes, 7.952 casos foram confirmados em 118 (68,2%) dos municípios, com destaque para os municípios de Arneiroz, Alcântaras, Coreaú, Barbalha, Hidrolândia, Catarina, Eusébio, Jardim, Ipú, Ocara, Jucás, Pires Ferreira, Piquet Carneiro, São Gonçalo do Amarante, Porteiras e Trairi (Figura 3). Dos confirmados, a faixa etária foi entre 20 e 29 anos com predominância de 20,4%.

**Figura 3.** Municípios do Ceará com casos notificados e confirmados de dengue no Ceará.



Fonte: Sinan Online 2015

No início de sua circulação no Brasil, a dengue acometia principalmente adultos jovens e com registros de raros casos graves, porém em 2002 este quadro começou a inverter, com um deslocamento de idade, acometendo indivíduos na faixa etária de 15 anos ou menos e

com registro de um maior índice de casos graves e óbitos (BRASIL MS, 2011), além de interferir diretamente na economia do país, causando gastos à saúde pública e prejuízos à produtividade do trabalhador (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Com o surgimento da necessidade de expandir a capacidade de atendimento aos indivíduos acometidos com a forma grave da doença e com as dificuldades enfrentadas para controle do vírus, o aumento dos casos de dengue constitui uma crescente preocupação para a população e para as autoridades de saúde (BARRETO; TEIXEIRA, 2008). Em 2002, foi implantado pelo Ministério da Saúde, o Plano de Controle da Dengue (PNCD) que propôs novas estratégias para implementar com uma maior abrangência os projetos existentes e a intensificação dos mesmos, além de estabelecer os objetivos de redução da incidência da dengue e sua letalidade através da forma hemorrágica (PESSANHA *et al.*, 2009).

## 1.2 Agente etiológico

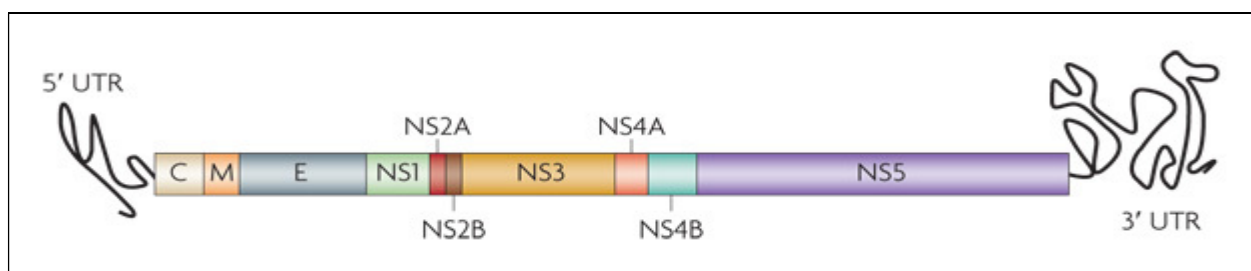
O vírus dengue pertencente ao gênero *flavivirus* da família flaviviridae na qual estão contidos cerca de 70 vírus, sendo o vírus dengue o principal vírus desse grupo (ZOU *et al.*, 2011), possuindo quatro sorotipos (DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4) distintos antigenicamente (HENCHAL; PUTNAK, 1990; GUBLER, 1998).

Seu genoma viral é formado por uma fita simples de RNA com polaridade positiva e comprimento aproximado de 11 kilobases (Kb). Sua estrutura caracteriza-se por ser esférica e envelopada, contendo um capsídeo icosaédrico revestindo o RNA viral. Um nucleocapsídeo envolvido por uma bicamada lipídica contendo proteínas. A codificação das proteínas do genoma do DENV ocorre na seguinte ordem: 5'- C-prM (M)-E-NS1-NS2A-NS2B-NS3-NS4A-NS4B-NS5-3' (CHAMBERS *et al.*, 1990; LODEIRO *et al.*, 2009)(Figura 4).

O vírus maduro é composto por 10 proteínas, sendo 3 estruturais: Capsídeo (C), pré-membrana (prM) e de envelope (E), que participam principalmente da formação dos componentes do vírus e 7 proteínas não estruturais (NS1, NS2a, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5), sendo estas as principais responsáveis pela replicação viral. Estas proteínas são originadas através do processamento de grandes poliproteínas, derivadas da tradução do genoma viral, sendo processadas pelas proteases virais e pelas células do hospedeiro (CHAMBERS *et al.*, 1990; LINDENBACH; THIEL; RICE, 2007).

A infecção por um dos sorotipos concede ao indivíduo imunidade permanente, porém imunidade cruzada para os demais sorotipos é obtida por um curto período, podendo ocorrer a infecção por mais de um dos sorotipos em pessoas que vivem em áreas endêmicas (ARAÚJO *et al.*, 2006; GUZMAN; ISTÚRIZ, 2010; ZOU *et al.*, 2011)

Figura 4. Genoma do vírus dengue



Fonte: GUZMAN *et al.* 2010

Primeiro polipeptídeo a ser produzido, a proteína estrutural C atua na ligação específica ao RNA genômico, permitindo assim a formação do nucleocapsídeo (HENCHAL; PUTNAK 1990). A proteína prM (pré-membrana) é precursora na formação da glicoproteína M, possuindo variadas formas no vírus dengue imaturo e maduro (JUNJHON *et al.*, 2010).

A glicoproteína E é importante na produção de imunógenos que atuam na proteção contra a doença por induzir a resposta imune, possui uma forma tridimensional que proporciona a exposição dos determinantes antigênicos virais. Ao reconhecer os epítomos da proteína E os anticorpos específicos contra o vírus promovem o bloqueio de seus receptores ou a lise do envelope, impedindo a entrada do vírus na célula através da ligação do vírus ao receptor de membrana, resultando assim na neutralização viral, pois esta ação é mediada pela proteína E, sendo seus epítomos os mais importantes determinantes antigênicos do vírus e, por isso, definem a produção de anticorpos específicos para o sorotipo viral (CHAMBERS *et al.*, 1990; HENCHAL; PUTNAK, 1990; NAVARRO-SANCHEZ *et al.*, 2003; MILLER *et al.*, 2008).

Dentre as sete proteínas não estruturais, poucas possuem sua função definida, sabe-se, porém que estas são fundamentais para o processo de replicação viral (ZOU *et al.*, 2011). A glicoproteína NS1 é altamente conservada, possuindo atividade na maturação viral, apresentando peso de 45 KDa e forma hexamérica, sendo encontrada na superfície e ligada à

membrana da célula infectada e secretada no espaço extracelular (CHAMBERS *et al.*, 1990; MACKENZIE; SCHLESINGER *et al.*, 1990; JONES; YOUNG, 1996; KUMARASAMY *et al.*, 2007). Encontrada circulando no soro de pacientes na fase aguda, tem sido utilizada para diagnóstico precoce da dengue (CROOKS *et al.*, 1994; FLAMAND *et al.*, 1999; YOUNG *et al.*, 2000).

A proteína NS2 divide-se em duas porções, a NS2A e a NS2B, com aproximadamente 22 kDa e 14 kDa, respectivamente, tendo a NS2B atividade proteolítica. A proteína não estrutural NS3 é uma proteína trifuncional com atividade enzimática da helicase, do nucleosídeo trifosfatase e da protease, possui peso molecular de 70 kDa (HENCHAL; PUTNAK, 1990; PEREIRA; KUHN, 2008).

A glicoproteína NS4 é composta por duas porções: a NS4A que induz importantes alterações no vírus durante sua replicação e a NS4B que está envolvida no auxílio à replicação do RNA viral mediante a interação com NS4B e NS3. Ambas são proteínas hidrofóbicas e integram a membrana (LEITMEYER *et al.*, 1999). Possuindo o maior peso molecular entre as proteínas não estruturais, com 100kDa, a NS5 é a mais conservada, sendo uma metiltransferase e uma RNA polimerase dependente de RNA. Possui atividades virais no desenvolvimento do vírus e por isto está sendo alvo de estudos para criação de medicamentos antivirais (PERERA; KUHN, 2008; BOLATTI *et al.*, 2010; ZOU *et al.*, 2011).

### 1.3 Transmissão

A dengue é transmitida pela fêmea do mosquito do gênero *Aedes*, sendo as espécies *Aedes aegypti* e a *Aedes albopictus* as mais importantes mundialmente na transmissão do vírus (HENCHAL; PUTNAK, 1990). Quando o mosquito se contamina, após alimentar-se do sangue de indivíduos, na fase virêmica da doença, ou por transmissão transovariana, no qual o artrópode possui a capacidade de transmissão do vírus à sua prole, o vírus permanece em incubação extrínseca no mosquito, podendo ser transmitido após um período de 8 a 12 dias (GUZMAN; ISTÚRIZ, 2010; ARUNACHALAM *et al.*, 2008). O *A. albopictus* não é o principal transmissor do DENV, mas foi relatado na maior parte dos estados brasileiros, embora ele não seja ainda causador de surtos de dengue no país (FORATINNI, 1986). Contudo, encontra-se bem adaptado no Brasil, tanto no ambiente rural quanto no urbano, (MARTINS 2006). Este vetor é originário da Ásia, sendo reportado pela

primeira vez no Brasil em 1953, onde foi introduzido por navios mercantes (FORATINNI, 1986). Alguns estados como o Acre, Amapá, Roraima, Piauí, Sergipe, Tocantins e o Ceará notificaram a presença do *A. albopictus* (FERREIRA *et al.*, 2009).

O mosquito transmissor assemelha-se ao pernilongo, porém, possui listras brancas por todo o corpo, tendo hábitos diurnos e depositando seus ovos em recipientes que contêm água limpa e parada, podendo resistir por mais de seis meses em situação hostil, como recipiente seco, até ter contato com água (LENZI; COURA, 2004). O vetor possui seu metabolismo acelerado nos períodos mais quentes e prolongado em períodos mais frios (CÂMARA *et al.*, 2009).

#### 1.4 Patogênese

Os quatro sorotipos do DENV causam sintomas clínicos semelhantes com padrões de disseminação sistêmica, possuindo um maior tropismo celular pelos monócitos, macrófagos e células dendríticas (ROTHMAN, 2011).

Após a inoculação do vírus no humano, as células dendríticas imaturas são infectadas e ao migrarem, amadurecem nos linfonodos, onde apresentam os antígenos virais, iniciando a resposta imune celular e humoral (WU *et al.*, 2000). Uma abundante replicação viral ocorre nos macrófagos dos gânglios linfáticos, nos parênquimas do fígado, baço e monócitos do sangue periférico (JESSIE *et al.*, 2004), podendo evoluir ou não para as formas mais graves da doença (HEMUNGKORN; THISYAKORN; THISYAKORN, 2007).

Não se sabe ao certo o que leva às formas graves da doença, porém várias hipóteses foram propostas na tentativa de esclarecer melhor a patogênese da dengue, apesar de nenhuma, individualmente, ser capaz de explicar todos os mecanismos envolvidos na evolução da doença (HEMUNGKORN *et al.*, 2007).

A hipótese proposta por Halstead em 1988 é a mais aceita, na qual se refere à exacerbada resposta imunológica dependente de anticorpos, acreditando que anticorpos pré-existent em pacientes com contato prévio com um dos quatro sorotipos da dengue não são capazes de neutralizar o sorotipo responsável pela infecção atual. Este se ligaria a outros epítopos do sorotipo da infecção atual comum aos demais sorotipos, sem causar neutralização, formando desta forma complexos vírus-anticorpo, que são capazes de se ligar às células



fagocíticas humanas que são intermediadas pelos receptores de imunoglobulinas (Fc $\gamma$ ), infectando de forma mais eficiente estas células (HALSTEAD, 1988; LEI *et al.*, 2008).

Outra importante teoria proposta em 1977 foi a de Rosen, que propõe que as diferentes formas de infecção pelo vírus dengue estão relacionadas diretamente com a virulência da cepa, de acordo com suas variações genéticas, podendo ser explicadas pelas diversas mutações genéticas de replicação em hospedeiros que vivem em locais endêmicos e de circulação dos quatro sorotipos (WATTS *et al.*, 1999).

Outra hipótese é a teoria integral da multicasualidade, que sugere que a Febre hemorrágica da dengue (FHD) que ocorre devido à associação de vários fatores que podem influenciar em menor ou maior grau o agravamento da doença, como os relacionados ao indivíduo (sexo, idade, estado nutricional, predisposição genética), ao vírus (sorotipo envolvido, virulência da cepa, mutações no genótipo viral, infecção secundária) e a epidemiologia (GUZMAN; KOURI, 2003).

Alguns estudos demonstraram alguns fatores de risco para FHD, como a presença de algumas doenças crônicas como diabetes mellitus e anemia falciforme, sendo o risco maior em crianças (GUZMAN *et al.*, 2002) e a presença de alguns alelos HLA de classe I e II que estão associados ao desenvolvimento para dengue hemorrágica (STEPHENS *et al.*, 2002).

### **1.5 Manifestações clínicas**

As manifestações clínicas da doença variam desde uma forma assintomática até casos graves com hemorragia e choque, podendo levar a óbito (LUPI *et al.*, 2007). Os casos podem ser classificados em 4 tipos: dengue clássica (DC), febre hemorrágica da dengue (FHD), síndrome do choque da dengue (SCD) ou dengue com complicações (DCC), sendo estas últimas as formas mais graves. A classificação da OMS é realizada de forma retrospectiva e segue critérios segundo dados clínicos e laboratoriais. Após período de incubação, os sintomas iniciam-se de forma abrupta, com três fases da doença, primeiramente ocorre uma fase aguda, seguida por uma fase mais crítica durante o período chamado de defervescência, advindo um aumento da permeabilidade capilar e a recuperação (WHO, 2009; BRASIL MS 2005; OPS, 2010).

A dengue clássica é caracterizada como uma doença febril com presença de febre associada a pelo menos 2 dos sintomas: dor retroorbitária, artralgia, mialgia, prostração e exantema. Doença aguda e autolimitante com duração aproximada de 4 ou 5 dias, não sendo comum a presença de manifestações hemorrágicas, podendo apresentar outros sintomas como prova do laço positiva. As alterações laboratoriais frequentemente encontradas são as elevações das enzimas hepáticas, a plaquetopenia e a leucopenia. A fase de convalescência ocorre geralmente de forma espontânea (JAHAN, 2011; KALAYANAROOJ *et al.*, 1997; GUBLER, 1998; SENEVIRATNE *et al.*, 2006). Nas crianças, a dengue pode ser assintomática, com um quadro viral clássico ou possuir um quadro clínico inespecífico como: vômitos, diarreia, fezes amolecidas, sonolência e recusa da alimentação (BRASIL MS, 2011).

Na FHD as principais alterações fisiopatológicas associadas à gravidade da doença é o extravasamento plasmático decorrente da inflamação do endotélio ou através de lacunas endoteliais (CHARTUVEDI *et al.*, 1997), ocorrendo geralmente em infecções secundárias e lactantes, inicia-se com sintomas semelhantes ao da DC associados a alguns sinais hemorrágicos com prova do laço positiva, como petéquias, epistaxe, gengivorragia, equimoses, hematêmese e outros. Alguns sinais são sugestivos de uma possível evolução para esta forma mais grave, estes são chamados de sinais de alarme, consistindo em dor abdominal intensa e contínua, vômito persistente, desconforto respiratório, hipotensão, hemorragias importantes como hematêmese, sonolência, irritabilidade, hepatomegalia, queda abrupta de plaquetas, desconforto respiratório e diminuição da temperatura corpórea (WHO, 2009; BRASIL, 2010; SINGHI *et al.*, 2007). Segundo a OMS, a FHD pode ser classificada, segundo sua gravidade, em grau I, II, III e IV (BRASIL MS, 2011).

Os casos de Síndrome do Choque do Dengue (SCD) são definidos com a presença de sinais de insuficiência circulatória com hipotensão, pulso fraco e choque, com alterações hepáticas e fígado palpável (RIGAU-PÉREZ, 1997). A SCD caracteriza-se pela presença de sinais de insuficiência circulatória, apresentada por pulso rápido e fraco, ausência de febre, oligúria, agitação, taquicardia/bradicardia, taquipneia ou perfusão capilar prolongada (>2 seg.), pele fria e úmida, mosqueada, diminuição da pressão de pulso (menor ou igual a 20 mmHg) ou hipotensão para a idade (BRASIL MS, 2013).

A Dengue com Complicação (DCC) é todo caso grave que não preenche todos os critérios descritos pela OMS para ser classificada como FHD ou casos de morte com suspeita

de dengue não classificado como FHD. As alterações mais frequentes são as neurológicas, hemorragia digestiva volumosa, derrame pleural, insuficiência hepática, pericárdico, ascite, contagem de leucócitos  $\leq 1.000/\text{mm}^3$  e plaquetopenia abaixo de  $20.000/\text{mm}^3$  (BRASIL 2010).

Desde 2014, o Brasil adotou uma nova classificação de dengue revisada pela OMS na qual os casos de dengue podem ser classificados em: Dengue, Dengue com sinais de alarme ou Dengue grave (BRASIL MS, 2014).

### 1.6 Diagnóstico

O diagnóstico é realizado através de uma análise clínica do paciente e de exames inespecíficos, como a prova do laço, que analisa a fragilidade capilar (BRASIL MS, 2011), contagem de hematócritos e plaquetas, os quais são importantes para o acompanhamento dos pacientes com manifestações hemorrágicas ou em situações especiais como gestantes e idosos (BRASIL MS, 2005).

O exame mais empregado para auxiliar na vigilância da dengue são os testes sorológicos, pois são mais simples e rápidos, sendo amplamente utilizados para a detecção de anticorpos da classe IgM e IgG através da técnica de imunoensaio - enzimático (ELISA) os quais detectam anticorpos encontrados na infecção pelo vírus dengue (VILAS BOAS *et al.*, 2011).

A abordagem de diagnóstico do paciente com suspeita de dengue deve seguir uma sequência mínima de anamnese e exames físicos, devendo ser realizado obrigatoriamente o teste da prova do laço em todo caso suspeito (BRASIL MS, 2005), com resultado considerado positivo quando ocorre o aparecimento maior que dez petéquias por  $2,5 \text{ cm}^2$  em adultos (SINGHI *et al.*, 2007).

Além da prova do laço, outros exames de investigação clínica são usados, como o hemograma, a contagem de plaquetas e as dosagens bioquímicas (creatinina, transferases, ureia e bilirrubina fração e total) (FERREIRA *et al.*, 2005). Para o hemograma, a coleta da amostra deve ser realizada no momento do atendimento e a liberação do resultado deve ser em tempo hábil para avaliação clínica adequada (BRASIL MS, 2011).

Na confirmação laboratorial são utilizadas o diagnóstico por detecção do vírus (usado para monitoramento dos sorotipos circulantes), do antígeno viral ou pelo teste

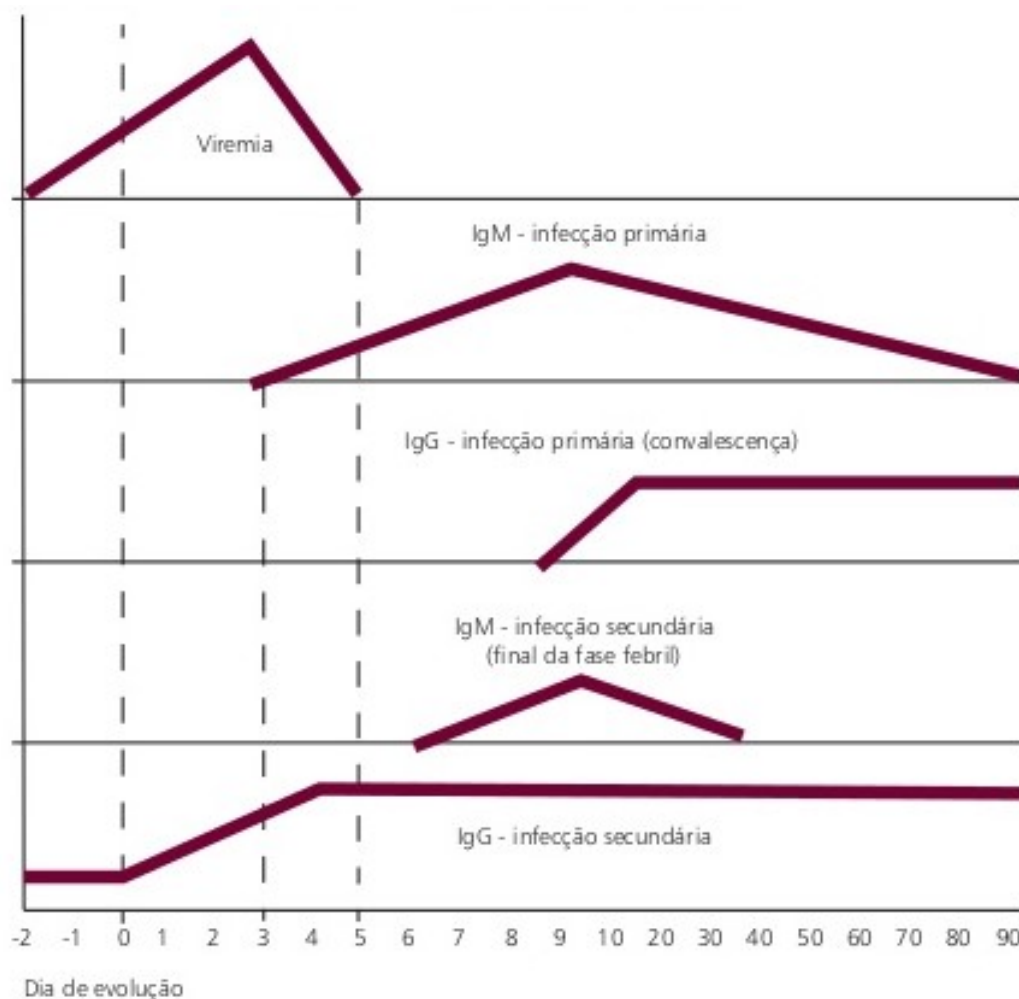
sorológico, este último é o método de escolha para a identificação de anticorpos anti-dengue. A coleta da amostra deve ser realizada a partir do sexto dia do início dos sintomas (BRASIL MS, 2005). A escolha do teste dependerá da fase da doença em que o paciente se encontra. Na fase aguda, período de viremia, os métodos recomendados são o isolamento viral (IV), detecção de NS1 e reação em cadeia da polimerase (RT-PCR); e no final da fase aguda, o teste de escolha é o sorológico (figura 5) (WHO, 2009).

O isolamento viral (IV) é considerado o padrão ouro para o diagnóstico da infecção, sendo uma técnica específica e que possibilita a detecção do sorotipo viral, porém, é necessário que a amostra do paciente seja coletada no período virêmico, que corresponde do 1º ao 5º dia da doença (ARAÚJO, 2006).

Para realização do IV, quatro métodos distintos são utilizados: inoculação intratorácica em mosquitos adultos, inoculação cerebral em camundongos neonatos, cultura de células de mamíferos e cultura de células de mosquitos (GUBLER, 1998), sendo este último o de escolha na rotina em laboratórios, com a utilização de células do mosquito *A. albopictus* (C6/36), *A. pseudoscutellaris* (AP-61) ou células de *Toxohynchitesamboinenses* (TRA-284) (GUZMÁN; KOURÍ, 1996; GUZMÁN *et al.*, 2010).

Após período de incubação para que ocorra replicação viral nas células escolhidas, a identificação do vírus ocorre através de ensaio de imunofluorescência, utilizando anticorpos monoclonais específicos para cada sorotipo da dengue (VORNDAM; KUNO, 1997; KOURI, 2004).

Figura 5. Resposta antígeno-anticorpo na infecção da dengue com relação ao tempo de evolução da doença.



Fonte: Opas. Adaptado 2011

A detecção de antígenos da dengue é possível através da utilização de um substrato colorimétrico e uma enzima com anticorpos específicos que se ligam ao Ag da dengue. Um dos antígenos mais estudado para fins comerciais é a proteína NS1, por ser uma das primeiras a ser produzidas pelo vírus e secretadas na corrente sanguínea, tornando-se assim de fácil detecção. Alguns testes foram desenvolvidos para o diagnóstico da dengue, utilizando esta proteína, como o imunocromatográfico e o imunoenzimático (ELISA) (XU *et al.*, 2006).

Os testes sorológicos são usados largamente na detecção da infecção pelo vírus dengue. Entre o 1º e o 4º dia após os primeiros sintomas, os anticorpos da classe IgM surgem e, logo após, entre o 7º e o 10º dia aparecem os anticorpos de classe IgG, identificando uma reação aguda ou progressiva respectivamente (ALMEIDA, 2011).

Existem inúmeras técnicas sorológicas que podem ser utilizadas no diagnóstico da dengue sendo a técnica imunoenzimática (ELISA), a qual detecta anticorpos da classe IgM e IgG, a mais utilizada, por ser simples e rápida. Outros testes também podem ser utilizados como a inibição de hemaglutinação (IH), fixação de complemento (FC) e a neutralização (N) (ALMEIDA, 2011). O ELISA possui três métodos distintos: indireto, competitivo e o de sanduíche, sendo utilizados na identificação de anticorpos ou antígenos, por anticorpos marcados com uma enzima que age sobre um substrato e a reação faz com que o cromógeno realize uma alteração de cor. O produto desta reação é insolúvel, para não difundir no local da formação (MARTINS, 2011).

Para melhor escolha do teste sorológico a ser utilizado, é necessário observar e levar em consideração os dois padrões de resposta imunológica encontrados em uma infecção pelo vírus dengue: resposta primária e secundária. A primeira ocorre em pacientes que nunca tiveram contato com o vírus dengue; e a segunda, quando o paciente teve um contato anterior com um dos sorotipos do vírus (WHO, 2009; SCHILLING *et al.*, 2004; SHU; HUANG, 2004).

Os anticorpos IgM são os primeiros que aparecem e devem ser investigados inicialmente, permanecendo por até 12 meses. O ELISA não detecta o sorotipo do vírus, por isso a combinação de testes imunológicos e técnicas moleculares como a RT-PCR (LUPI *et al.*, 2007), que consegue detectar a infecção precocemente (SINGHI *et al.*, 2007), podendo adquirir no futuro uma importância maior para o diagnóstico da dengue (LUPI *et al.*, 2007). O monitoramento laboratorial, normalmente, é solicitado através da contagem de hematócritos a cada duas horas no período de instabilidade hemodinâmica; e entre quatro e seis horas das primeiras 12 horas, após ser estabelecido o quadro clínico do paciente, a albumina é avaliada a cada 12 horas e as plaquetas a cada 8, 12 ou 24 horas, de acordo com a necessidade (BRASIL MS, 2009).

### **1.7 Notificação dos casos confirmados**

A dengue no Brasil é uma doença de notificação compulsória, devendo ser comunicada às autoridades sanitárias locais através dos profissionais e responsáveis de instituições particulares e públicas de saúde, existindo atualmente três sistemas de informações que são: Sistema de Informações sobre Mortalidade (SIM), Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) e Sistema de Informação Hospitalar do Sistema Único de Saúde (SIH-SUS). Este controle ocorre de forma descentralizada em todo o país (MORAES; DUARTE, 2009) e é de fundamental importância para que a vigilância consiga analisar o padrão de transmissão da doença em cada área e sua curva epidêmica (BRASIL MS, 2005).

No SINAN, existem alguns instrumentos de coleta de dados como: a FIN (ficha individual de notificação), a qual possui informações básicas sobre o paciente e a FII (ficha individual de investigação) que, além das informações básicas, possui dados adicionais como local provável de infecção e exames laboratoriais (BRASIL MS, 2009).

Após coletado esses dados no SINAN, os mesmos são encaminhados para a vigilância epidemiológica estadual e, em seguida, ao Ministério da Saúde. A vigilância tem por objetivo detectar precocemente a circulação do vírus, focos do vetor e aglomerados de casos para que possam ser debelados em tempo hábil, adotando assim medidas de controle e prevenção. Além dos dados coletados através das fichas, os exames laboratoriais vinculados à rotina da vigilância epidemiológica são importantes para complementar o diagnóstico de confirmação de casos, sendo utilizados também como fonte de conhecimento de casos que não foram notificados (BRASIL MS, 2009).

### **1.8 Diagnóstico diferencial**

Por apresentar um amplo espectro clínico, tornando-se difícil distinguir em alguns casos de outras doenças apenas por critérios clínico-epidemiológicos, faz-se necessária e essencial a utilização de técnicas laboratoriais específicas para casos suspeitos de dengue para um diagnóstico conclusivo, diferenciando-o das demais síndromes febris (SHU; HUANG, 2004; VELATHANTHIRIA *et al.*, 2006).

Para um diagnóstico correto, o Ministério da Saúde recomenda a realização de diagnóstico diferencial para as seguintes doenças: citomegalovírus, influenza, rubéola, sarampo, hepatites virais, febre amarela, oropouche, malária, hantavírus, leptospirose, entre outros, dependendo da situação epidemiológica da região (BRASIL, 2011). Porém, em períodos endêmicos, devido ao excesso de casos suspeitos, a confirmação pode ser realizada somente através de critérios clínicos associados à epidemiologia (GUZMAN *et al.*, 2010; BRASIL 2011). Porém, por carência de recurso ou por desconhecimento de sua existência, muitos patógenos que possuem quadro febril agudo similar ao da dengue não são estudados, podendo causar uma superestimação dos casos de dengue em detrimento de outras patologias com sintomatologias semelhantes (BRUCE *et al.*, 2005; SUHARTI *et al.*, 2009) levando os pacientes a tratamentos errôneos e piora do quadro clínico.



## **1.9 Justificativa**

A circulação simultânea de vários sorotipos, principalmente em períodos de epidemia, pode aumentar o risco da ocorrência de casos graves de dengue. Em uma epidemia, o diagnóstico da doença pode ser confirmado apenas pelo critério clínico-epidemiológico em indivíduos que apresentem sintomas característicos da dengue e que habitem em regiões com epidemiologia favorável à doença. Entretanto, o diagnóstico definitivo requer a confirmação por meio de testes laboratoriais específicos. Com isso, pode ocorrer uma superestimação do número de casos da doença em regiões epidêmicas. Diante do exposto, o presente estudo visa analisar os sinais e sintomas apresentados pelos pacientes confirmados laboratorialmente com dengue correlacionando com o dos apresentados pelos pacientes classificados como dengue símile (pacientes negativo laboratorialmente para dengue, em uma das técnicas utilizadas no presente estudo). Possibilitando assim avaliar um possível comportamento clínico dos pacientes com dengue.

## **2 OBJETIVO**

### **2.1 Objetivo geral**

Identificar os principais sintomas apresentados pelos participantes com suspeita clínica de dengue, atendidos em instituições de atenção primária e terciária localizadas no município de Fortaleza.

### **2.2 Objetivos específicos**

- 2.2.1 Identificar os casos suspeitos de dengue;
- 2.2.2 Investigar os possíveis casos de participantes com dengue secundária;
- 2.2.3 Descrever as características clínicas e epidemiológicas dos casos confirmados para dengue e dengue-símile.

### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 Aspectos Éticos

A pesquisa foi realizada de acordo com as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa em seres humanos estabelecidas na Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS, com o protocolo nº64/2009 e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital São José de Doenças Infecciosas. Uma nova resolução foi publicada no dia 13 de junho de 2013 sob nº 466/12. O presente estudo também foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade de Fortaleza - Protocolo 80163.

#### 3.2 Delineamento do estudo

Estudo do tipo transversal descritivo com participantes com suspeita clínica de dengue.

#### 3.3 População de estudo

Nesta pesquisa foram recrutados participantes com suspeita clínica de dengue através de busca ativa no ambulatório e na enfermaria do Hospital São José de Doenças Infecciosas e nas Unidades de atenção primária à saúde (UAPS) Mattos Dourado e Francisco Pereira de Almeida, no município de Fortaleza, no período de janeiro de 2013 a dezembro de 2014. Esses foram convidados a participar voluntariamente do estudo, sendo selecionados de acordo com os critérios de inclusão e exclusão preconizados pelo Ministério da Saúde.

- Critérios de inclusão: crianças, adultos e idosos, apresentando quadro febril agudo, associado a pelo menos dois dos seguintes sintomas: cefaleia, dor retroorbitária, artralgia, mialgia, exantema e prostração. Os participantes recrutados na enfermaria foram inclusos no estudo com até 12 dias de sintomas.
- Critérios de exclusão: mulheres grávidas; pacientes que apresentassem quadro febril há mais de 6 dias, salvo os participantes da enfermaria, mesmo com a presença dos seguintes sintomas: cefaleia, dor retroorbitária, artralgia, mialgia e exantema; pacientes que apresentassem qualquer contraindicação para coleta de amostras de sangue ou

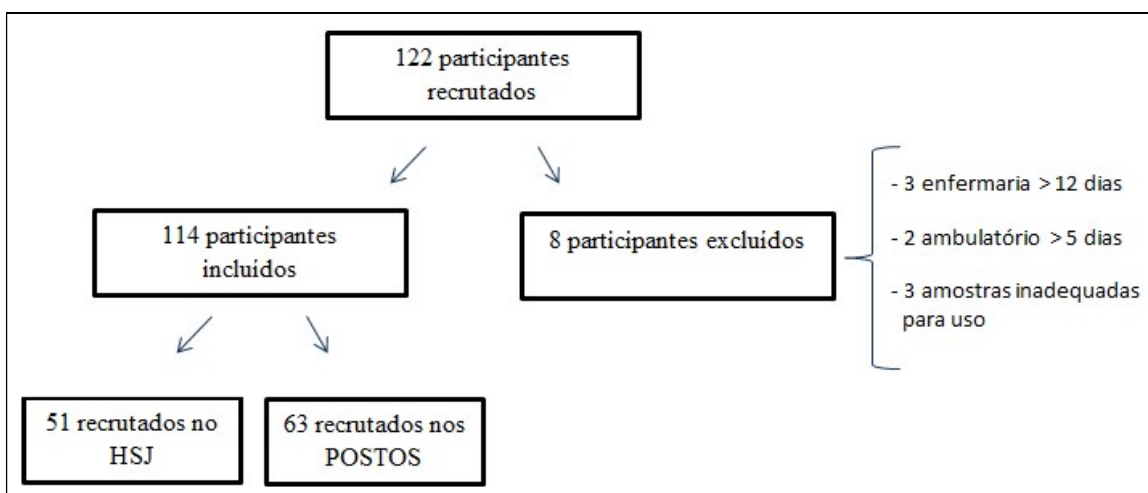
pacientes que apresentassem sinais que sugerissem outras etiologias que não foram contempladas no presente estudo.

Todos os participantes da pesquisa assinaram o termo de consentimento livre esclarecido – TCLE adulto (APÊNDICE A) e infantil (APÊNDICE B) e responderam a um questionário clínico – epidemiológico (APÊNDICE C).

### 3.3.1 Total de Participantes recrutados

Foram recrutados 122 participantes com suspeita clínica de dengue, no período de janeiro de 2013 a dezembro de 2014. Destes, 8 participantes foram excluídos do estudo de acordo com os critérios de exclusão utilizados e mencionados no item 3.2. Três participantes foram excluídos por serem de enfermaria e estarem com mais de 12 dias de sintomas, 2 participantes por serem de ambulatório e possuírem mais de 5 dias de sintomas e 3 participantes tiveram suas amostras desconsideradas pois encontravam-se inadequadas para uso. Dessa forma, 114 participantes foram incluídos no estudo, sendo 51 provenientes do HSJ e 63 das UAPS (Figura 6).

Figura 6. Fluxograma dos pacientes incluídos e excluídos do estudo.



Fonte: Dados do pesquisador

### **3.4 Coleta dos dados**

Os participantes do estudo preencheram uma ficha de avaliação inicial no momento do recrutamento, contendo os seguintes dados: identificação do paciente, critérios de inclusão, critérios de exclusão, manifestações clínicas, manifestações hemorrágicas, sinais de alarme, sinais de choque, complicações, achados clínicos e exames inespecíficos como a prova do laço e exames específicos como: NS1 por imunocromatografia e imunocromatográfico ELISA IgM e IgG para dengue.

### **3.5 Definição de caso de dengue**

Consideramos como casos suspeitos de dengue todos os pacientes que apresentavam doença febril aguda com duração máxima de 7 dias e que os médicos da instituição de recrutamento definiram como suspeitos de dengue, acompanhado de pelo menos dois dos seguintes sintomas: cefaleia, dor retroorbital, mialgia, artralgia, prostração ou exantema. Definimos como casos confirmados os participantes que apresentaram diagnóstico laboratorial confirmado através do NS1 positivo e/ou Elisa IgM positivo. Essas definições foram utilizadas como parâmetro de comparação entre as diferentes metodologias utilizadas no estudo, sendo empregada a definição de caso de dengue preconizado pelo Ministério da Saúde (MS).

### **3.6 Coleta e Processamento das Amostras**

Os participantes foram recrutados até o 7º dia de febre, com exceção dos que se encontravam na enfermaria do HSJ que foram recrutados até o 12º dia. De cada paciente foi coletado 10 ml de sangue periférico em um tubo sem anticoagulante. A amostra foi submetida à centrifugação de 1.500xg por 5 minutos para a obtenção do soro, sendo realizadas alíquotas para armazenamento em freezer a -80°C para posteriormente serem submetidas a testes laboratoriais específicos. Os testes específicos foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas localizado no Núcleo de Atenção Médica Integrada (NAMI) na Universidade de Fortaleza (UNIFOR).

### **3.7 Testes realizados**

#### **3.7.1 Prova do laço**

A prova do laço foi realizada de acordo com o manual do Ministério da Saúde de 2011. Após aferir a pressão arterial do paciente, com o auxílio do esfigmomanômetro, obteve-se o ponto médio entre a pressão arterial máxima e a mínima, mantendo-se essa pressão por 5 minutos, sendo contado após esse período o número de petéquias existentes em uma extensão de 2,5cm, formando um quadrado, localizado no antebraço do paciente. Considera-se a prova positiva quando houver a presença de 20 ou mais petéquias (BRASIL, 2011).

#### **3.7.2 Teste Imunocromatográfico - NS1 Ag Strip**

O teste NS1 Ag Strip detecta qualitativamente o antígeno NS1 do vírus dengue no soro ou plasma humano (Bio-Rad<sup>®</sup> Laboratories, Marnes La Coquette, (França). Esse teste utiliza a imunocromatografia de fluxo lateral auxiliando no diagnóstico de infecção aguda. A proteína não estrutural NS1 pode ser detectada na circulação de pacientes infectados desde o primeiro dia do início dos sintomas e até nove dias após o aparecimento da febre. O teste foi realizado segundo as recomendações do fabricante.

#### **3.7.3 ELISA IgM**

A sorologia para dengue foi realizada utilizando o kit comercial imunoenzimático, comercializado pela VIRION/SERION<sup>®</sup>, seguindo as recomendações do fabricante. Esse teste destina-se à detecção qualitativa de anticorpos IgM anti-dengue no soro do paciente. O kit contém uma microplaca, sensibilizada com anticorpos anti-IgM humano anti-dengue (captura). As amostras dos pacientes foram diluídas em solução de diluição acrescida do fator reumatóide (Fr), que são anticorpos da classe IgM que se ligam preferencialmente aos imunocomplexos IgG e, posteriormente, incubado por 15 minutos, o uso do Fr, como descrito no kit, evita resultados falsos positivos ou negativo. Após diluição, a amostra é inserida nos poços da placa, os anticorpos IgM anti-dengue contidos no soro do paciente ligam-se a anticorpos anti-IgM humano anti-dengue presente na microplaca, permanecendo incubado durante 60 minutos a 37°C em câmara úmida. No fim da incubação, os poços são lavados 4 vezes com tampão de lavagem, em seguida adiciona-se o conjugado anti-dengue, que é um

anticorpo policlonal (APC) dirigido contra IgA, IgM ou o IgG humano. A atividade da enzima residual encontrada nos poços foi evidenciada pela adição e posterior incubação da solução do substrato Para-nitrofenilfosfato (pNPP). A leitura colorimétrica foi obtida usando-se um espectrofotômetro em 405nm.

### **3.7.4 ELISA IgG**

A detecção do anti IgG para dengue foi realizada utilizando o kit comercial imunoenzimático, comercializado pela VIRION/SERION<sup>®</sup>, seguindo as recomendações do fabricante. Esse teste destina-se à detecção qualitativa de anticorpos IgG anti-dengue no soro do paciente. O kit contém uma microplaca, sensibilizada com anticorpos anti-IgG humano anti-dengue (captura). As amostras dos pacientes foram diluídas em solução de diluição e inserida nos poços da placa onde os anticorpos IgG anti-dengue no soro do paciente ligam-se a anticorpos anti-IgG humano anti-dengue presentes na microplaca, permanecendo incubado durante 60 minutos a 37°C em câmara úmida. No fim da incubação os poços são lavados 4 vezes com tampão de lavagem, em seguida adiciona-se o conjugado anti-dengue, que é um anticorpo policlonal (APC) dirigido contra IgA, IgM ou o IgG humano e incubado por 30 minutos. A atividade da enzima residual encontrada nos poços foi evidenciada pela adição e posterior incubação da solução do substrato Para-nitrofenilfosfato (pNPP). A leitura colorimétrica foi obtida usando-se um espectrofotômetro em 405nm.

### **3.8 Análises dos dados**

Os dados foram obtidos através das fichas de avaliação aplicadas aos participantes e, posteriormente, digitados e armazenados no Microsoft<sup>®</sup> Excel 2007. Para análise estatística dos dados foi utilizado também o programas computacionais: Microsoft Word 2007, Microsoft Excel 2007 e o SPSS versão 19. A representação gráfica dos resultados foi realizada através de gráficos e tabelas, nos quais foram comparados os grupos dos pacientes positivos e negativos para dengue. O interesse no estudo foi verificar a incidência da dengue nos participantes que apresentaram sintomas relacionados com dengue. Nesse sentido dispomos de dois grupos para cada sintoma: número de casos de dengue e número de casos com dengue-símile.

Dessa maneira foi verificar se esses dois grupos são iguais para cada sintoma estudado, aplicando assim calculo estatístico não-paramétrico de adequação ou aderência.

Para verificar a adequação da quantidade de ocorrência de k grupos em uma amostra de tamanho n, foi aplicado o teste estatístico qui-quadrado. Os testes de ajustamento, também designados por testes da bondade do ajustamento, servem para testar a hipótese de que uma determinada amostra aleatória tenha sido extraída de uma população com distribuição especificada. No caso em estudo, o interesse era verificar se a distribuição de dengue e dengue-símile era bisimilar para determinado sintoma. Assim, a hipótese a ser testada segue como:

H0: Número de casos de dengue = número de casos de dengue-símile

H1: Número de casos de dengue  $\neq$  número de casos de dengue-símile

Aplicou-se significância de 5%, ou seja, p-valor  $< 0,05$  indicando rejeição de H0 (Hipótese nula) e, portanto, aceita-se H1, caso contrário aceita-se H0.



## 4. RESULTADOS

### 4.1 Diagnóstico

Dos 114 participantes, 78 (68,42%) foram positivos para dengue em pelo menos um dos testes sorológicos realizados (Tabela 1). O teste ELISA IgM foi realizado em todas as amostras, porém o teste imunocromatográfico NS1 foi realizado em apenas 68 (59,65%) das amostras, pois os demais participantes recrutados encontravam-se no período > 7 dias de sintomas.

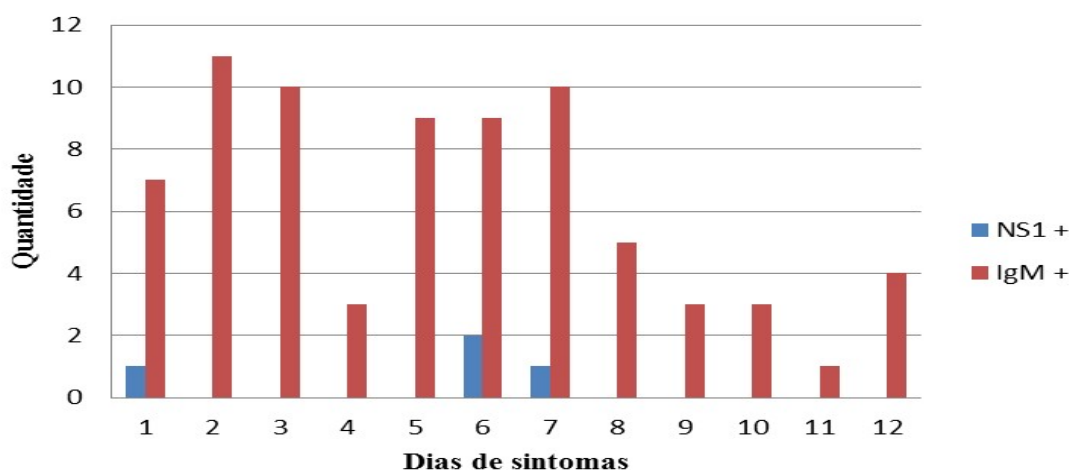
Tabela 1. Pacientes positivos para dengue pelos testes ELISA IgM e NS1.

<b>Testes realizados para diagnóstico da dengue</b>	<b>Número de participantes positivos (N=78)</b>
<b>ELISA IgM +</b>	74
<b>NS1 +</b>	3
<b>NS1 + e ELISA IgM +</b>	1

Fonte: Dados do pesquisador

O teste imunocromatográfico NS1 conseguiu detectar a infecção pelo vírus dengue desde o 1º dia de sintomas até o 7º dia, o kit utilizado sugere que é possível detectar o NS1 entre o 1º e o 9º dia de sintomas. O teste ELISA IgM conseguiu detectar a presença do anticorpo da classe IgM a partir do 1º dia de sintomas até o 12º dia (gráfico 1). É importante enfatizar que o período de recrutamento dos participantes no presente estudo foi entre o 1º e o 7º dia de sintomas, com exceção dos pacientes internados que foram recrutados até o 12º dia, não sendo possível avaliar a sensibilidade do teste com o passar dos dias de sintomas.

Gráfico 1. Pacientes positivos pelos testes: Imunocromatográfico NS1 e ELISA IgM por dias de febre.



Fonte: Dados do pesquisador

Na tabela 2 fez-se a comparação entre o local e a quantidade de dias com febre. Observa-se pela tabela que no hospital a predominância maior foi de 70% na categoria 6 a 12 dias, já no posto de saúde é o inverso com 88,5% na categoria 1 a 5 dias.

Tabela 2: Associação entre local e a quantidade de dias de febre.

	Local	Dias		Total
		1 a 5 dias	6 a 12 dias	
Hospital	nº de pacientes	15	35	50
	% no hospital	30,0%	70,0%	100,0%
Posto de Saúde	nº de pacientes	54	7	61
	% no posto de saúde	88,5%	11,5%	100,0%
Total	nº de pacientes	69	42	111
	% Total	62,2%	37,8%	100,0%

Fonte: Dados do pesquisador

## 4.2 Características Epidemiológicas

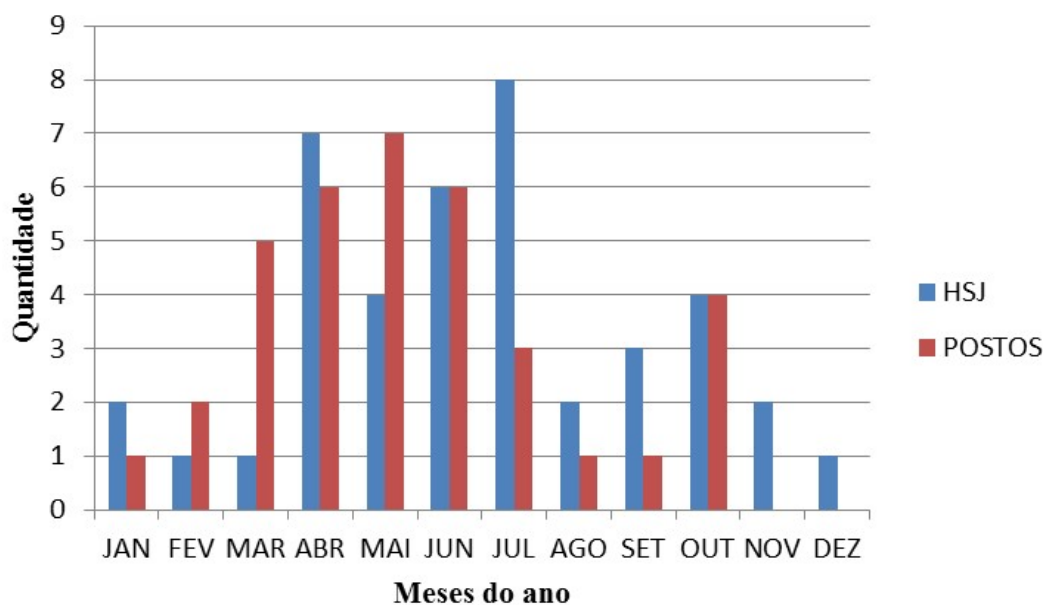
A faixa etária mais acometida entre os participantes positivos para dengue foi entre 20 – 39 anos. Com relação ao gênero, 42 (53,8%) pertencia ao gênero masculino e 36 (46,1%) ao gênero feminino. Dos 78 participantes positivos para dengue em um dos testes realizados, 41 (52,5%) eram provenientes do HSJ e 37 (47,4%) das UAPS (Tabela 3).

Tabela 3. Distribuição da faixa etária, sexo e locais de recrutamentos dos participantes positivos para dengue.

<b>Variável</b>		<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Faixa etária</b>	< 10 anos	6	7,7
	10 - 19 anos	15	19,2
	20 - 39 anos	37	47,4
	40 - 59 anos	12	15,3
	≥ 60 anos	8	10,2
<b>Gênero</b>	Masculino	42	53,8
	Feminino	36	46,1
<b>Local de atendimento</b>	UAPS	37	47,4
	Hospital	41	52,5

Foram diagnosticados participantes com dengue em todos os meses de recrutamento (Gráfico 2). Apesar de abril e junho terem sido os meses com maior número de recrutados, os meses com maior percentual de participantes positivos para dengue foram os meses de julho (11/12) pacientes com 91,66% sendo 8 do HSJ e 3 das UAPS e janeiro (3/4) pacientes com 75% do total dos pacientes recrutados no mês, sendo 2 do HSJ e 1 das UAPS.

Gráfico 2. Distribuição dos casos confirmados para dengue por meses e locais de recrutamento



Fonte: Dados do pesquisador

As características clínicas foram comparadas entre os participantes confirmados laboratorialmente para dengue com os negativos. Em relação aos sintomas, os mais relatados pelos participantes com dengue foram febre (100%), cefaleia (83,3%), mialgia (74,3%), dor retroorbitária (61,5%) e prostração (55,1%) ( Gráfico 4).

A seguir são mostrados os resultados para cada sintoma. Note que os valores em negrito são os resultados significativos, ou seja, houve diferença entre os grupos.

Tabela 4: Resumo descritivo e resultado do teste de ajustamento para cada sintoma

Sintomas	Dengue	Dengue-Símile	P-valor
Cefaleia	67	10	<b>&lt;0,001</b>
Dor retroorbitária	48	29	<b>0,030</b>

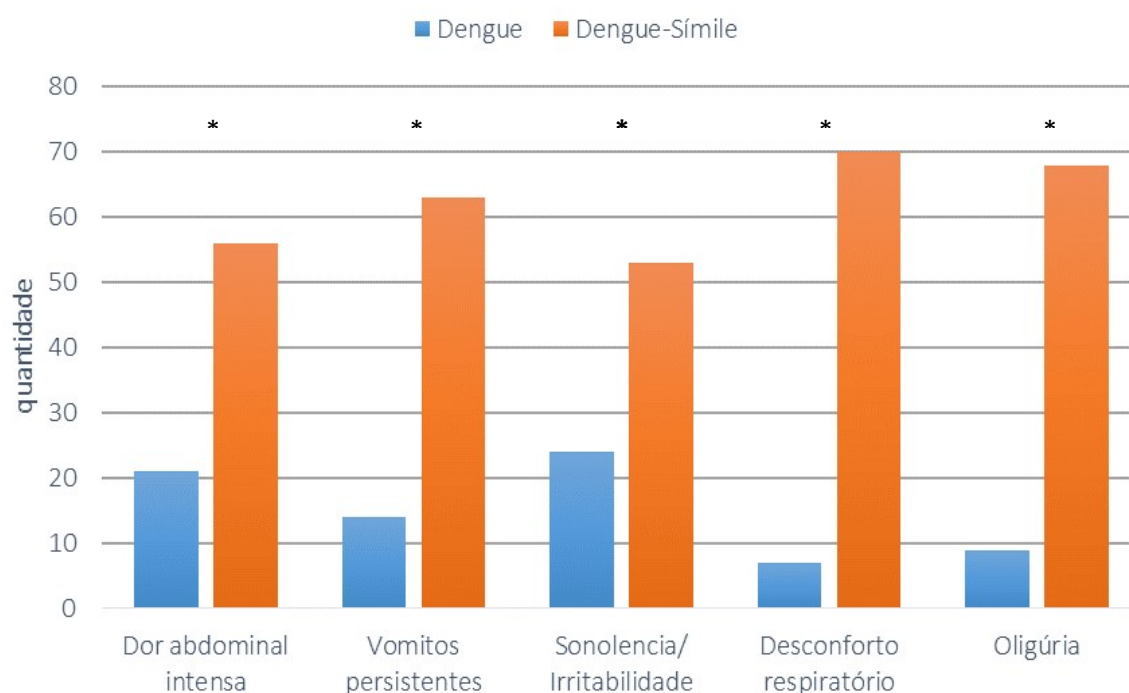
Mialgia	58	19	<b>&lt;0,001</b>
Artralgia	40	37	0,732
Prostração	45	32	0,138
Exantema	22	55	<b>&lt;0,001</b>
Náuseas	34	43	0,305
Rinorréia	16	61	<b>&lt;0,001</b>
Vômitos	29	48	<b>0,030</b>
Tosse	36	41	0,569
Meningismo	17	60	<b>&lt;0,001</b>
Expectoração	12	65	<b>&lt;0,001</b>
Diarreia	24	53	<b>0,001</b>
Prurido	22	55	<b>&lt;0,001</b>
Dor de garganta	59	19	<b>&lt;0,001</b>
Anorexia	34	43	0,305
Dor abdominal intensa	21	56	<b>&lt;0,001</b>
Vômitos persistentes	14	63	<b>&lt;0,001</b>
Sonolência/Irritabilidade	24	53	<b>0,001</b>
Desconforto respiratório	7	70	<b>&lt;0,001</b>
Oligúria	9	68	<b>&lt;0,001</b>

Fonte: Dados do pesquisador

A prova do laço foi realizada em 61,4% (70/114) dos participantes recrutados, 44(38,1%) destes não autorizaram a realização do teste, não sendo feito assim nestes pacientes. Dos testes realizados, 15 (21,4%) tiveram prova do laço positiva, destes, 7(46,7%) foram provenientes do HSJ e 8(53,3%) das UAPS. Os principais sinais de alarme encontrados foram a dor abdominal intensa, vômitos persistentes, sonolência/irritabilidade, desconforto

respiratório e oligúria. Estes sintomas foram comparados entre os participantes diagnosticados com dengue e os com dengue-símile, onde todos apresentaram diferença estatisticamente significativa (Gráfico 3).

Gráfico 3: Comparação da presença de sinais de alarme entre pacientes confirmados laboratorialmente para dengue e dengue-símile.



(\*) estatisticamente significativa

Fonte: Dados do pesquisador

### 4.3 Infecções pregressa

Todas as 114 amostras foram testadas para infecção pregressa para dengue, através do teste imunoenzimático ELISA IgG, obtendo uma positividade de 68 (59,6%). Porém, ao serem perguntados sobre uma infecção anterior, apenas 16 (23,5%) relataram uma infecção pregressa por dengue.

Os 68 participantes com IgG positivo foram classificados quanto à uma provável infecção primária ou secundária; destes, 55 (80,8%) encontravam-se com um possível quadro

de infecção secundária pelo vírus dengue, enquanto apenas 13 (19,1%) apresentava uma possível infecção primária.

Na tabela 5 fez-se a comparação entre o local e o grupo (IgM e IgG). O interesse foi verificar se existia certa predominância dos grupos em um dos locais considerados. Nota-se pela tabela que comparando a porcentagem de positivo no hospital e posto de saúde foi de 84,3% e 71,4%, respectivamente. Esse valor é bem próximo do total que foi de 77,2%. O valor do p calculado foi de 0,103, não significativo, evidenciando que essas quantidades são de fato iguais, comparando hospital e posto de saúde.

Tabela 5: Associação entre o local coletado e o grupo (IgM e IgG)

Local		Grupo		Total
		Positivo(*)	Negativo(**)	
Hospital	Frequência	43	8	51
	% no hospital	84,3%	15,7%	100,0%
Posto de Saúde	Frequência	45	18	63
	% no posto de saúde	71,4%	28,6%	100,0%
Total	Frequência	88	26	114
	% Total	77,2%	22,8%	100,0%

\*IgM: Positivo e IgG: Positivo

\*\*IgM: Positivo e IgG: Negativo

Fonte: Dados do pesquisador

## 5 DISCUSSÃO

A dengue é uma infecção de etiologia viral aguda, acometendo milhares de pessoas anualmente, podendo causar quadro clínico que vai de casos assintomáticos a casos mais graves (MARTINS *et al.*,2010). O diagnóstico preciso da doença é de fundamental importância para o direcionamento correto do tratamento clínico dos pacientes, para o desenvolvimento de medidas de controle contra a doença, diferenciação de outras infecções que possuem quadro clínico inicial semelhante e acompanhamento dos casos mais graves. Os casos suspeitos de dengue são confirmados através de diagnóstico laboratorial específico. Entretanto, em períodos epidêmicos, devido à grande quantidade de casos suspeitos, a confirmação é realizada somente pela análise dos critérios clínico-epidemiológicos (BRASIL, 2011).

Atualmente, existem inúmeras técnicas para confirmação da infecção por dengue, que varia entre testes moleculares, virológicos ou sorológicos, tendo cada um desses um período para realização que permitirá uma maior eficácia do teste. A detecção da glicoproteína NS1 é uma importante ferramenta para o diagnóstico da dengue, pois encontra-se abundante no soro do paciente infectado logo no início da fase aguda da doença, estando bastante conservada. Apesar de sua ampla utilização para identificação na fase aguda da doença (TEIXEIRA; BARRETO, 2009), ainda é necessário o aperfeiçoamento das técnicas existentes, visto que sua sensibilidade é menor do que a do teste imunoenzimático ELISA (FRY *et al.*, 2011).

No presente estudo, apenas 4/68 (5,6%) das amostras testadas foram positivas para o teste imunocromatográfico NS1, corroborando com estudo realizado por Fontes *et al.* (2014) onde a positividade encontrada foi de 9/93 ( 9,7%). Estudo realizado por Tricou *et al.* (2010) demonstrou que a eficácia do teste imunocromatográfico NS1 varia em relação a uma infecção secundária. O estudo realizado por Hang *et al.* (2009) sugere que esta negatividade do teste NS1 em uma infecção secundária pode ser ocasionada pela ligação dos anticorpos da classe IgG com a proteína NS1, visto que em pacientes em fase aguda com infecção secundária ocorre produção elevada de anticorpos IgG específicos através da ativação das células B de memória da infecção anterior pelo vírus dengue. Dos casos positivos no presente estudo, foi possível a detecção de casos do 1º ao 7º dia de sintomas.



Visto que o município de Fortaleza é uma região endêmica para o vírus dengue e nos anos de 2013 e 2014 já havia em circulação todos os sorotipos (CEARÁ, 2014), e que estudos sugerem que há diferença na sensibilidade do teste NS1, quando relacionado com o sorotipo viral, apresentando assim para o sorotipo 4 uma menor sensibilidade no teste chegando a 71% (BESSOF *et al.*, 2010), é provável que a população do presente estudo tenha tido um contato prévio com o DENV, podendo ocasionar possíveis resultados falso-negativos para essa técnica.

O ELISA IgM é o teste sorológico mais utilizado na rotina laboratorial, possuindo boa sensibilidade e especificidade, de simples execução e podendo ser realizado em qualquer laboratório de rotina. Contudo, para uma melhor eficácia do teste na detecção do anticorpo é indicado sua realização a partir do 5º dia de sintomas da doença, período no qual os níveis de anticorpos são detectáveis (WHO, 2009; GUZMAN *et al.* 2010). Porém, essa técnica possui diversas desvantagens, como: não diferencial do sorotipo infectante, baixa sensibilidade antes do 5º dia de sintomas, pode apresentar reação cruzada com epítomos comuns à outras espécies do gênero *Flavivirus*, ocorrendo principalmente em regiões onde ocorre co-circulação de dois flavivírus (PEELING *et al.*, 2010).

O teste imunoenzimático ELISA IgM foi realizado em todos os participantes do estudo e obteve uma maior positividade que o teste imunocromatográfico NS1, com positividade de 75/114 (65,7%). Apesar disso, como os anticorpos IgM permanecem em níveis detectáveis por até três anos, não é possível determinar com uma única amostra uma infecção pregressa ou atual (HUNSPERGER *et al.*, 2009). Estes resultados corroboram com o estudo realizado por Khan *et al.* (2009) onde de 226 participantes com suspeita clínica de dengue, em 117 (81,8%) foi possível a detecção do anticorpo IgM.

O teste conseguiu detectar a presença do anticorpo da classe IgM do 1º ao 12º dia de sintomas, no entanto, o período de coleta da maioria das amostras foram até o 7º dia de sintomas, com exceção dos participantes que se encontravam na enfermaria do HSJ que foi coletado até o 12º dia de sintomas. Este teste foi realizado no período que antecede o surto gerido pelo Ministério da Saúde, no intuito de avaliar uma detecção mais precoce do anticorpo IgM. Os dados do presente trabalho corroboram com o estudo realizado por Tontulawat *et al.* (2011) onde foi possível a detecção do anticorpo da classe IgM através da

técnica ELISA IgM a partir do 1º até o 24º dia de sintoma. O que sugere que o aumento da sensibilidade do teste está diretamente relacionado com os dias decorridos da doença.

Dos participantes positivos para dengue, em pelo menos uma das técnicas utilizadas no presente estudo, a faixa etária mais predominante foi a de adultos jovens, que compreende entre 20-39 anos, resultado semelhante foi encontrado por Araújo *et al.* (2002) onde a faixa etária mais acometida foi aquela com maior atividade produtiva. Calvacanti e colaboradores (2011) detectaram uma mudança nos padrões na idade dos pacientes com dengue, onde as crianças passam a ser as mais acometidas, possivelmente porque a população mais velha já tinha entrado em contato com o sorotipo circulante, adquirindo assim imunidade.

No presente estudo, foram pesquisados casos suspeitos de dengue de janeiro de 2013 a dezembro de 2014, os meses de maior número de casos confirmados para dengue foram abril, maio e junho, corroborando com o estudo realizado no Ceará onde o maior número de casos foi em junho (VASCONCELOS *et al.*, 1995). Apesar dos meses de abril, maio e junho terem sido os meses com maior número de recrutados, os meses com maior percentual de participantes positivos para dengue foram os meses de julho (11/12) com 91,66%.

Dos 78 participantes positivos para dengue, 41 (52,5%) eram provenientes do HSJ e 37 (47,4%) dos postos. Pode-se observar que dos pacientes positivos para dengue que se encontravam entre 1 à 7 dias de sintomas houve uma predominância de 88,5% dos recrutados nos postos, já nos pacientes recrutados no hospital o período da doença em que se encontravam foi entre 6 à 12 dias de febre com uma predominância de 70% .

Os sintomas mais relatados entre os participantes positivos para dengue no estudo foram: febre (100%), cefaleia (83,3%), mialgia (74,3%), dor retroorbitária (61,5%) e prostração (55,1%), resultado semelhante foi encontrado por Khan *et al.* (2008) onde os principais sintomas descritos foram a febre (100%), prostração (83%), mialgia (81%), cefaleia (75%) e anorexia (63%). Dos dados obtidos no presente estudo houve diferença estatisticamente significativa em relação à cefaleia, mialgia, exantema, rinorreia, meningismo, prurido, dor de garganta e expectoração, todos apresentando  $p < 0,001$ , à diarreia ( $p = 0,001$ ) e ao vômito e dor retroorbitária ( $p = 0,030$ ) entre os grupos dengue e dengue-símile.

Os achados do estudo não corroboram com os encontrados por Ahmed *et al.* (2008) onde encontrou-se apenas diferença estatística para cefaleia e mialgia entre os grupos dengue e dengue-símile. Pôde-se observar também que ocorreu uma diferença estatisticamente significativa entre a presença dos sinais de alarme, entre o grupo dengue e dengue-símile, sendo este com maior predominância, onde a dor abdominal intensa, vômitos persistente, desconforto respiratório e oligúria apresentando  $p < 0,001$  e sonolência/irritabilidade ( $p = 0,001$ ).

Para avaliar possíveis infecções pregressas pelo vírus dengue, foi realizado no presente estudo o teste imunoenzimático ELISA IgG, que detecta anticorpos específicos da classe IgG, que foi aplicado em todas as amostras do estudo. Das 114 amostras testadas houve uma positividade de 68 (59,6%). Porém, ao serem perguntados sobre uma infecção anterior, apenas 16 (23,5%) dos pacientes relataram uma infecção pregressa por dengue, podendo os demais participantes que não informaram terem tido quadro clínico assintomático ou leve, não sendo assim diagnosticados. Um inquérito sorológico realizado no Ceará em 1994 mostrou que 41% das infecções pelo vírus dengue são assintomáticas (VASCONCELOS *et al.*, 1998).

Os 68 participantes com IgG positivo foram classificados quanto a uma provável infecção primária ou secundária; destes, 55 (80,8%) encontravam-se com um possível quadro de infecção secundária pelo vírus dengue, enquanto apenas 13 (19,1%) apresentava uma possível infecção primária. Esta alta positividade mostra a situação encontrada no Estado do Ceará onde uma parte significativa da população já entrou em contato com o vírus dengue. Dados encontrados neste estudo corroboram com estudo realizado em 1994 por Vasconcelos e colaboradores onde 588 soros foram IgM reagentes e 495 (84,2%) pacientes apresentaram infecção secundária.

Das 114 amostras analisadas, 36 permaneceram sem diagnóstico, sendo classificadas como dengue-símile. Pode-se sugerir que estes participantes foram acometidos por outros agentes infecciosos que causam uma síndrome febril inespecífica semelhante ao apresentado pelo vírus dengue como leptospirose ou hantavirus e que não foram incluídas neste estudo.

Em resumo, foi observado no presente estudo uma alta incidência de pacientes com possível infecção secundária, mostrando uma ampla circulação do vírus no estado e demonstrando a necessidade de se aplicar ações efetivas para a contenção do agente transmissor

e conscientização da população através de mais medidas educativas. Também foi observado uma grande positividade de detecção de anticorpos IgM em amostras coletadas do 1º ao 7º dia de sintomas, sendo necessário mais estudos a cerca da utilização desta ferramenta de diagnóstico mais precoce, no intuito de obter um diagnóstico rápido, permitindo que este paciente seja conduzido de forma correta e impedindo que este evolua para quadros mais graves.

## 6 CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos no presente estudo pode-se concluir que:

- Entre os testes diagnósticos utilizados para detecção da dengue, o ELISA IgM apresentou uma maior positividade quando comparado ao imunocromatográfico NS1;
- Dentre o grupo inserido no estudo, a faixa etária mais atingida pela dengue no Ceará é a de jovens adultos;
- Da população do estudo 59,6% entrou em contato anteriormente com o vírus dengue;
- O período com maior incidência de casos confirmados foram os meses que corresponde um maior índice pluviométrico no Ceará.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, A.P. *et al.* Vector monitoring of *Aedes aegypti* in the autonomous region of Madeira, Portugal. **Eurosurveillance**, v.12, 2007.

ARAÚJO, T.P. *et al.* Diagnóstico sorológico de infecções por dengue e febre amarela em casos suspeitos do Estado do Pará, Brasil, 1999. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.35, p.579-584,2002.

ARAÚJO, F.M.C.; Vigilância virológica e sorológica de dengue no estado do Ceará nos anos de 2002 e 2003. **Dissertação (Mestrado em Patologia)**. Departamento de Patologia e Medicina Legal, Universidade Federal do Ceará, 2006, p. 140

ARAÚJO, F.M.C.; NOGUEIRA, R.M.R.; ARAÚJO, J.M.G.A.; RAMALHO, I.L.C.; RORIZ, M.L.F.S; *et al.* Concurrent infection with dengue virus type-2 and DENV-3 in a patient from Ceará, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** . v.101, p. 925-928, 2006.

ARUNACHALAM, N. *et al.* Natural vertical transmission of dengue viruse by *Aedes aegypti* in Chennai, Tamil Nadu, India. **Indian Journal Medical Research**, v. 127. P.395-397, 2008.

BARRETO, M.L.; TEIXEIRA, M.G. Dengue no Brasil: situação epidemiológica e contribuições para uma agenda de pesquisa. **Estudos Avançados**, v.22, p. 53-72, 2008.

BARROS, L.P.S. *et al.* Análise crítica dos achados hematológicos e sorológicos de pacientes com suspeita de dengue. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v.30, p.363-366, 2008.

BOLLATI, M.; ALVAREZ, K., ASSENBERG, R.; BARONTI, C; CANARD, B.; COOK, S.; et al. Structure and functionality in flavivirus NS-proteins: Perspectives for drug design. **Antiviral Research** . v. 87, p. 125-148, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Dengue: diagnóstico e manejo clínico – Adulto e Criança – 4.ed.** – Brasília, DF, 2011a.

\_\_\_\_\_. Ministério da Saúde. **Doenças Infecciosas e parasitárias: guia de bolso.** 8. ed. rev. – Brasília, DF, 2010.

\_\_\_\_\_. Portal da Saúde. Ministério da Saúde. **Situação Epidemiológica/Dados. Sala de Apoio à Gestão Estratégica.** Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/situacao-epidemiologica-dados> Acessado em: 05/02/2015, 20015.

CAVALCANTI, L.P. *et al.* Change in age pattern of persons with dengue, Northeastern Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v.17, p.132-134, 2011.

CEARÁ. Secretaria de Saúde do Estado. **Boletim Eletrônico Epidemiológico de Dengue.** Disponível em: <http://salasituacao.saude.ce.gov.br/index.php/menu-principal/dengue>. Acessado em: 25/11/2014.

CERQUEIRA, T.B. *et al.*, Renal involvement in leptospirosis – new insights into pathophysiology and treatment. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.12, p.248 – 252, 2008.

CHAMBERS, T.J. *et al.* Flavivirus genome organization, expression and replication. **Annual Review of Microbiology**, v.44, p. 649-688, 1990.

CHARTUVEDI, U.C.; DHAWAN, R.; MUKERJEE, R. Immunosuppression and cytotoxicity of dengue infection in the mouse model. In: **Dengue and dengue hemorrhagic fever**. Wallingford, UK: CAB Internacional, p.291-311, 1997.

CROOKS, A.J. *et al.* The NS1 protein of tick-borne encephalitis virus forms multimeric species upon secretion from the host cell. **Journal of General Virology**, v.75, p. 3453-3460, 1994.

DAHER, E.F. *et al.* Risk factors for death and changing patterns in acute renal failure of leptospirosis. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 61, p.630-634, 1999.

DANTÉS, H.G. ; WILLOQUET, J.R. , Dengue in the Americas : challenges for prevention and control. **Caderno de Saúde Pública**, v.25, p. 19-31,2009.

EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. Dengue worldwide: an overview of the current situation and the implications for Europe. **Eurosurveillance**, v. 12, 2007.

FERREIRA, M.L.B. *et al.* Manifestações Neurológicas de Dengue. **Arquivos de Neuropsiquiatria**, v.63, p. 488-493, 2005.

FERREIRA, G.P. *et al.* Dengue virus 3 clinical isolates show different patterns of virulence in experimental mice infection. **Microbes Infect.**, v.7, p.546-549, 2010.



FLAMAND, M. et al. Dengue virus type-1 nonstructural glycoprotein NS1 is secreted from mammalian cell as a soluble hexamer in a glycosylation-dependent fashion. **Journal of Virology**, v.73, p. 6104-6110, 1999.

FRY, S.R.; MEYER, M.; SEMPLE, M.G.; SIMMONS, C.P.; SEKARAN, S.D.; HUANG,X.G.; *et al.* The diagnostic sensitivity of dengue rapid test assays is significantly enhanced by using a combined antigen and antibody testing approach. **Plos Neglected Tropical Disease** v.5, p 1199, 2011.

GÓMEZ-DANTÉS, H.;WILLOQUET,J.R. Dengue in the Americas: challenges for prevention and control. **Caderno de Saúde**, v.25,p.19-31,2009.

GUBLER, D.J. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 11, p.480-496, 1998.

GUZMÁN, M.G.; KOURI, G., Advances in Dengue Diagnosis. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology** v.3, p. 621-627, 1996.

GUZMAN, M.G.; KOURI,G. Dengue: an update. **Lancet Infectious Diseases**, v.2, p.33-42, 2002.

GUZMAN, M.G. *et al.* Effect of age on outcome of secondary dengue 2 infections. **Internacional Journal of Infectious Diseases**, v.6, p.118-124, 2002.

GUZMÁN, M.G.; KOURI, G., Dengue diagnosis, advances and challenges. **International Journal of Infectious Diseases**, v.8, p.69-80, 2004.

GUZMAN, A., ISTÚRIZ, R.E., Update on the global spread of dengue. **International Journal of Antimicrobial Agents**. v36, p40-42, 2010.

GUZMÁN, M.G.; HALSTEAD, S.B.; ARTSOB, H.; BUCHY, P.; FARRAR, J.; GUBLER, D.J.; et al., **Dengue: a continuing global threat**. **Nature Reviews**, v.8, p. 7-16, 2010.

HALSTEAD, S.B., Pathogenesis of Dengue Challenges to Molecular Biology. **Science** v. 239, p. 476-480, 1988.

HEMUNGKORN, M.; THISYAKORN, U.; THISYAKORN, C., Dengue infection: A growing global health threat. **BioScience Trends**, v.1, p.90-96, 2007.

HENCHAL, E.A. *et al.* Rapid identification of dengue virus isolates by using monoclonal antibodies in an indirect immunofluorescence assay. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.32, p. 164-169, 1983.

HENCHAL, E.A.; PUTNAK, R. The dengue viruses. **Clinical Microbiology Reviews**, v.3, p.376-396, 1990.

HUNSPERGER, E.A. *et al.* Evaluation of commercially available anti-dengue virus immunoglobulin M tests. **Emerging Infectious Diseases**, v.15, p.436- 440, 2009.

JESSIE, K. *et al.* Localization of dengue virus in naturally infected human tissues, by immunohistochemistry and in situ hybridization. **Journal of Infectious Diseases**, v. 189, p. 1411-1418, 2004.

JUNJHON, J. *et al.* Influence of pr-M cleavage on the heterogeneity of extracellular dengue virus particles. **Virology Journal**, v. 84, p. 8353-8358, 2010.

KALAYANAROOJ, S.; VAUGHN, D.W.; NIMMANNITYA, S.; GREEN, S.; SUNTAYAKORN, S.; KUNENTRASAI, N.; et al., Early Clinical and Laboratory Indicators of Acute Dengue Illness. **The Journal of Infectious Diseases** v.176, p. 313-21, 1997.

KHAN, E. et al. Evaluation of two ELISA Assay Kits against RT-PCR for diagnosis of dengue virus infection in a hospital setting in Karachi, Pakistan. **The Journal of the Pakistan Medical Association**, v.59, p.390-394, 2009.

KONEMAN, E.W.; ALLEN S.D.; JANDA, W.M.; SCHERECKENBERGER, P.C.; WINN, Jr., W.C. **Diagnóstico Microbiológico: Texto e Atlas Colorido**. 5ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 2001.

KUMARASAMY, V. et al. Evaluating the sensitivity of a commercial dengue NS1 antigen capture ELISA for early diagnosis of acute dengue virus infection. **Singapore Medical Journal**, v. 48, p. 669, 2007.

LEI, H.Y.; HUANG, K.J.; YEH, T.M.; LIU, H.S.; LIU, C.C. Immunopathogenesis of Dengue Hemorrhagic Fever. **American Journal of Infectious Diseases** v.4, p. 1-9, 2008.

LINDENBACH, B.D.; THIEL, H.J.; RICE, C.M. **Fields virology**. 5<sup>o</sup> ed. Philadelphia: Lippincott William, p. 1101-1151, 2007.

LODEIRO, M.F.; FILOMATORI, C.V.; GAMARNIK, A.V. Structural and Funcional Studies of the Promoter Element for Dengue Virus RNA Replication. **Journal of Virology**, v. 83, p. 993-1008, 2009.

LUPI, O.; CARNEIRO, C. G.; COELHO, I. C. B. Manifestações mucocutâneas da dengue. **An. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro, v.82, n.4, July/Aug., 2007.

MACKENZIE, J.M.; JONES, M.K.; YOUNG, P.R. Immunolocalization of the dengue virus nonstructural glycoprotein NS1 suggests a role in viral RNA replication. **Virology**, v.220, p.232-240, 1996.

MARTINS, V.E.P. et al. Primeiro registro de *Aedes (Stegomyia) albopictus* no Estado do Ceará, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 40, p. 737-739, 2006.

MARTINS, V.E.P. et al. Distribuição espacial e características dos criadouros de *Aedes albopictus* e *Aedes aegypti* em Fortaleza, Estado do Ceará. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.43, p.73-77, 2010.

MEIRA, R. “Urucubaca” gripe ou dengue? Dengue. In: **Clínica Médica**. São Paulo: Gráfica O Estado de São Paulo, p. 273-85, 1916.

MILLER, J.L. et al. The mannose receptor mediates dengue virus infection of macrophages. **PLoS Pathogens**, v.4, p.17, 2008.

MORIKAWA, VM. **Centro de Controle de Zoonoses e vetores**/Prefeitura Municipal de Curitiba. Disponível em: [www.zoonoses.org.br/.../1629\\_crmv-pr\\_manual-zoonoses\\_leptospirose](http://www.zoonoses.org.br/.../1629_crmv-pr_manual-zoonoses_leptospirose). Acessado em 05/02/15.

MOUSSON L. ; DAUGA C. ; GARRIGUES T. ; SCHAFFNER F. ; VAZEILLE M. ; FAILLOUX A.B.; Phylogeography of *Aedes (Stegomyia) aegypti* (L.) and *Aedes*

(*Stegomyia albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) based on mitochondrial DNA variations. **Genet. Res.** V.86, p. 1-11, 2005.

NAVARRO-SANCHEZ, E. et al. Dendritic-cell-specific ICAM3-grabbing non-integrin is essential for the productive infection of human dendritic cells by mosquito-cell-derived dengue viruses. **European Molecular Biology Organization Journal**, v.4, p.723-728, 2003.

OLIVEIRA, E.C.L. et al. Alterações hematológicas em pacientes com dengue. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42(6), p.682-685, 2009.

OPS, DENGUE: **Guías de atención para enfermos en la región de las Américas**. La Paz: OPS/OMS, 2010.

PEELING, R.W. et al. Evaluation of diagnostic tests: dengue. **Nature Reviews Microbiology**, v.8, p. 30-38, 2010.

PEREIRA, R.; KUHN, R.J. Structural proteomics of dengue virus. **Current Opinion in Microbiology**, v.11, p. 369-377, 2008.

PLANK, R.; DEAN, D. Overview of the epidemiology, microbiology and pathogenesis of *Leptospira* spp. in humans. **Microbes and Infection**, v.2, p.1265-1276, 2000.

ROTHMAN, A.L. Immunity to dengue virus: A tale original antigenic sin and tropical cytokine storms. *Nature Reviews*. **Immunology** v.11, p.532-543, 2011.

SAN MARTÍN, J.L.; BRATHWAITE, O.; ZAMBRANO, B.; SOLÓRZANO, J.A.; BOUCKENOOGHE, A.; DAYAN, G.H.; GUZMÁN, M.G. The Epidemiology of Dengue

in the Americas Over the Last Three Decadas : A Worrisome Reality. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 82, p.128-135, 2010.

SANTOS, H.W.G. *et al.* A Simple One-Step Real RT-PCR for Diagnosis of Dengue Virus Injection. **Journal of Medical Virology**, v.80, p. 1433, 2008.

SCHLESINGER, J.J. *et.al.*Cell surface expression of yellow fever virus non-estructural glycoprotein NS1: consequences of interaction with antibody. **Journal of General Virology**, v.71, p.593-599,1990.

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DE SÃO PAULO. Coordenação dos Institutos de Pesquisa Centro de Vigilância Epidemiológica "Prof. Alexandre Vranjac". Dengue - Informe Técnico. Disponível em: <[http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/zoo/dengue\\_inf2103.htm](http://www.cve.saude.sp.gov.br/htm/zoo/dengue_inf2103.htm) > Acesso em 20 jun. 2011.

SENEVIRATNE, S.L. *et al.* Pathogenesis of liver involvement during dengue viral infection. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.100, p. 608-614, 2006.

SESA, 2011. Secretaria da Saúde do Ceará. **Informe Epidemiológico de Leptospirose**, 2011.

\_\_\_\_\_,2014. Secretaria de Saúde do Estado. **Boletim Eletrônico Epidemiológico de Dengue**. Disponível em <http://salasituacao.saude.ce.gov.br/index.php/menu-principal/dengue>. Acessado em: 10 mar. 2014.

SHU, P.Y.; HUANG, J.H. Current advances in dengue diagnosis. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v.11, p. 642-650, 2004.

SILVA, F.G.; SILVA, S.J.S.; ROCCO, I.M.; SILVEIRA, V.R.; SUZUKI, A.; KATZ, G.; *et al.* Avaliação de kits comerciais para detecção de antígenos NS1-dengue - São Paulo. **Bepa** v.8, p.14-26, 2011.

SOUSA C.A. *et al.* Ongoing outbreak of dengue type 1 in the Autonomous Region of Madeira, Portugal: preliminary report, **Eurosurveillance**, v.17, p.8-11, 2012.

SOUZA, R.V. *et al.* An outbreak of dengue in the state of Ceará, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.90, p.345-346, 1995.

STEPHENS, H.A. *et al.* HLA-A and –B allele associations with secondary dengue virus infections correlate with disease severity and the infecting viral serotype in ethnic Thais. **Tissue Antigens**, v.60, p.309-318, 2002.

TONTULAWAT, P. *et al.* Evaluation of rapid immunochromatographic NS1 test, anti-dengue IgM teste, semi-nested PCR and ELISA FOR DETECTION OF DENGUE VIRUS. **The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v. 42, 2011.

TRICOU, V.; VU, H.T.T.; QUYNH, N.VN.; NGUEYN, C.VV.; 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** 10: 142, 2010.

VASCONCELOS, P.F.C. *et al.* A large epidemic of dengue fever with dengue hemorrhagic cases in Ceara state, Brazil, 1994. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.37, p. 253-255, 1995.

VELATHANTHIRI, V.G.N.S.; FERNANDO, S.; FERNANDO, R.; MALAVIGE, G.N.; PEELAWATHTHAGE, M.; JAYARATNE, S.D.; AASKOV, J. Comparison of serology,

virus isolation and RT-PCR in the diagnosis of dengue viral infections in Sri Lanka. **Dengue Bulletin** v. 30, p. 191-196, 2006.

VERDEAL, J.C.R. *et al.* Recomendações para o manejo de pacientes com formas graves de dengue. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v.23, p. 125-133, 2011.

VERNEL-PAUILLAC, F., MERIEN F. Proinflammatory and immunomodulatory cytokine mRNA Time Course Profiles in Hamsters Infected with a virulent Variant of *Leptospira interrogans* **Infect. Immun** v.6 p. 4172-4179, 2006.

VORNDAM, A.V.; KUNO, G. Laboratory diagnosis of dengue virus infection. In: **Dengue and dengue hemorrhagic fever**. New York: CAB International, 1997.

WATTS, D.M.; PORTER, K.R.; PUTVATANA, P.; VASQUEZ, B.; CALAMPA, C.; HAYES, C.G.; HALSTEAD, S.B. Failure of secondary infection with American genotype dengue 2 to cause dengue hemorrhagic fever. **The Lancet**, v.354, p. 1431-1434, 1999.

WHO. Dengue. **Guidelines for treatment, prevention and control** – New edition. Geneva: WHO, 2009.

WU, S.J. *et al.* Human skin Langerhans cells are targets of dengue virus infection. **Nature Medicine**, v.6, p.816-820, 2000.

XU, H. *et al.* Serotype 1-specific monoclonal antibody-based antigen capture immunoassay for detection of circulating nonstructural protein NS1: Implications for early diagnosis and serotyping of dengue virus infection. **Journal of Clinical Microbiology**, v.44, p.2872-2978, 2006.



YOUNG, P.R. *et al.* An antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay reveals high levels of the dengue virus protein NS1 in the sera of infected patients. **Journal of Clinical Microbiology**, v.38, p.1053-1057, 2000.

ZOU, G. *et al.* Funcional Analysis of two cavities in flavivirus NS5 polymerase. **The Journal of Biological Chemistry**, v.286, p. 14362-14372, 2011.

## APÊNDICE A

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO - TCLE ADULTO

Coordenador do Projeto: Dra. Danielle Malta Lima

#### CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO

(1ª via do pesquisador, 2ª via do paciente)

A dengue é uma doença causada por um vírus, o vírus dengue, e acomete milhões de pessoas no mundo inteiro. No Brasil, a dengue vem aumentando a cada ano e apesar da grande quantidade de estudos já realizados, ainda existem muitas dúvidas a respeito da doença. Essa pesquisa tem como objetivo estudar os casos suspeitos de dengue e os casos negativos para dengue será realizado o diagnóstico para: leptospirose, hantavírus, oropouche, mayaro e febre amarela. Gostaríamos de convidá-lo a participar deste trabalho que estamos desenvolvendo. Caso concorde em participar do estudo, você deverá apenas permitir a realização de uma entrevista, seguida da coleta de 2 amostras de sangue (contendo 5ml de sangue) que vai durar no máximo 1/2 h. E uma segunda coleta será necessária depois de cinco dias contando da data da sua primeira coleta. O único desconforto será a picada da agulha, e em alguns casos poderá ocorrer à formação de um pequeno hematoma (mancha roxa) no local de onde foi retirado o sangue. Entretanto, faremos todo o possível para que isto não aconteça. Em resumo, neste estudo não está previsto nenhum tipo de dano, e poderá ajudar a entender melhor de que modo o vírus dengue age no organismo humano. As amostras de sangue serão enviadas para o laboratório de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, e o resultado do exame lhe será comunicado assim que possível. As amostras de sangue serão utilizadas apenas para esta a pesquisa. Sua participação é voluntária, e sua identidade será preservada e não aparecerá em momento algum nos resultados do estudo. Não há obrigatoriedade alguma em participar deste estudo. Se você decidir não participar, o seu seguimento e tratamento nesta unidade não sofrerão prejuízo algum. Você não receberá nenhum pagamento por sua participação nesta investigação, mas você estará ajudando a entender melhor sobre essa doença. Qualquer dúvida, favor entrar em contato com a Dra. Danielle Malta Lima no Mestrado de Saúde Coletiva da Universidade de Fortaleza (Unifor)

pelo telefone (0xx85) 3477-3280 ou no Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Fortaleza (Unifor) localizado na Av. Washington Soares, 1321- Bairro Edson Queiroz, de segunda feira a sexta-feira das 8h às 12h e de 13h30 às 18h pelo telefone (85) 3477-3122.

Declaro que recebi uma cópia deste termo de consentimento e me foi dada à oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas. Reconheço que a minha participação é voluntária.

De acordo:

Nome do paciente:

Assinatura do paciente:

Testemunha: \_\_\_\_\_

Pesquisador: \_\_\_\_\_

Assinatura do pesquisador: \_\_\_\_\_

Telefones para contato: \_\_\_\_\_ Paciente

Fortaleza, \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_ Impressão digital

#### OBSERVAÇÃO

Esse TCLE foi elaborado respeitando às Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas Envolvendo Seres Humanos (Resolução CNS 196/96), ora vigentes no Brasil.

## APÊNDICE B

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO - TCLE INFANTIL

Coordenador do Projeto: Dra. Danielle Malta Lima

#### TERMO DE CONSENTIMENTO PARA PACIENTES MENORES DE 18 ANOS

(1ª via do pesquisador, 2ª via do paciente)

A dengue é uma doença causada por um vírus, o vírus dengue, e acomete milhões de pessoas no mundo inteiro. No Brasil, a dengue vem aumentando a cada ano e apesar da grande quantidade de estudos já realizados, ainda existem muitas dúvidas a respeito da doença. Essa pesquisa tem como objetivo estudar os casos suspeitos de dengue e os casos negativos para dengue será realizado o diagnóstico para: leptospirose, hantavírus, oropouche, mayaro e febre amarela. Gostaríamos de convidar o(a) menor a participar desta pesquisa que estamos realizando. Caso o(a) menor concorde em participar do estudo, e o(a) responsável permita sua participação, o(a) menor deverá apenas permitir a realização de uma entrevista, seguida de um exame físico e a coleta de 2 amostras de sangue (contendo 5 ml de sangue) que vai durar no máximo 1/2 h. E uma segunda coleta será necessária depois de cinco dias contando da data da sua primeira coleta. O único desconforto será a picada da agulha, e em alguns casos poderá ocorrer à formação de um pequeno hematoma (mancha roxa) no local de onde foi retirado o sangue. Contudo, faremos todo o possível para que isto não aconteça. As amostras de sangue serão enviadas para o laboratório de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, e o resultado do exame lhe será comunicado assim que possível. As amostras de sangue serão utilizadas apenas para esta a pesquisa. Sua participação é voluntária, e sua identidade será preservada e não aparecerá em momento algum nos resultados do estudo. Não há obrigatoriedade alguma em participar deste estudo, se você decidir não participar, o seu seguimento e tratamento nesta unidade não sofrerão prejuízo algum. Você não receberá nenhum pagamento por sua participação nesta investigação, mas você estará ajudando a entender melhor sobre essa doença. Qualquer dúvida, favor entrar em contato com a Dra. Danielle Malta Lima no Mestrado de Saúde Coletiva da Universidade de Fortaleza (Unifor) pelo telefone (0xx85) 3477-3280 ou no Comitê de Ética em Pesquisa da

Universidade de Fortaleza (Unifor) localizado na Av. Washington Soares, 1321- Bairro Edson Queiroz, de segunda feira a sexta-feira das 8h às 12h e de 13h30 às 18h pelo telefone (85) 3477-3122. Mais uma vez, informamos que a participação neste estudo é completamente voluntária e você pode deixá-lo a qualquer momento.

Declaro que recebi uma cópia deste termo de consentimento e me foi dada à oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas. Reconheço que a minha participação é voluntária.

De acordo:

Nome da Criança:

Idade: \_\_\_\_\_

R.G. \_\_\_\_\_

Responsável legal: \_\_\_\_\_

R.G. Responsável legal: \_\_\_\_\_

Testemunha: \_\_\_\_\_

Pesquisador: \_\_\_\_\_

Assinatura do pesquisador: \_\_\_\_\_

Telefones para contato: \_\_\_\_\_

#### DECLARAÇÃO

Eu, \_\_\_\_\_, RG nº \_\_\_\_\_, responsável legal por

\_\_\_\_\_, RG nº \_\_\_\_\_ declaro ter sido informada e concordar com a nossa participação, como voluntários, no projeto de pesquisa acima descrito.

Fortaleza, \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

#### OBSERVAÇÃO

Esse TCLE foi elaborado respeitando às Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas Envolvendo Seres Humanos (Resolução CNS 196/96), ora vigentes no Brasil.

Paciente Impressão digital

**APÊNDICE C**  
**QUESTIONÁRIO CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO**

Data da consulta \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_\_

Número \_\_\_\_\_

MÉDICO: Dr.(a) \_\_\_\_\_

## Projeto Dengue 2014

### Ficha de Avaliação Inicial (1º ao 5º dia)

Nome: \_\_\_\_\_

Sexo: \_\_\_\_\_ Data de Nascimento: \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_ Profissão: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_ Bairro: \_\_\_\_\_

Cidade: \_\_\_\_\_ Estado: \_\_\_\_\_ Telefone: ( ) \_\_\_\_\_

OBS: Autoriza a ligação para sua residência para informar os resultados dos exames:  Sim  Não

Autoriza a realização da 2ª coleta em sua residência:  Sim  Não

#### Critérios de inclusão:

- Febre  $\leq$  5 dias?  Sim  Não      Data início da febre: \_\_\_ / \_\_\_
- Internado no HSJ?  Sim  Não      Data início da febre: \_\_\_ / \_\_\_
- Mínimo de 2 dos critérios abaixo (assinale):
  - Cefaleia     Dor retroorbitária     Náuseas     Vômitos     Mialgias
  - Artralgias     Petéquias     Exantema     Leucopenia     Prova do laço positiva

#### Critérios de exclusão:

- Uso de imunossupressores       Não concordou
- Possuir sinais de localização que sugiram outra etiologia (ex: influenza, gastroenterite,

amigdalite,etc)

**É vacinado contra febre amarela?**

Não  Sim (Há quantos anos?): \_\_\_\_\_  Não informado

**Antecedentes:**

- Dengue Período: \_\_\_\_\_ Internação?  Sim  Não Data: \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_
- Familiares/vizinhos com sintomas semelhantes  Contato com ratos/enxurradas
- Viagem nos últimos 30 dias Local: \_\_\_\_\_ Período: \_\_\_\_\_
- HAS  Cardiopatia  IRA/IRC  DM  DPOC  Asma  Anemia falciforme
- HIV/Aids  Doença péptica  Auto-ímmunes  Outros: \_\_\_\_\_
- RG HSJ: \_\_\_\_\_  AINE  Anti-agregantes  Anticoagulantes
- Anti-hipertensivo

**1. Manifestações clínicas:**

- Desidratação  Edema  Derrame pleural  Ascite  Prurido
- Anorexia  Náuseas  Vômitos  Meningismo  Diarréia
- Icterícia  Palpitações  Rinorréia  Tosse  Expectoração
- Dispnéia  Dor de garganta  Outras: \_\_\_\_\_

**Prova do laço**

Positiva  Negativa  Não realizado, motivo: \_\_\_\_\_

**2. Sinais de alarme:**  Não

- Dor abdominal intensa e contínua  Dor a palpação do abdomen
- Vômitos persistentes  ↓ PA postural/lipotímia

- Letargia/irritabilidade
- Hepatomegalia > 2cm
- ↑ progressivo hematócrito
- Sangramento de mucosas
- Acumulação de líquido (ascites, derrame pleural e pericárdico)

**3. Sinais de gravidade:**  Não

Choques - Extravasamento grave de plasma evidenciado por taquicardia, extremidades frias e tempo de enchimento capilar igual ou maior a três segundos, pulso débil ou indetectável, pressão diferencial convergente  $\leq 20$  mm Hg; hipotensão arterial em fase tardia, acumulação de líquidos com insuficiência respiratória.

Sangramento grave - segundo a avaliação do médico como: hematêmese, melena, metrorragia volumosa, sangramento do sistema nervoso central. Qual: \_\_\_\_\_

Comprometimento grave de órgãos - dano hepático importante (AST o ALT > 1000), sistema nervoso central (alteração da consciência), coração (miocardite) ou outros órgãos. Qual: \_\_\_\_\_

**Tabela de achados clínicos e laboratoriais:**

<b>Dados/Data</b>							
<b>Peso (Kg)</b>							
<b>Pulso</b>							
<b>Temp</b>							
<b>PA<sub>decúbito</sub></b>							
<b>PA<sub>ortostase</sub></b>							



<b>Capilar (s)</b>							
<b>Freq. Resp</b>							
<b>Hb (g/dL)</b>							
<b>Ht (%)</b>							
<b>GB (x10<sup>3</sup>)</b>							
<b>Bastões (%)</b>							
<b>Seg (%)</b>							
<b>Linfo (%)</b>							
<b>Plaq (x10<sup>3</sup>)</b>							
<b>TGO/AST</b>							
<b>TGP/ALT</b>							
<b>BT</b>							
<b>BD</b>							
<b>BI</b>							
<b>Albumina</b>							
<b>Uréia</b>							
<b>TAP (INR)</b>							
<b>TPTA</b>							
<b>Creatinina</b>							
<b>Sódio</b>							
<b>Potássio</b>							

pH (A ou V)							
pO <sub>2</sub> (FiO <sub>2</sub> )							
pCO <sub>2</sub>							
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>							
BE							

**Raio X de tórax:**  normal     não realizado     alterado \_\_\_\_\_

**US abdome:**  normal     não realizado     alterado \_\_\_\_\_

**Outros**

**exames:** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**Classificação inicial (Ministério da Saúde):**

Grupo A     Grupo B     Grupo C     Grupo D

Observações: \_\_\_\_\_

**Classificação final (Ministério da Saúde):**

Dengue     Dengue com sinais de alarme     Dengue grave