



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

ALMIRA MARIA MONTEIRO GOMES

**AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS NO
DIAGNÓSTICO DE PACIENTES COM SUSPEITA DE DENGUE EM
FORTALEZA - CEARÁ, 2010.**

FORTALEZA
2012

ALMIRA MARIA MONTEIRO GOMES

AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS NO DIAGNÓSTICO
DE PACIENTES COM SUSPEITA DE DENGUE EM FORTALEZA - CEARÁ, 2010.

Dissertação submetida à Coordenação do
Curso de Pós-Graduação em Patologia da
Universidade Federal do Ceará como requisito
parcial para a obtenção do título de Mestre em
Patologia.

Orientadora: Profa. Dra^a. Danielle Malta Lima.

Co-orientador: Prof. Dr. Jeová Keny Baima
Colares.

FORTALEZA
2012

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

-
- G612a Gomes, Almira Maria Monteiro.
Avaliação dos aspectos clínicos e laboratoriais no diagnóstico de pacientes com suspeita de dengue em Fortaleza - Ceará, 2010/ Almira Maria Monteiro Gomes. – 2012.
99 f. : il.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Departamento de Medicina e Patologia Legal, Programa de Pós-Graduação em Patologia, Fortaleza, 2012.
Área de Concentração: Patologia.
Orientação: Profª. Dra. Danielle Malta Lima.
Coorientação: Prof. Dr. Jeová Keny Baima Colares.
1. Dengue - Complicações. 2. Dengue - Diagnóstico. 3. Febre Hemorrágica da Dengue. I. Título.

CDD:614.58852

ALMIRA MARIA MONTEIRO GOMES

AVALIAÇÃO DOS ASPECTOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS NO DIAGNÓSTICO
DE PACIENTES COM SUSPEITA DE DENGUE EM FORTALEZA - CEARÁ, 2010.

Dissertação submetida à Coordenação do
Curso de Pós-Graduação em Patologia da
Universidade Federal do Ceará, como requisito
parcial para a obtenção do título de Mestre em
Patologia.

Aprovada em ___/___/_____

BANCA EXAMINADORA

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

Profa. Dra. Romélia Pinheiro Gonçalves
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Maria Izabel Florindo Guedes
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

Dra. Fernanda Montenegro de Carvalho Araújo
Laboratório Central de Saúde Pública do Ceará (LACEN)

Aos meus pais, pelo exemplo, pelos ensinamentos e por terem estado sempre ao meu lado, principalmente nos momentos mais difíceis da jornada.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que é a razão do meu existir.

Aos meus pais que sempre acreditaram em mim e me apoiaram em toda a minha jornada.

Ao João, que, apesar das adversidades do nosso caminho, esteve ao meu lado.

Ao Paulo Ernesto, à Ana Livia e à Ana Letícia, minha fonte constante de inspiração.

À professora Danielle Malta, que, com sua doçura e paciência, soube orientar-me tão bem.

Ao professor Keny Colares que me abriu as portas do Hospital São José.

Aos funcionários e residentes do Hospital São José e do Hospital Nossa Senhora da Conceição, em especial da Emergência e do Laboratório, que confiaram em mim e acreditaram na grandeza do projeto.

A Laiane, Dyana, Naiara, Marilúcia, Marcilene, Raissa e André, que sempre dispuseram de seu precioso tempo para me ajudar.

À enfermeira Silvana, que permitiu a coleta de exames nos pacientes do Hospital Nossa Senhora da Conceição.

Aos pacientes que, apesar da fragilidade do seu estado, estavam sempre dispostos a cooperar com o projeto, servindo-me de exemplo quando adoeci com a dengue.

Aos funcionários do Departamento de Patologia e Medicina Legal, em especial à Paula pela sua disponibilidade em ajudar e ao Laboratório de Parasitologia.

Aos professores, que souberam com maestria administrar tão bem suas disciplinas.

Aos meus colegas de plantão que compreenderam e ajudaram a conciliar meu emprego com o mestrado.

Aos professores de estatística Vaguinaldo, Ajax, Manuel, Cristiano e em especial ao meu filho, Paulinho.

À FUNCAP pelo financiamento.

“Ser matemático ou físico não é olhar para baixo, para um papel, escrever com um lápis números, apagá-los, recontá-los... Ser matemático ou físico é olhar para dentro do problema e crer incansavelmente que existe uma solução inspirada não pela ciência pura, em si mesma. Mas inspirada pelo Dono da ciência, que é o Deus da Sabedoria”.

(Albert Einstein)

RESUMO

A dengue é transmitida por mosquitos hematófagos do gênero *Aedes* das espécies *aegypti* e *albopictus*. O vírus dengue (DENV) pertence à família *Flaviviridae* do gênero *Flavivirus* e possui quatro sorotipos que foram designados como: DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4. A doença pode manifestar-se como uma enfermidade infecciosa aguda, caracterizada por um amplo espectro clínico que varia desde formas de infecção assintomática ou febre indiferenciada até as formas graves, com hemorragia e/ou choque. Este estudo apresentou como objetivo descrever os aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais de pacientes com suspeita de dengue atendidos no Hospital São José de Doenças Infecciosas (HSJ) e no Hospital Nossa Senhora da Conceição (HDNSC) no período de fevereiro a dezembro de 2010. Dessa forma, foram recrutados 93 pacientes, sendo que, 86 preencheram os critérios de inclusão. Os pacientes foram recrutados por busca ativa nas emergências e nas enfermarias dos referidos hospitais e submetidos a um protocolo de acompanhamento por meio de uma ficha de avaliação clínica inicial (1º ao 5º dia de doença) e de uma ficha de avaliação subsequente (6º ao 7º dia de doença). Foram realizadas pelo menos duas mensurações de hematócrito, plaquetas, além de exames bioquímicos e exames específicos para dengue. Os sinais e os sintomas mais prevalentes nos pacientes com suspeita de dengue foram: febre, cefaleia e mialgia. Vinte e cinco pacientes (29%) apresentavam manifestações hemorrágicas espontâneas, sendo que, as hemorragias cutâneas (petéquias e equimoses) foram as mais encontradas (15%). Quando avaliada a população feminina em idade reprodutiva, 6% apresentaram metrorragia. A prova do laço foi realizada em 80 pacientes, sendo positiva em 20 pacientes (25%). Dos 86 pacientes, 48 (55,8%) foram positivos para dengue por pelo menos uma das técnicas: imunocromatografia NS1 (16%), RT-PCR (19%), ELISA IgM (44%), imunocromatografia IgM (42%) e ELISA NS1 (27%). O vírus dengue foi detectado em 16 pacientes, sendo, DENV-1 em 1 paciente (6,2%), DENV-2 em 14 pacientes (87,5%) e DENV-3 em 1 paciente (6,2%). Vinte e seis pacientes (54,1%) preencheram os critérios do Ministério da Saúde (MS) de Dengue Clássica (DC), 10 (20,8%) de Febre Hemorrágica de Dengue (FHD) e 12 (25%) de Dengue com Complicação (DCC). A relação entre sexo feminino e masculino foi de aproximadamente 1,1/1, com predomínio maior de adultos jovens. Quanto ao critério de gravidade do MS, 60% dos casos suspeitos de dengue foram classificados como grau II e nenhum caso como grau IV. Dos critérios de extravasamento plasmático preconizado pelo MS, a hipoalbuminemia esteve presente em 5 pacientes (10,4%). A queda do hematócrito acima de 20% após hidratação foi observada em apenas 4 pacientes (8,3%). No período do estudo, foram diagnosticados dois pacientes com dengue e leptospirose, sendo que um paciente complicou com púrpura trombocitopênica idiopática, esses pacientes tiveram evolução benigna. Portanto salientamos a necessidade de um diagnóstico precoce, antes do desenvolvimento das manifestações graves, de políticas de erradicação do *Aedes* e da estruturação de um serviço de referência.

Palavras-chave: Dengue. Diagnóstico. Exames Inespecíficos e Específicos. Dengue clássica. Dengue hemorrágica. Dengue com complicações.

ABSTRACT

Dengue is transmitted by blood-sucking mosquitoes of the species of the genus *Aedes aegypti* and *albopictus*. Dengue virus (DENV) belongs to the genus *Flavivirus* of the *Flaviviridae* family and has four serotypes that were designated as: DENV-1, DENV-2, DENV-3 and DENV-4. The disease can manifest as an acute infectious disease characterized by a wide clinical spectrum ranging from asymptomatic forms of infection or undifferentiated fever to severe forms, with bleeding and / or shock. This study had as objective to describe the epidemiological, clinical and laboratory features of patients with suspected dengue fever treated at the St Joseph Hospital of Infectious Diseases (HSJ) and the Hospital Nossa Senhora da Conceição (HDNSC) in the period from February to December 2010. Thus, we recruited 93 patients, 86 met the inclusion criteria. Patients were recruited by an active search in emergencies and in the ward of these hospitals and underwent a follow-up protocol through an initial clinical evaluation form (from day 1 to day 5 of illness) and an evaluation form following (from the 6^o to 7^o day of illness). Were performed at least two measurements of hematocrit, platelets, and biochemical tests and specific tests for dengue. The signs and symptoms more prevalent in patients with suspected dengue were fever, headache and myalgia. Twenty-five patients (29%) had spontaneous bleeding manifestations and the cutaneous bleeding (petechiae and ecchymosis) were the most frequent (15%). When evaluating the female population of reproductive age, 6% had metrorrhagia. The tourniquet test was performed in 80 patients and was positive in 20 patients. Of 86 patients, 48 (55,8%) were positive for dengue at least one of the techniques: immunochromatography NS1 (16%), RT-PCR (19%), IgM ELISA (44%), IgM immunochromatography (42%) and NS1 ELISA (27%). The dengue virus was detected in 16 patient and, DENV-1 in 1 patient (6.2%), DENV-2 in 14 patients (87.5%) and DENV-3 in 1 patient (6.2%). Twenty- six patients (54,1%) met the criteria of the Ministry of Health (MOH) Classic Dengue (DC), 10 (20,8%) of Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) and 12 (25%) of Dengue with complication (DCC). The relationship between females and males were approximately 1.1/1, with higher prevalence in young adults. The criterion for severity of MOH, 60% of suspected dengue cases were classified as grade II and none as grade IV. Plasma extravasation of criteria recommended by MOH, hypoalbuminemia was present in 5 patients (10,4%). The drop in hematocrit higher than 20% after hydration was observed in only 4 patients (8,3%). During the study period, two patients were diagnosed with dengue and leptospirosis, and one patient complicated with idiopathic thrombocytopenic purpura, these patients had a benign outcome. Therefore we stress the need for early diagnosis, before the development of severe manifestations, of policies to eradicate *Aedes* and structure a reference service.

Keywords: Dengue. Diagnosis. Nonspecific and Specific and examinations. Dengue fever. Dengue hemorrhagic fever. Dengue with complications.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Áreas sob o risco da transmissão de dengue.....	15
Figura 2 - Distribuição do <i>Aedes aegypti</i> no Brasil.....	17
Figura 3 - Percentual de isolamento para dengue por sorotipo viral, Ceará, de 2001 a 2011...18	
Figura 4 - Números de casos e incidência de dengue no Ceará, de 1986 a 2011.....	19
Figura 5 - Transmissão do vírus dengue pelo mosquito <i>Aedes aegypti</i>	20
Figura 6 - Fluxograma dos pacientes com suspeita de dengue.....	31
Figura 7 - Fluxograma dos 86 pacientes com suspeita de dengue.....	40
Figura 8 - Determinação do hematócrito em relação à dengue e a outras infecções (não dengue).....	50
Figura 9 - Distribuição da porcentagem de hematócrito em relação à DC, FHD e DCC.....	51
Figura 10 - Distribuição da porcentagem de hematócrito em relação à DC, FHD e DCC (1ª 2ª coleta).....	51
Figura 11 - Determinação dos glóbulos brancos em relação à dengue e a outras infecções (não dengue).....	52
Figura 12 - Distribuição da contagem dos glóbulos brancos em relação à DC, FHD e DC	52
Figura 13 - Distribuição da contagem dos glóbulos brancos em relação à DC, FHD e DCC (1ª e 2ª coleta).....	53
Figura 14 – Determinação dos neutrófilos em relação à dengue e a outras infecções (não dengue).....	53
Figura 15 - Distribuição da porcentagem de neutrófilos em relação à DC, FHD e DCC.....	54
Figura 16 - Distribuição da porcentagem de neutrófilos em relação à DC, FHD e DCC (1ª e 2ª coleta).....	54
Figura 17 - Determinação dos linfócitos em relação à dengue e a outras infecções (não dengue).....	55
Figura 18 - Distribuição da porcentagem de linfócitos em relação à DC, FHD e DCC.....	55
Figura 19 - Distribuição da porcentagem de linfócitos em relação à DC, FHD e DCC (1ª e 2ª coleta).....	56
Figura 20 - Determinação da contagem das plaquetas em relação à dengue e a outras infecções (não dengue).....	57
Figura 21 - Distribuição da contagem das plaquetas em relação à DC, FHD e DCC.....	57

Figura 22 - Distribuição da contagem das plaquetas em relação à DC, FHD e DCC (1ª e 2ª coleta).....	58
Figura 23 - Determinação da dosagem da aminotransferase aspartato sérica em relação à dengue e a outras infecções (não dengue).....	58
Figura 24 - Distribuição da dosagem da aminotransferase aspartato sérica em relação à DC, FHD e DCC.....	59
Figura 25 - Distribuição da dosagem da aminotransferase aspartato sérica em relação à dengue clássica, FHD e DCC (1ª e 2ª coleta).....	59
Figura 26 - Determinação da dosagem da aminotransferase alanina sérica em relação à dengue e a outras infecções (não dengue).....	60
Figura 27 - Distribuição da dosagem da aminotransferase alanina sérica em relação à DC, FHD e DCC.....	60
Figura 28 - Distribuição da dosagem da aminotransferase alanina sérica em relação à DC, FHD e DCC (1ª e 2ª coleta).....	61
Figura 29 - Determinação da dosagem da ureia em relação à dengue e a outras infecções (não dengue).....	61
Figura 30 - Distribuição da dosagem da ureia em relação à DC, FHD e DCC.....	62
Figura 31 - Distribuição da dosagem da ureia em relação à DC, FHD e DCC (1ª e 2ª coleta).....	62
Figura 32 - Determinação da dosagem da creatinina em relação à dengue e a outras infecções (não dengue).....	63
Figura 33 - Distribuição da dosagem da creatinina em relação à DC, FHD e DCC.....	63
Figura 34 - Distribuição da dosagem da creatinina em relação à DC, FHD e DCC (1ª e 2ª coleta).....	63
Figura 35 - Determinação da dosagem da albumina em relação à DC a e a outras infecções (não dengue).....	64
Figura 36 - Distribuição da dosagem da albumina em relação à DC, FHD e DCC.....	64
Figura 37 - Distribuição da dosagem da albumina em relação à DC, FHD e DCC (1ª e 2ª coleta).....	65
Figura 38 - Distribuição da prova do laço com relação ao diagnóstico de dengue.....	66

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Distribuição da população estudada com suspeita de dengue (n=86) de acordo com a faixa etária.....	41
Gráfico 2 - Distribuição da população estudada com suspeita de dengue de acordo com o mês de ocorrência.....	41
Gráfico 3 - Distribuição da porcentagem da prova do laço em relação à DC, FHD, DCC e outros.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Oligonucleotídeos utilizados para amplificação do genoma dos vírus dengue e seus sorotipos.....	35
Tabela 2 - Distribuição dos 86 pacientes com suspeita de dengue quanto ao hospital de origem.....	40
Tabela 3 - Distribuição dos 86 pacientes com suspeita de dengue quanto ao sexo.....	41
Tabela 4 - Distribuição dos 86 pacientes com suspeita de dengue de acordo com a classificação de risco da dengue (classificação preconizada pelo MS).....	42
Tabela 5 - Sinais e sintomas dos pacientes com suspeita de dengue.....	43
Tabela 6 - Frequência absoluta e relativa de sinais de alarme nos 86 pacientes com suspeita de dengue.....	43
Tabela 7 - Frequência das manifestações hemorrágicas em 86 pacientes com suspeita de dengue	44
Tabela 8 - Número e porcentagem de pacientes com dengue, segundo sexo, faixa etária e tipo de dengue (classificação do MS).....	44
Tabela 9 - Sinais e sintomas nos 48 pacientes com dengue.....	45
Tabela 10 - Sinais de alarme em 48 pacientes com dengue.....	45
Tabela 11 - Frequência das manifestações hemorrágicas nos 48 pacientes com dengue.....	45
Tabela 12 - Classificação dos 10 casos de FHD de acordo com os critérios de gravidade do MS.....	46
Tabela 13 - Sintomas apresentados por pacientes confirmados de dengue versus paciente com síndrome febril indiferenciada.....	46
Tabela 14 - Frequência de sinais e sintomas de pacientes com dengue segundo a procedência.....	47
Tabela 15 - Frequência de sinais e sintomas de pacientes com dengue segundo o sexo.....	48
Tabela 16 - Frequência de sinais e sintomas de pacientes com dengue segundo a idade.....	49
Tabela 17- Distribuição dos pacientes positivos para dengue de acordo com os testes diagnósticos realizados em 86 amostras.....	67
Tabela 18 - Testes laboratoriais específicos da dengue quanto à classificação clínica	68
Tabela 19 - Distribuição dos pacientes quanto aos testes laboratoriais específicos versus sexo.....	70
Tabela 20 - Distribuição dos pacientes com a identificação do sorotipo encontrado versus sexo.....	71

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AST	Aminotransferase Aspartato Sérica
ALT	Aminotransferase Alanina Sérica
CDC	Centro de Controle e Prevenção de Doenças (Center for Disease Control and Prevention)
cDNA	DNA Complementar
DENV1	Dengue Vírus Sorotipo 1
DENV2	Dengue Vírus Sorotipo 2
DENV3	Dengue Vírus Sorotipo 3
DENV4	Dengue Vírus Sorotipo 4
DC	Dengue Clássica
DCC	Dengue com Complicações
DNA	Ácido desoxirribonucléico
ELISA	Ensaio Imunoenzimático (Enzyme linked immunosorbent assay)
FHD	Febre Hemorrágica da Dengue
FC	Teste de Fixação de Complemento
HSJ	Hospital São José de Doenças Infecciosas
HMNC	Hospital Municipal Nossa Senhora da Conceição
IgG	Imunoglobulina G
IF	Teste de Imunofluorescência
IH	Teste de Inibição da Hemaglutinação
IgM	Imunoglobulina M
MAC-ELISA	- ELISA de captura
MS	Ministério da Saúde
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
RNA	Ácido ribonucléico
RT-PCR	Reação em Cadeia da Polimerase Precedida de Transcrição Reversa (<i>Reverse transcriptase – polimerase chain reaction</i>)
SCD	Síndrome do Choque por Dengue
SFI	Síndrome Febril Indiferenciada

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 Dengue no Mundo.....	15
1.2 Dengue nas Américas.....	16
1.3 Dengue no Brasil.....	16
1.4 Dengue no Ceará.....	17
1.5 Vírus dengue.....	19
1.6 Vetor do vírus dengue.....	20
1.7 Manifestações clínicas da dengue.....	21
1.8 Caso suspeito de dengue.....	21
1.9 Dengue clássica.....	22
1.10 Febre hemorrágica da dengue e Síndrome do choque da dengue.....	22
1.11 Dengue com complicação.....	23
1.12 Patogênese da FHD.....	23
1.13 Diagnóstico laboratorial.....	24
1.14 Diagnóstico molecular.....	25
1.15 Exames inespecífico.....	26
1.16 Diagnóstico diferencial.....	28
1.17 Tratamento.....	28
1.18 Justificativa.....	29
2 OBJETIVOS	30
2.1 Objetivo geral.....	30
2.2 Objetivo específico.....	30
3 METODOLOGIA	31
3.1 Delineamento do estudo.....	31
3.2 População de estudo.....	31
3.3 Definição de caso de dengue.....	32
3.4 Coleta de dados.....	32
3.5 Aspectos clínicos.....	33
3.6 Coleta de material.....	34
3.7 Testes laboratoriais.....	34
3.7.1 Exames específicos.....	34
3.7.1.1 Extração do RNA viral.....	34
3.7.1.2 Reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa (RT-PCR).....	35
3.7.1.3 Imunocromatografia - NS1 Ag Strip.....	36
3.7.1.4 Dengue NS1 ELISA.....	36
3.7.1.5 ELISA dengue IgM.....	36
3.7.1.6 ELISA dengue IgG.....	36
3.7.1.7 Imunocromatografia - Dengue duo test bioeasy.....	37
3.7.2 Exames inespecíficos.....	37
3.7.2.1 Hemograma completo.....	37
3.7.2.2 Bioquímica.....	37
3.7.2.3 Coagulograma.....	38
3.7.2.4 Prova do laço.....	38
3.8 Aspectos éticos.....	39
3.9 Análise de dados.....	39
4 RESULTADOS	40
4.1 Aspectos epidemiológicos.....	40
4.2 Aspectos clínicos.....	42

4.3 Diagnóstico laboratorial da Dengue	44
4.3.1 Exames inespecíficos.....	50
4.3.1.1 Hematócrito.....	50
4.3.1.2 Glóbulos brancos.....	52
4.3.1.3 Neutrófilos.....	53
4.3.1.4 Linfócitos.....	55
4.3.1.5 Plaquetas.....	56
4.3.1.6 AST.....	58
4.3.1.7 ALT.....	59
4.3.1.8 Ureia.....	61
4.3.1.9 Creatinina.....	62
4.3.1.10 Albumina.....	64
4.3.1.11 Prova do laço.....	65
4.3.2 Exames específicos.....	66
5 DISCUSSÃO.....	72
6 CONCLUSÃO.....	81
REFERÊNCIAS.....	82
APÊNDICES.....	89
ANEXOS.....	92

1 INTRODUÇÃO

1.1 Dengue no Mundo

A dengue é considerada a mais importante doença viral transmitida por mosquitos hematófagos. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), aproximadamente 2/5 da população mundial encontra-se em risco de contrair a doença e anualmente é estimado que ocorram mais de 50 milhões de novas infecções (Figura 1). (GUZMAN; KOURI, 2002).

Figura 1 – Áreas sob o risco da transmissão de dengue



Fonte: WHO, 2009.

Os primeiros relatos descritos na literatura médica de uma doença semelhante a dengue datam de 1779 na ilha de Jakarta e no Cairo (SILER, 1926 *apud* HENCHAL; PUTNAK, 1990). Depois da Segunda Guerra Mundial, ocorreram epidemias de dengue hemorrágico em diversos países do Sudeste Asiático, ocorrendo nas Filipinas em 1956, associada aos sorotipos 3 e 4. Após 20 anos, já era a maior causa de óbitos em crianças da região (GUBLER; MELTZER, 1999).

A dengue é considerada um grave problema mundial, não apenas de saúde pública, mas, econômico e social, principalmente nos países das regiões tropicais e subtropicais que possuem o vetor em circulação (OSANAI, 1984).

1.2 Dengue nas Américas

A primeira pandemia registrada nas Américas ocorreu nas Antilhas - Golfo do México – Atlântico em 1827-1828. Entretanto, a partir de 1850 houve uma intensa ativação do vírus dengue com uma diminuição dos intervalos entre os períodos de pandemia e o acometimento de novas áreas geográficas como na América do Sul (PINHEIROS, 1989 *apud* PONTES, 1994).

Com o surgimento das técnicas laboratoriais de identificação viral a partir da década de 50, o sorotipo 2 foi identificado em *Trinidad*, Antilhas em 1952. Na década de 60, foi isolado o sorotipo 3 em Porto Rico (1964-65), esses sorotipos circularam juntos até a década de 70 (PINHEIROS, 1989 *apud* PONTES, 1994).

O sorotipo 1 foi introduzido na Jamaica em 1977, ocasionando uma pandemia em vários países das Antilhas. O sorotipo 4 foi isolado em 1981 nas Antilhas, na América Central, no México e no Norte da América do Sul. Nesse mesmo ano, o sorotipo 2 ocasionou uma nova epidemia de dengue com aparecimento de casos de febre hemorrágica da dengue/síndrome do choque da dengue (FHD/SCD) (OPAS, 1992). Também foram observadas epidemias de FHD/SCD na Venezuela em 1989-1990, e no Brasil em 1990-1991 (PAHO, 1989).

1.3 Dengue no Brasil

Os primeiros casos de dengue no Brasil foram relatados de 1846, nas cidades de São Paulo e do Rio de Janeiro. Contudo, a primeira epidemia documentada clínica e laboratorialmente ocorreu em 1982, em Boa Vista, Roraima, com circulação dos vírus dengue 1 (DENV-1) e vírus dengue 4 (DENV-4). O isolamento geográfico-econômico contribuiu para que a epidemia não disseminasse para outras regiões (OSANAI, 1984).

O DENV-1 foi introduzido em 1986 no Rio de Janeiro, propagando-se para Pernambuco, Bahia, Minas, São Paulo e Ceará (HALSTEAD, 1988; SCHATZMAYR, 2000;). Na década de 90 foi realizado o isolamento do vírus dengue 2 (DENV-2), no estado do Rio de Janeiro e, posteriormente, foi detectado a circulação do vírus dengue 3 (DENV-3) em 2000 (OPAS, 1992).

Atualmente, todos os 27 estados da federação apresentam casos de dengue, sendo responsáveis por cerca de 60% das notificações nas Américas (Figura 2) (CÂMARA; MATOS, 2007).

Figura 2 – Distribuição do *Aedes aegypti* no Brasil



Fonte: Ministério de Saúde (2010).

A endemização da dengue no Brasil ocasionou mudança na distribuição da faixa etária com um aumento da incidência em menores de 15 anos, concomitantemente à elevação da incidência das formas graves (TAIUL, 2002).

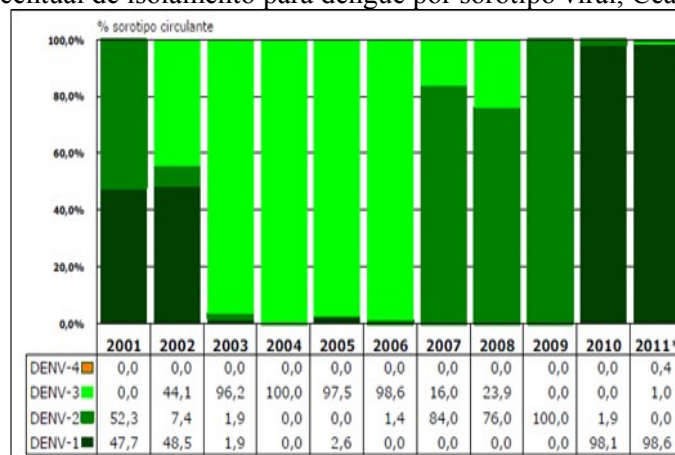
1.4 Dengue no Ceará

A notificação dos primeiros casos de dengue no Ceará iniciou em 1986 após o isolamento do DENV-1, tendo seu pico de incidência em março e junho de 1987. No período de 1986 a 1993, somente o DENV-1 foi isolado no Ceará (15,9% dos casos notificados no Brasil) (VASCONCELOS; MENEZES; MELO, 1995; PINHEIRO; CORBER, 1997;).

A introdução do DENV-2, em 1994 e o isolamento do DENV-1 nesse mesmo ano mostrou uma co-circulação de ambos os sorotipos que ocasionou uma grande epidemia com 120 casos de FHD/SCD, sendo que 30 pacientes evoluíram com óbito (SOUZA, 1995). Nesse ano o Estado do Ceará respondeu por 84% dos casos de dengue no Brasil com aproximadamente 47.889 casos (CUNHA *et al.*, 1988 VASCONCELOS; MENEZES; MELO, 1995;).

O DENV-3 foi isolado pela primeira vez no Ceará em março de 2002, pelo Laboratório Central de Saúde Pública. E a circulação simultânea dos três sorotipos foi responsável pela alta endemicidade (ARAÚJO *et al.*, 2006). O DENV-3 ocasionou uma severa epidemia, com alta incidência de FHD em adulto no ano de 2003 (CAVALCANTI *et al.*, 2010). Essa característica foi predominante até o ano de 2006 e em 2007, o vírus DENV-2 ressurgiu tornando-se predominante até 2009 (Figura 3) (CEARÁ, 2011).

Figura 3 – Percentual de isolamento para dengue por sorotipo viral, Ceará, 2001 a 2011.

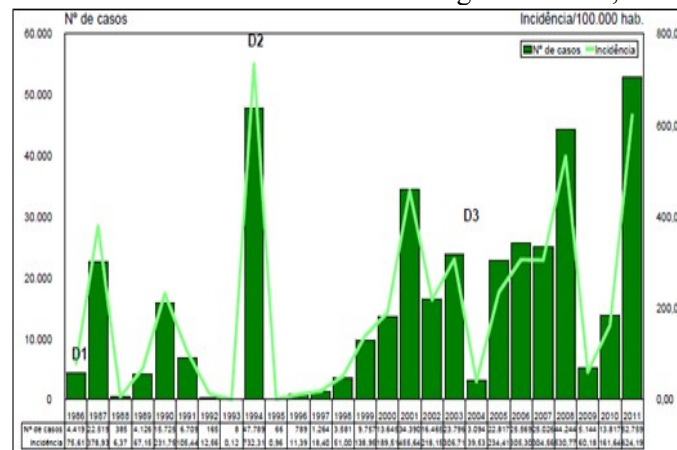


Fonte: SESA/ COPROM/ NUVEP (2011).

Desde o ano 2007, a incidência de FHD em crianças vem aumentando. Em 2001 eram 5% de todos os casos; em 2008, a proporção aumentou para 33%. Duas hipóteses podem explicar esse fenômeno: a primeira hipótese pode ser uma maior virulência do DENV-2 e a segunda hipótese pode ser a circulação dos 3 sorotipos com uma ausência de anticorpos contra o DENV-2 (BARRETO; TEIXEIRA, 2008; CAVALCANTI *et al.*, 2010).

A partir de 2010, o sorotipo DENV-1 foi o sorotipo mais prevalente e essa característica não se observava desde 2006. Com relação aos casos de 2011, foram confirmados 55.836 casos, sendo que, 175 foram confirmados como FHD e 453 foram confirmados como DCC. Em relação ao sexo, houve uma predominância do sexo masculino com 60% dos casos confirmados (CEARÁ, 2011) (Figura 4).

Figura 4 – Números de casos e incidência de dengue no Ceará, de 1986 a 2011.



Fonte: SESA/ COPROM/ NUVEP (2011).

1.5 Vírus dengue

O vírus dengue foi isolado na década de 40 pelos cientistas Kimura em 1943 e Hotta em 1944. As primeiras cepas foram denominadas como sorotipo 1 e a cepa da Nova Guiné como sorotipo 2. Em 1956, foram isolados os vírus 3 e 4 durante uma epidemia de FHD no Sudeste Asiático (MARTINEZ-TORRES, 1990 *apud* TEIXEIRA; BARRETO; GUERRA, 1999).

O vírus dengue pertence à família *Flaviviridae*, gênero *Flavivirus* e possui 4 sorotipos que foram designados como: DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4. Estes vírus são sorologicamente relacionados, mais antigenicamente distintos e todos causam a mesma síndrome clínica (GLUBER, 1998).

O vírus dengue é esférico, com aproximadamente 50nm de diâmetro contendo um envoltório lipídico que envolve o nucleocapsídeo. O nucleocapsídeo inclui a proteína do capsídeo e o genoma viral que consiste de um RNA de fita simples. O genoma do vírus contém três proteínas estruturais e sete proteínas não estruturais. As proteínas estruturais foram designadas como: C, prM-M e E e as proteínas não-estruturais foram designadas como: NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5 (HENCHAL; PUTNAK, 1990).

Dentre as proteínas estruturais, a glicoproteína E é a maior do envoltório e está associada a funções como a hemaglutinação dos eritrócitos, indução de anticorpos neutralizantes, fusão do vírus com a membrana endossômica e o acoplamento viral. A proteína C, interage com o RNA viral, formando o nucleocapsídeo. A proteína M é formada a

partir de um precursor (proteína prM-M) que está envolvido na morfogênese viral e no aumento da sua efetividade (MUKHOPADHYAY; KUHN; ROSSMANN, 2005).

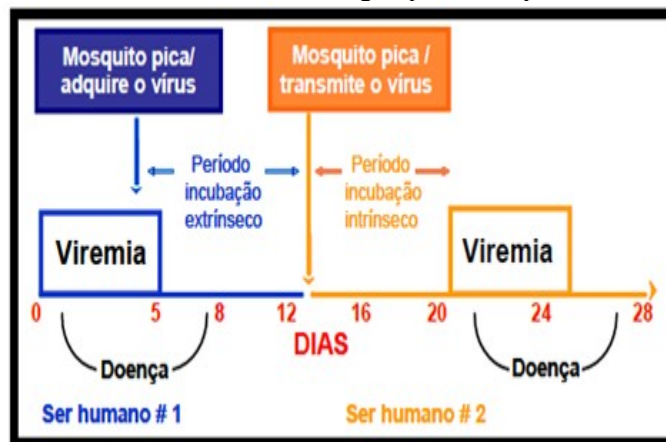
As proteínas não estruturais ainda não possuem todas as suas funções definidas. A proteína NS1 é encontrada solúvel no plasma de indivíduos infectados, esta glicoproteína constitui o antígeno fixador do complemento e pode induzir a produção de anticorpos com atividade fixadora de complemento. A proteína não estrutural NS5 possui atividade de RNA polimerase e a proteína NS3 possui a função de helicase/protease (HALSTEAD, 2003).

1.6 Vetor do vírus dengue

As espécies de vetores envolvidas na transmissão da dengue são mosquitos do gênero *Aedes* das espécies *aegypti* e *albopictus* (HENCHAL; PUTNAK, 1990).

A transmissão da doença ocorre através da picada da fêmea, que para suprir suas necessidades protéicas de oviposição, infectam-se picando indivíduos virêmicos. Os vírus multiplicam-se no aparelho digestivo do mosquito, disseminando-se para diferentes tecidos. Somente depois de um período de incubação extrínseco de 8 a 12 dias é que são capazes de transmitir o vírus para outros indivíduos. Após a picada do mosquito, segue-se um período de incubação intrínseco de 3 a 14 dias depois do qual o indivíduo infectado adoece (Figura 5) (GLUBER, 1999).

Figura 5 – Transmissão do vírus dengue pelo mosquito *Aedes aegypti*.



Fonte: CDC .

Os mosquitos *Aedes* depois de infectados podem transmitir o vírus dengue pela forma transovariana mantendo o vírus durante períodos em que não existem mosquitos adultos ou reservatórios (ANGEL; JOSHI, 2008)

O *Aedes aegypti* é originário da África subsaariana, tornou-se antropofílico, adaptando-se ao ambiente criado pelo homem (DYE, 1992 *apud* TEIXEIRA; BARRETO; GUERRA, 1999). Utiliza os recipientes no domicílio ou peridomicílio para o desenvolvimento de sua fase larvária (NELSON, 1986 *apud* BRAGA; VALLE, 2007).

O *Aedes albopictus*, originário da Ásia, pode ser encontrado em áreas urbanas e rurais servindo de vetor de manutenção do vírus dengue em zonas endêmicas. Registros da presença do mosquito *Aedes albopictus* no Brasil data o ano de 1986 nos estados do Rio de Janeiro e de Minas Gerais (FORATTINI, 2002). Embora a maior parte dos estados brasileiros tenha relatado sua presença, essa espécie ainda não foi responsável por surtos de dengue no país. Martins *et al.* (2006) relata a ocorrência dessa espécie em uma área urbana da cidade de Fortaleza (Bairro do Montese) em 2005.

1.7 Manifestações clínicas da dengue

A dengue pode ser causada por qualquer um dos quatro sorotipos e se manifesta como uma enfermidade infecciosa aguda que se caracteriza por um amplo espectro clínico, que varia desde formas de infecção assintomática ou febre indiferenciada até formas graves com hemorragia e/ou choque (SCD) e dengue com complicações (DCC) (BRASIL, 2011).

1.8 Caso suspeito de dengue

Todo paciente suspeito de dengue deve apresentar uma doença febril aguda, com duração média de até sete dias, acompanhada de, pelo menos, dois dos seguintes sintomas: cefaleia, dor retro-orbitária, mialgias, artralgia, prostração ou exantema que podem estar associados ou não à presença de hemorragias (BRASIL, 2011).

1.9 Dengue clássica

A dengue clássica (DC) caracteriza-se por ser uma enfermidade febril aguda benigna e auto limitada, podendo durar de 2 a 10 dias, em média 5 dias. A primeira manifestação clínica é a febre de intensidade variável, que geralmente é alta e está associada à cefaleia, dor retro-orbitária, mialgia, artralgia, prostração e exantema. Podem também ocorrer manifestações digestivas, como vômitos e dor abdominal (HENCHAL; PUTNAK, 1990).

A manifestação cutânea mais frequente é o exantema, que é mais comum quando a infecção é primária. Pode manifestar-se como erupção precoce, coincidindo com a fase virêmica e febril, que se inicia geralmente no tronco, estendendo-se depois para as extremidades, ou como erupção secundária coexistindo com o reaparecimento da febre, quando esta é bifásica, ou com a sua defervescência. Caracteriza-se por um eritema difuso, delimitado por ilhotas de pele sã ou como uma erupção morbiliforme (CAUMES *et al.*, 1993; KAUTNER; ROBINSON; KUBNLE, 1997).

Manifestações hemorrágicas também podem ocorrer na dengue clássica como epistaxe, gengivorragia e hematúria (HENCHAL; PUTNAK, 1990).

Um caso confirmado de DC é aquele que foi constatado laboratorialmente ou durante uma epidemia, pelos critérios clínicos e epidemiológicos. Contudo, os primeiros casos de uma epidemia da área deverão ter confirmação laboratorial (BRASIL, 2011).

1.10 Febre Hemorrágica da Dengue (FHD) e Síndrome do Choque por Dengue (SCD)

A suspeita das formas hemorrágicas geralmente ocorre entre o quarto e o sexto dia de doença, quando os sinais de alerta se manifestam, como: dor abdominal, queda da pressão arterial, tonturas, sangramento entre outros (BRASIL, 2011). Para que, ocorra a confirmação da FHD/SCD é necessário que haja febre de sete dias ou menos, com tendências a manifestações hemorrágicas associadas à trombocitopenia ($<100.000/\text{mm}^3$) (RIGAU-PERÉZ, 1997; BRASIL, 2011).

De acordo com a OMS, a FHD é classificada em quatro graus de gravidade: I, II, III e IV. No grau I, a febre é acompanhada de sintomas inespecíficos e a única manifestação hemorrágica é a prova do laço positiva. No grau II, estão presentes as mesmas manifestações

do grau I acompanhadas de hemorragias espontâneas leves, como epistaxe, sangramento de pele, gengivorragia e outros). No grau III, o paciente apresenta colapso circulatório, com pulso fraco e rápido, estreitamento da pressão arterial ou hipotensão, pele pegajosa fria e inquietação. No grau IV, o paciente encontra-se em choque profundo com ausência de pressão arterial e pressão de pulso imperceptível o que caracteriza a SCD (BRASIL, 2011). O choque é consequente do aumento da permeabilidade vascular seguido de hemoconcentração e falência circulatória. O paciente pode ir ao óbito entre 12 e 24 horas ou à recuperação rápida após terapia (WHO, 2009).

1.11 Dengue com complicações (DCC)

A DCC é definido como todo caso grave que não se enquadra nos critérios da OMS de FHD e quando a classificação de DC é insatisfatória. A apresentação de pelo menos uma das seguintes alterações clínicas é suficiente para a confirmação final de um caso de DCC, como: alterações neurológicas, insuficiência hepática, hemorragia digestiva volumosa, disfunção cardiorrespiratória, derrame pleural, pericárdico e ascite; plaquetopenia inferior a $20.000/\text{mm}^3$, contagem de leucócitos menor ou igual a $1.000/\text{mm}^3$ (BRASIL, 2011).

1.12 Patogênese da FHD

A patogênese da FHD ainda não está bem esclarecida, dessa forma, existem algumas teorias para tentar explicá-la, como a teoria de Rosen, que propôs a associação da gravidade da doença à virulência da cepa infectante adquirida a partir de mutações em seu genótipos (GIBBONS; VAUGHN, 2002).

Na teoria de Halstead, os anticorpos existentes de uma infecção prévia, adquiridos de forma ativa ou passiva (através da placenta), além de não neutralizarem o segundo vírus infectante de outro sorotipo, facilitariam a infecção produzindo uma resposta cruzada de maior intensidade, tanto imunológica como inflamatória (HALSTEAD, 1988).

A teoria da multicasualidade sustenta que a gravidade da FHD está relacionada à virulência da cepa, ao hospedeiro e aos fatores epidemiológicos. Os fatores virais incluem: a virulência da cepa, o sorotipo e as mutações no genótipo viral; as características individuais

incluem idade, sexo, raça, infecção secundária e a imunocompetência; os fatores epidemiológicos estão relacionadas a alta densidade vetorial, a circulação de diferentes sorotipos, a hiperendemicidade, e o número de indivíduos susceptíveis (GUZMÁN; KOURI, 2002).

1.13 Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico laboratorial específico para dengue utiliza técnicas virológicas, sorológicas e moleculares (GUZMAN; KOURI, 1996; SHU; HUANG, 2004; VELATHANTHIRIA *et al.*, 2006).

O isolamento viral é realizado por inoculação de amostras de soro em culturas celulares de mosquito *Aedes albopictus* (clone C6/36), seguido de imunofluorescência indireta (IF) (GUZMÁN; KOURI 1996). As principais desvantagens deste método é a necessidade de instalações apropriadas e a demora de 7 a 10 dias para que o teste seja concluído.

Os principais métodos sorológicos realizados para a detecção de anticorpos anti-dengue são: inibição de hemaglutinação (IH), fixação de complemento (FC) e ensaio imunoenzimático (ELISA) (GUBLER, 1998). A hemaglutinação é a união dos eritrócitos causada pelo vírus ou por alguma estrutura deste. O teste de inibição de hemaglutinação é utilizado para confirmar os resultados do ELISA de captura (MAC-ELISA) e para evidenciar infecções secundárias. Os anticorpos inibidores de hemaglutinação são detectados a partir do sétimo dia de doença na infecção primária, sendo que a presença desses antes do sétimo dia sugere infecção secundária por DENV (GUZMAN; KOURI, 1996).

O teste de fixação de complemento tem como finalidade detectar anticorpos no soro do paciente; já o teste de imunofluorescência, quando usado diretamente, detecta antígenos e, quando usado indiretamente detecta antígenos e anticorpos (GUBLER, 1998).

O teste de rotina para diagnóstico sorológico da dengue é o ensaio imunoenzimático de captura de anticorpos IgM, tem as vantagens de ser rápido, simples, útil, além de requerer apenas uma amostra na maioria dos casos. Apesar de apresentar bons resultados, somente detecta a doença em sua fase aguda tardia (a partir do quinto dia do início dos sintomas), quando os títulos de anticorpos IgM são evidenciados (GUBLER, 1998; GUZMÁN; KOURI, 2004).

A presença de títulos altos de anticorpos IgG no soro de pacientes com DENV na primeira semana de doença sugere uma infecção secundária. A infecção é considerada recente quando ocorre conversão sorológica, caracterizada por um aumento de quatro vezes no título de anticorpos da primeira para a segunda amostra (GUBLER, 1998).

A presença de antígenos virais pode ser detectada no sangue, nos tecidos humanos e nos mosquitos. O antígeno NS1 é uma glicoproteína não estrutural do vírus, altamente conservada e que, durante a fase aguda da infecção, passa a ser expresso na superfície das células infectadas, desde o primeiro dia até o nono dia após o aparecimento da febre. É reconhecida como um importante imunógeno, estando presente em altas concentrações no soro dos pacientes infectados com o vírus dengue (ALCON *et al.*, 2002).

O antígeno NS1 do vírus dengue pode ser detectado através das técnicas de imunocromatografia de fluxo lateral e das técnicas de ELISA (ALCON *et al.*, 2002; KUMARASAMY *et al.*, 2007). A alta sensibilidade, a não exigência de equipamentos ou de treinamento específico, e o resultado que pode ser gerado em poucos minutos permitem que este teste possa ser utilizado em regiões mais carentes, que não dispõem de centros especializados de saúde ou laboratório (SILVA *et al.*, 2011).

A maior sensibilidade para detecção do antígeno NS1 ocorre até o terceiro dia, do quarto ao sexto dia, com a produção de anticorpos, a sensibilidade tornar-se menor (DUSSART *et al.*, 2006).

1.14 Diagnóstico molecular

A reação em cadeia da polimerase (PCR) tem sido utilizada com êxito no diagnóstico de dengue e na caracterização genética das cepas ainda na fase aguda da doença. A sensibilidade, a especificidade e a rápida detecção de quantidades mínimas de material genético em amostras de pacientes fazem do PCR um excelente método diagnóstico de dengue. Os resultados falso-positivos estão relacionados à manipulação inadequada das amostras (GUZMÁN; KOURI, 1996).

A PCR também tem sido utilizada para o estudo genômico viral, utilizando enzimas de restrição e o sequenciamento de nucleotídeos, o que tem permitido a rápida classificação das cepas virais de dengue em genótipos e subgrupos geográficos (VORNDAM; KUNO, 1997).

Entre os métodos mais utilizados por biologia molecular podemos citar a hibridação e a transcrição reversa combinada à reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) convencional e em tempo real (RT-PCRq). A hibridação detecta genomas virais específicos usando sondas radioativas (radioisótopos) ou enzimas em amostras clínicas, em tecidos fixados de biópsias ou de autopsias, é mais utilizada em pesquisa pela sua complexidade técnica (GUBLER, 1998). A RT-PCR é um método que detecta quantidades reduzidas de ácido nucléico viral presente nos espécimes pela amplificação do cDNA obtido a partir do RNA viral (GUZMAN; KOURI, 1996).

A reação de RT-PCRq possibilitou a amplificação de fragmentos genômicos, através da utilização de moléculas fluorogênicas. As principais vantagens desse sistema são a redução do tempo necessário para a realização do teste e o menor risco de contaminação (NIESTER, 2002).

1.15 Exames inespecíficos

Os exames inespecíficos baseiam-se na necessidade de um diagnóstico precoce com a finalidade de reduzir a mortalidade das formas graves da dengue. Frequentemente se observa repercussões hematológicas nos pacientes com dengue e as alterações mais presentes no hemograma são: hemoconcentração, leucopenia, plaquetopenia e alterações da hemostasia sanguínea com presença de manifestações hemorrágicas (WHO, 1997; OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Hemograma

O hemograma dos pacientes que são diagnosticados como DC, geralmente, apresenta leucopenia, porém pode ocorrer leucocitose com atipia linfocitária, e a trombocitopenia (contagem de plaquetas abaixo de $100.000/\text{mm}^3$) é observada ocasionalmente (VERONESI; FOCACCIA, 2005).

Os pacientes diagnosticados como FHD apresentam contagem de leucócitos variável, podendo ocorrer desde uma leucopenia até leucocitose leve. A linfocitose com atipia linfocitária é um achado comum. Também se destacam a hemoconcentração com um aumento

do hematócrito em 20% do valor basal (valor do hematócrito anterior à doença) ou valores superiores a 38% em crianças, a 40% em mulheres e a 45% em homens, e a trombocitopenia também pode ser ocorrer. A contagem de plaquetas, o hematócrito e a albumina são utilizados como marcadores de gravidade (VERONESI; FOCACCIA, 2005; BRITO; ALBUQUERQUE; SILVA, 2007).

Bioquímica

As transaminases ou aminotransferases são enzimas responsáveis pela interconversão de aminoácidos. A atividade enzimática é utilizada como indicador de dano hepatocelular, visto que as enzimas estão dentro do hepatócito e só uma pequena parte está na corrente sanguínea. A uréia é sintetizada no fígado a partir da amônia como produto do catabolismo das proteínas, e seus níveis estão aumentados na infecção. A creatinina é produto do catabolismo muscular e é o melhor indicador da função renal. A albumina é produzida pelo fígado, é a principal proteína circulante no organismo humano e é responsável pelo transporte de substâncias no sangue e para a manutenção da pressão osmótica do plasma (NEMER; NEVES, 2010).

Coagulograma

O coagulograma é um exame que avalia as coagulações primária e secundária do sangue. Esse exame é constituído por tempo de sangria, contagem de plaquetas, tempo de protombina e tempo parcial de tromboplastina ativado. O tempo de sangramento é avaliado através do método de Ivy, que se baseia no princípio de que, ao se fazer uma incisão na pele, as plaquetas vão agir no local formando o coágulo através da adesão, agregação e secreção de substâncias que ajudam a manter o equilíbrio do sistema hemostático do sangue, esse teste mede qualitativamente as plaquetas. O tempo de protombina é a medida do tempo, em segundos, para a formação do coágulo de fibrina após a adição de tromboplastina cálcica, em plasma citratado. Mede-se o tempo transcorrido até a formação do coágulo de fibrina. O tempo de tromboplastina parcial ativado é realizado no plasma citratado pela ativação dos

fatores de contato após adição de fosfolípido (substituto das plaquetas), para posteriormente determinar o tempo para formação do coágulo (WALLACH, 2003).

Tempo de protombina, tempo parcial de tromboplastina e tempo de sangria podem ter seus valores aumentados na dengue (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Prova do laço

A prova do laço deve ser realizada em todos os casos suspeitos de dengue. Por meio desse teste verifica-se a pressão arterial do paciente e calcula-se seu ponto médio. Insufla-se novamente o manguito até o valor médio e espera por 5 minutos. Desenha-se uma área um quadrado de 2,5 cm de lado no antebraço do paciente. Conta-se o número de petéquias dentro da marca realizada e considera-se a prova positiva quando há 20 ou mais petéquias. A prova do laço pode ser a única manifestação hemorrágica de casos complicados ou de FHD (BRASIL, 2011).

1.16 Diagnóstico diferencial

Na sua forma febril, a dengue se assemelha a gripe, leptospirose, rubéola, sarampo, malária, mononucleose, entre outras; nas suas formas mais graves, FHD/SCD, assemelha-se a meningococemia, doença de Kawasaki, febre tifide, febre amarela, escarlatina, entre outras (SINGHI *et al.*, 2007; BRASIL, 2011).

1.17 Tratamento

A dengue é uma doença dinâmica em que o paciente pode evoluir rapidamente de um estágio para outro. O reconhecimento precoce dos sinais de alarme, o monitoramento contínuo e a reposição hídrica favorecem a redução das complicações e da mortalidade. O tratamento é sintomático (analgésico e antipirético), com hidratação oral ou parenteral, conforme a necessidade do paciente. Desde 2002, o Brasil adota o estadiamento clínico, com

o objetivo de orientar uma terapêutica adequada para cada situação, evitando-se o óbito (SINGHI, *et al.*, 2007; BRASIL, 2011).

O grupo A é definido com pacientes sem manifestações hemorrágicas e sem sinais de alarme. O grupo B é formado por pacientes com manifestações hemorrágicas espontâneas e ausência de sinais de alarme. O grupo C, por sua vez, contém pacientes com algum sinal de alarme. Por fim, o grupo D é formado por pacientes com sinais de choque. A conduta dos grupos A e B são realizadas ambulatorialmente, com hidratação oral, antitérmicos e analgésicos. O paciente dos grupos C e D devem ser acompanhados em unidades sob supervisão médica e com capacidade de realizar hidratação venosa (BRASIL, 2011).

1.18 Justificativa

É importante que sejam identificados precocemente os casos de dengue, para que se possam tomar decisões e condutas terapêuticas adequadas, evitando-se as formas graves e até mesmo o óbito. No Ceará, a proporção de casos de dengue grave (FHD e DCC) em relação aos casos de dengue clássico aumenta a cada ano, passando de 1 caso para 383 casos de DC em 2001, para 1 caso de dengue grave para 90 casos de DC em 2011 (CEARÁ, 2011). Portanto, existe a necessidade de desenvolver estudos na tentativa de conhecer melhores as características clínicas, laboratoriais e epidemiológicas, para dessa forma, evitar o desenvolvimento das formas graves.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar os aspectos clínicos e laboratoriais dos casos suspeitos de dengue atendidos em hospitais de referência da cidade de Fortaleza, no ano de 2010.

2.2 Objetivos específicos

- a) Caracterizar os casos de dengue segundo o sexo, a faixa etária e a procedência;
- b) Verificar a relação entre sexo e faixa etária com as formas clínicas (DC, FHD/SCD, DCC);
- c) Comparar as variáveis clínico-laboratoriais dos pacientes adultos;
- d) Correlacionar às alterações laboratoriais entre os pacientes com diagnóstico de dengue;
- e) Realizar a detecção dos antígenos pelos testes de imunocromatografia (NS1), ELISA (NS1) e RT-PCR;
- f) Realizar a detecção de anticorpo anti-IgM e anti IgG pelo teste imunoenzimático e pelo teste imunocromatográfico dengue duo test;
- g) Comparar a sintomatologia dos pacientes definidos como os casos confirmados de dengue e não dengue.

3 METODOLOGIA

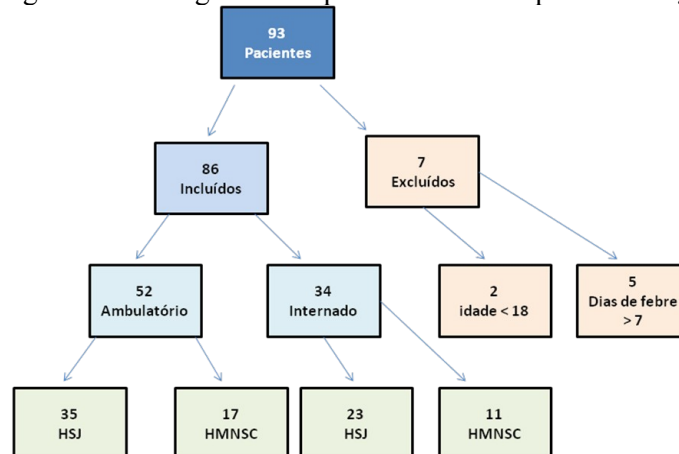
3.1 Delineamento do estudo

Estudo transversal descritivo que visa determinar as alterações hematológicas e bioquímicas dos pacientes com suspeita de dengue.

3.2 População de estudo

Amostragem

Figura 6 – Fluxograma dos pacientes com suspeita de dengue



Fonte : Dados da Pesquisa (2012)

Os pacientes foram recrutados por busca ativa de casos nos ambulatórios e nas enfermarias do Hospital São José (HSJ) e do Hospital Municipal Nossa Senhora da Conceição (HMNSC). Todos os casos suspeitos de dengue foram notificados aos serviços de vigilância epidemiológica.

Foram incluídos no estudo pacientes que apresentaram doença febril aguda com duração máxima de até cinco dias para pacientes atendidos nos ambulatórios com a finalidade de detectar o vírus ou antígeno viral e de até sete dias para pacientes hospitalizados (a detecção de anticorpos geralmente se torna positiva após o sexto dia da doença),

acompanhados de pelo menos dois dos seguintes sintomas: cefaleia, dor retro-orbitária, artralgia, mialgia, prostração ou exantema (BRASIL, 2011).

Foram excluídos do estudo todos os pacientes sem registro de febre, pacientes com quadro febril a mais de cinco dias para os atendidos nas emergências e de sete dias para os hospitalizados e aqueles que tivessem qualquer contra-indicação para coleta de amostras de sangue e menores de dezoito anos (Figura 6).

3.3 Definição de caso de dengue

Com o objetivo de definir um parâmetro de comparação entre as diferentes metodologias utilizadas no estudo, empregamos a definição de caso de dengue do Ministério da Saúde (MS). Consideramos como suspeitos de dengue todos os pacientes que apresentavam doença febril aguda com duração máxima de 7 dias, acompanhado de pelo menos dois dos seguintes sintomas: cefaleia, dor retro-orbital, mialgia, artralgia, prostração, exantema. E definimos como caso de dengue, os pacientes que apresentaram diagnóstico laboratorial confirmado pela sorologia positiva (IgM) e/ou isolamento viral e/ou RT-PCR positivo e/ou NS1 positivo.

Os casos com diagnóstico confirmado de FHD foram classificados de acordo com os critérios de gravidade da OMS como: grau I, II, III e IV.

Os casos com diagnóstico confirmado de DCC foram definidos como todo caso que não se enquadrava na classificação de FHD e também a sua classificação foi insatisfatória para ser definido como DC. O paciente que foi definido como DCC apresentou pelo menos um dos seguintes sintomas: alterações neurológicas, insuficiência hepática, hemorragia digestiva volumosa, disfunção cardiorrespiratória, derrame pleural, pericárdico e ascite; plaquetopenia inferior a $20.000/\text{mm}^3$, contagem de leucócitos $\leq 1.000/\text{mm}^3$.

3.4 Coleta dos dados

Os dados foram obtidos por meio do preenchimento de uma ficha de avaliação inicial que foi realizada do 1º ao 5º dia de doença e do dia 6º ao 7º dia de doença foi realizada uma outra avaliação clínica com o preenchimento de uma ficha de avaliação

subsequente. Essas fichas foram preenchidas no ato da coleta do material a ser analisado e essas informações foram utilizadas para montar o banco de dados deste estudo.

A primeira ficha era composta dos seguintes itens: identificação do paciente, critérios de inclusão, critérios de exclusão, manifestações clínicas, manifestações hemorrágicas, antecedentes, sinais de alarme, sinais de choque, complicações, achados clínicos e exames inespecíficos como: prova do laço, hemograma, bioquímica, coagulograma e exames específicos como: NS1 por imunocromatografia e ELISA, RT-PCR, IgG. Nessa primeira avaliação os pacientes eram classificados de acordo com a classificação do MS e como: grupo A, grupo B, grupo C e grupo D (Apêndice B).

A segunda ficha era composta dos seguintes itens: evolução do paciente, exames específicos como: ELISA para detecção de IgM e imunocromatografia para detecção de IgM/IgG. Nessa avaliação final os pacientes eram classificados como: DC, FHD/SCD, DCC e outro diagnóstico (Apêndice B).

3.5 Aspectos clínicos

A classificação de risco dos pacientes com suspeita de dengue visa avaliar o estadiamento da doença, a redução do tempo de espera e dessa forma, orientar medidas terapêuticas. A anamnese e o exame físico foram utilizados para realizar o estadiamento de acordo com MS (BRASIL, 2011). Os pacientes avaliados neste estudo foram classificados em quatro grupos denominados grupo A, B, C e D (BRASIL, 2011).

- **Grupo A:** o paciente tem que apresentar febre por até 7 dias, acompanhada de pelo menos dois sinais e sintomas inespecíficos como: cefaleia, prostração, dor retro-orbitária, exantema, mialgias, artralgias e história epidemiológica compatível. Prova do laço negativa, ausência de manifestações hemorrágicas espontâneas e ausência de sinais de alarme.

- **Grupo B:** o paciente tem que apresentar febre por até 7 dias, acompanhada de pelo menos dois sinais e sintomas inespecíficos como: cefaleia, prostração, dor retro-orbitária, exantema, mialgias, artralgias e história epidemiológica compatível. Prova do laço positiva ou manifestações hemorrágicas espontâneas, sem repercussão hemodinâmica e ausência de sinais de alarme.

- **Grupos C e D:** o paciente tem que apresentar febre por até 7 dias, acompanhada de pelo menos dois sinais e sintomas inespecíficos como: cefaleia, prostração,

dor retro-orbitária, exantema, mialgias, artralgias e história epidemiológica compatível. Presença de algum sinal de alarme que caracteriza o grupo C. Choque (que caracteriza o grupo D) e manifestações hemorrágicas presentes ou ausentes.

3.6 Coleta do material

No período de janeiro a dezembro de 2010 foram recrutados 93 pacientes com suspeita de dengue nos hospitais HSJ e HMNSC.

De cada paciente foram coletados 10 ml de sangue periférico sem anticoagulante, e essas amostras foram submetidas à centrifugação de 1.500 xg por 5 minutos para a obtenção do soro, sendo que uma parte dessas amostras foram armazenadas em freezer a -70°C para posteriormente serem submetidas aos testes laboratoriais específicos. Os testes de diagnósticos inespecíficos como os exames hematológicos e bioquímicos foram realizados na rotina dos laboratórios dos respectivos hospitais

Os testes de diagnósticos específicos virológicos realizados foram: RT-PCR, imunocromatografia NS1 e Elisa captura NS1 e testes de diagnósticos imunológicos: ELISA-IgM, imunocromatografia dengue Duo Test Bioeasy (NS1/IgM/IgG), ELISA-IgG. Esses testes específicos foram realizados no Laboratório de Parasitologia da Universidade Federal do Ceará (UFC) e no Laboratório de Biologia Molecular da Universidade de Fortaleza (UNIFOR).

3.7 Testes laboratoriais

3.7.1 Exames Específicos

3.7.1.1 Extração do RNA viral

A extração e purificação do RNA viral de dengue foi realizada através do kit QIAamp® Viral Mini Kit (QIAGEN, Valencia, CA)®, conforme as instruções fornecidas pelo fabricante. Para tanto, 140µL de cada amostra clínica foi lisada pelo tampão AVL e, após a lise, a amostra foi aplicada a uma coluna com afinidade para RNA viral e submetida a uma

centrifugação de 6000xg por 1 minuto. Após centrifugação, a amostra foi lavada duas vezes, uma com o tampão AW1 e outra com o tampão AW2. Terminada a lavagem, o RNA foi eluído da coluna, por 80µL do tampão AVE e estocado a -70°C.

3.7.1.2 Reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa (RT-PCR)

Na reação de RT-PCR foram utilizados as enzimas Omniscript e Sensiscript para a transcrição reversa e a enzima HotStarTaq para amplificação do material genético. Foram utilizados os oligonucleotídeos descritos por Lanciotti *et al* (1992), que permite a detecção dos quatro sorotipos do vírus (Tabela 1).

Tabela 1 - Oligonucleotídeos utilizados para amplificação do genoma dos vírus dengue e seus sorotipos.

Etiologia	Oligonucleotídeo	Sequência (5'-3')	Referência
Dengue	D1 (sense)	TCAATATGCTGAA ACGCGCGAGAAA CCG	LANCIOTTI <i>et al.</i> , 1992
	Ts1 (anti-sense)	CGTCTCAGTGATC CGGGGG	
	Ts2 (anti-sense)	CGCCACAAGGGCC ATGAACAG	
	Ts3 (anti-sense)	TAACATCATCATG AGACAGAGC	
	Ts4 (anti-sense)	CTCTGTTGTCTTA AACAAGAGA	

A reação de RT-PCR foi realizada seguindo as recomendações do fabricante. Inicialmente as amostras foram submetidas às temperaturas de 50°C por 30 minutos e de 95°C por 15 minutos para a realização da transcrição reversa, seguida por 40 ciclos de 94°C por 1 minuto, 55°C por 1 minuto, 72°C por 1 minuto. Para extensão, a etapa final da reação foi de 72°C por 10 minutos. Para a visualização dos fragmentos, foram utilizados 10 µL do produto da reação, 3µL do tampão de corrida e 2 µL do corante Gel Red™, essa mistura foi submetida à eletroforese horizontal (60V/L hora) em gel de agarose (St. Louis, EUA). Em seguida, o gel foi visualizado à luz ultravioleta e analisado através do equipamento Fluor Chem FC2® (Alpha Innotech, San Leandro, EUA).

3.7.1.3 Imunocromatografia - NS1 Ag Strip

O teste NS1 Ag Strip, é um teste de detecção qualitativa do antígeno NS1 do vírus dengue no soro ou plasma humano (Bio-Rad Laboratories, Marnes La Coquette, França). Este teste foi realizado seguindo as recomendações do fabricante. É um teste descartável que utiliza a imunocromatografia de fluxo lateral e auxilia no diagnóstico de infecção aguda. Essa proteína não estrutural fica presente na circulação de pacientes infectados desde o primeiro dia e até nove dias após o aparecimento da febre.

3.7.1.4 Dengue NS1 ELISA

A detecção do antígeno NS1 foi realizada no soro humano através da metodologia imunoenzimática comercializada pela Bioeasy (Bioeasy Diagnóstica Ltda). Este teste foi realizado seguindo as recomendações do fabricante.

3.7.1.5 ELISA dengue IgM

A sorologia para dengue foi realizada por meio do kit comercial imunoenzimático comercializada pela Bioeasy[□], para a detecção qualitativa de anticorpos IgM anti-dengue no soro dos pacientes, este teste foi realizado seguindo as recomendações do fabricante. Este é um teste específico e quantitativo, que detecta Ac IgM específicos contra o vírus dengue e indica infecção recente, eles estão mais elevados e duram mais na infecção primária do que na secundária.

3.7.1.6 ELISA dengue IgG

A sorologia para dengue foi realizada por meio do *kit* comercial imunoenzimático, comercializado pela BIOEASY[□], seguindo as recomendações do fabricante. Esse teste destina-se à detecção qualitativa de anticorpos IgG antidengue no soro dos pacientes.

3.7.1.7 Imunocromatografia - Dengue duo test bioeasy

Este teste foi realizado para a detecção simultânea da glicoproteína NS1 e de anticorpos IgG e IgM em amostras de soro e plasma e sangue total humano. Esse teste foi realizado conforme as indicações do fabricante. Para a realização do teste dengue NS1 Ag, utilizaram-se três gotas de soro que foram adicionadas na cavidade redonda de amostras (S). O resultado foi interpretado após 15 minutos. Para o teste DENGUE IgG/IgM, utilizaram-se 10 µL de soro que foram colocados na cavidade. Foram adicionadas 4 gotas de tampão diluente à cavidade e o resultado foi interpretado após 15 minutos.

3.7.2 Exames Inespecíficos

3.7.2.1 Hemograma completo

O hemograma foi realizado para avaliar as alterações do hematócrito, leucócitos, linfócitos e plaquetas. Neste estudo a contagem de plaquetas e as alterações do hematócrito foram utilizadas como marcadores de gravidade da doença, isso foi definido, pois é descrito na literatura que ocorre uma variação hematológica durante o curso da doença (LEE *et al*, 2006).

O hemograma foi realizado em contadores hematológicos, utilizando-se o aparelho automático de células sanguíneas Advia 120-SIEMENS, associado à análise microscópica. A metodologia utilizada foi de automatização com estudo morfológico em esfregaços corados em sangue total com EDTA.

3.7.2.2 Bioquímica

Os exames bioquímicos realizados foram os testes de função hepática para avaliar as aminotransferases (ALT e AST). Os testes da função renal foram realizados para avaliar a ureia e a creatinina e a diminuição da albumina no sangue. Esses testes foram realizados no equipamento automático de bioquímica (LABMAX 240 - LABTEST). Os valores de referências foram baseados na bula do *kit* do reagente do LABTEST® (Anexo).

A determinação da ALT e AST foi realizada pelo método cinético, em que a atividade da ALT/AST foi monitorada fotometricamente.

A ureia foi dosada pelo método enzimático e a creatinina, pelo método de Jaffér, que consiste na reação da creatinina com o picrato alcalino, formando um complexo de cor vermelha (picrato de creatinina). Albumina tem capacidade de se ligar a moléculas complexas de corante (verde de bromocresol), sendo assim, sua dosagem é medida pela proporção da sua ligação com o corante verde de bromocresol.

3.7.2.3 Coagulograma

Primeiramente foi realizado o teste para avaliar o TAP, incubando os reagentes a 37°C por 15 minutos no aparelho de coagulação semiautomático BFT II-SIEMENS. Após esta etapa, 50 µL de plasma citrado foi adicionado em uma cubeta com uma barra magnética e este foi incubado no aparelho por 60 segundos. Depois de terminado o tempo, 50 µL da tromboplastina cálcica foi adicionada na cubeta contendo a amostra, e o aparelho iniciou automaticamente a contagem para a formação do coágulo, parando somente quando o coágulo foi formado.

Para o TTPA, adicionou-se em uma cubeta de reação 50µL de cefalina com 50µL de plasma do paciente e incubou-se 120 segundos. Após o término do tempo, 50µL de cloreto de cálcio foi adicionado na cubeta e o aparelho dispara automaticamente, parando com a formação do coágulo. A relação é feita calculando o tempo em segundos do paciente dividindo pelo controle em segundos.

3.7.2.4 Prova do laço

A prova do laço foi realizada em 80 pacientes (93%), conforme manual do Ministério da Saúde de 2011, em que se obteve, através do esfigmomanômetro, o ponto médio entre a pressão arterial máxima e a mínima, mantendo-se essa pressão por 5 minutos. Foi desenhado um quadrado de 2,5 cm de lado no antebraço do paciente e depois foi contado o número de petéquias dentro da marcação realizada e consideramos a prova positiva quando houve 20 ou mais petéquias (BRASIL, 2011).

3.8 Aspectos Éticos

O projeto foi aprovado pelo comitê de Ética em Pesquisa do Hospital São José de Doenças Infecciosas e realizado 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.

3.9 Análises dos dados

Os dados oriundos das fichas de avaliação foram armazenados, digitados e analisados pela autora. Foi utilizado o programa Microsoft® Excel 2007, para a construção do banco de dados e a representação gráfica foi realizado através de tabelas, gráficos e figuras.

Na análise dos resultados dos testes inespecíficos foram feitas três comparações entre as médias do resultado de diferentes grupos de cada exame: a primeira comparação foi entre pacientes com dengue e pacientes que não apresentaram diagnóstico positivo para a doença, a segunda foi entre pacientes agrupados nos três tipos de dengue e, por fim, entre a primeira e a segunda coleta de cada exame, para cada um dos três grupos da dengue. Posteriormente, visando obter conclusões acerca da população a partir de tais resultados amostrais, aplicaram-se testes de hipótese ao nível de significância de 5%. Asteriscos foram marcados em cima dos grupos cuja diferença foi estatisticamente significativa.

Para dados amostrais normalmente distribuídos, utilizou-se o teste t pareado. Para dados não normalmente distribuídos optou-se pelo teste Wilcoxon. Para a inferência estatística da diferença entre as médias dos resultados de cada exame da Dengue Clássica, Febre Hemorrágica da Dengue e Dengue com Complicação, utilizou-se o teste ANOVA. Em alguns casos, quando se analisou a diferença entre grupos os quais não eram formados pelos mesmos indivíduos ou devido à escassez de dados na amostra, preferiu-se fazer opção por testes não pareados, como o teste t não pareado, ou o teste Mann-Witney, este último no caso da distribuição ser diferente da Gaussiana. Já o teste de normalidade adotado foi o D'Agostino-Pearson.

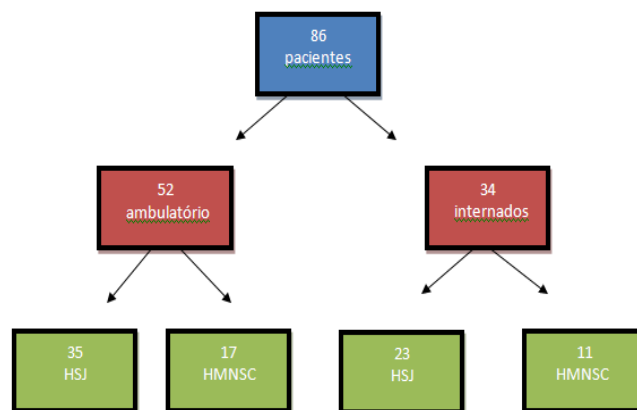
A avaliação da diferença entre os diferentes grupos foi feita pelo teste de qui-quadrado. Foram consideradas significativas as diferenças cujos testes tiveram um valor de $p < 0,05$.

4 RESULTADOS

4.1 Aspectos epidemiológicos

Durante o ano de 2010 foram recrutados 93 pacientes com suspeita clínica de dengue por busca ativa nos hospitais HSJ e HMNSC. Porém, só foram incluídos no estudo 86 pacientes, sendo que, 52 pacientes foram recrutados no ambulatório e 34 pacientes estavam hospitalizados. Sete pacientes foram excluídos do estudo por não preencherem aos critérios de inclusão, desses, 2 pacientes tinham idades inferiores a 18 anos e 5 pacientes apresentaram mais de 7 dias de febre e não estavam internados (Figura 7).

Figura 7 – Fluxograma dos 86 pacientes com suspeita de dengue.



Com relação ao hospital de origem que os pacientes foram recrutados, 58 pacientes (67,5%) foram recrutados no HSJ e 28 pacientes (32,5%) foram recrutados no HMNSC. Desses, identificamos uma igualdade em relação ao sexo e a faixa etária mais prevalente foi entre 18 a 38 anos, com uma idade mínima de 18 anos e máxima de 77. A ocorrência de indivíduos acima de 18 anos foi um dos nossos critérios de inclusão (Tabela 2, 3 e Gráfico 1).

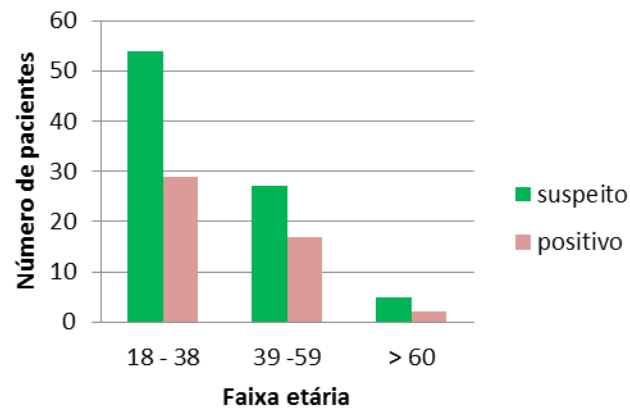
Tabela 2 - Distribuição dos 86 pacientes com suspeita de dengue quanto ao hospital de origem.

Hospital de Origem	Nº	Total de pacientes (%)
HSJ	58	67,5
HMNSC	28	32,5
Total	86	100

Tabela 3 - Distribuição dos 86 pacientes com suspeita de dengue quanto ao sexo.

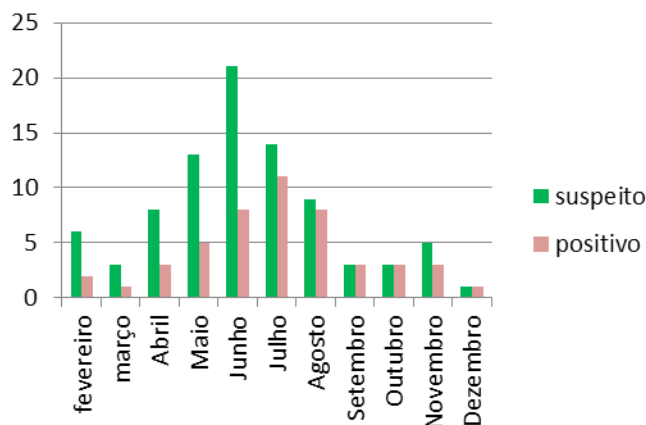
Sexo	Nº	Total de pacientes (%)
Feminino	43	50
Masculino	43	50
Total	86	100

Gráfico 1 – Distribuição da população estudada com suspeita de dengue (n=86) de acordo com a confirmação do diagnóstico e a faixa etária



Neste estudo observamos que o número de casos foi crescente de março a junho. A partir de julho começa a decrescer, tornando-se estável até dezembro (Gráfico 2).

Gráfico 2 - Distribuição da população estudada com suspeita de dengue (n=86) de acordo com a confirmação do diagnóstico e o mês de ocorrência



Quando analisamos os dados de acordo com a procedência geográfica dos pacientes, observamos que 71 pacientes (83%) residiam em Fortaleza, enquanto que 15 pacientes (17%) pertenciam a outros municípios.

4.2 Aspectos clínicos

Na tabela 4 observamos a classificação que foi realizada nos pacientes de acordo com o estadiamento clínico. Os pacientes foram definidos como Grupo A, B, C ou D, sendo que, o grupo que apresentou o maior número de pacientes foi o grupo A com 60,5% dos pacientes.

Tabela 4 - Distribuição dos 86 pacientes com suspeita de dengue de acordo com a classificação de risco da dengue (classificação preconizada pelo MS, 2011)

Classificação de risco	Nº	Total de pacientes (%)
Grupo A	52	60,5
Grupo B	30	34,8
Grupo C	3	3,5
Grupo D	1	1,2
Total	86	100

Grupo A- Prova do laço negativo ou ausência de manifestações hemorrágicas espontâneas. **Grupo B-** Prova do laço positiva ou manifestações hemorrágicas espontâneas. **Grupo C e D-** Presença de algum sinal de alarme (C) ou choque (D), com manifestações hemorrágicas presentes ou ausentes.

Os sinais e sintomas mais prevalentes dos 86 pacientes com suspeita clínica de dengue foram: febre, cefaleia, mialgia, artralgia, dor retro-orbitária, prostração e exantema (Tabela 5), sendo possível identificar 19 pacientes (22%) com sinais de alarme à admissão (Tabela 6). Dos 19 pacientes, o sinal de alarme mais prevalente nesses pacientes foram a dor abdominal intensa em 6 pacientes (Tabela 6).

Tabela 5 – Sinais e sintomas dos 86 pacientes com suspeita de dengue.

Sinais e sintomas	Total de pacientes (n=86) (%)
Febre	86 (100)
Cefaléia	80 (93)
Mialgia	74 (86)
Artralgia	57 (66)
Dor retro-orbitária	47 (55)
Prostração	45 (52)
Exantema	37 (43)

Tabela 6 – Frequência dos sinais de alarme referente aos 19 pacientes com suspeita de dengue.

Sinal de alarme	Total de pacientes (n=19) (%)
Dor abdominal intensa	6 (31,5)
Hepatomegalia dolorosa	1 (5,2)
Hipotensão postural	2 (10,5)
Desconforto respiratório	2 (10,5)
Queda abrupta das plaquetas	4 (21)
Aumento repentino do hematócrito	4 (21)

Com relação à história pregressa dos pacientes do estudo foram descritos: 6 pacientes (7%) com hipertensão arterial sistêmica, 2 pacientes HIV (3%), hipotireoidismo, doença péptica, doença autoimune (doença de Still), doenças hematológicas crônica, Púrpura Trombocitopênica Idiopática (PTI) e asma. Desses, 11 pacientes (13%) relataram viagem nos últimos 30 dias e outros 3 (3,5%) tiveram contatos com enxurradas e ratos.

As principais complicações encontradas nos pacientes que estavam entre do 1º ao 5º dia de doença foram: plaquetopenia (\leq a 50.000/mm³) em 20 pacientes (23,2%), insuficiência hepática em 5 pacientes (5,8%), derrame pleural em um paciente (1,2%), um derrame pericárdico (1,2%) e um óbito (1,2%) sem diagnóstico, pela recusa de necropsia. Não foram encontradas manifestações neurológicas e nem leucometria \leq 1.000/mm³.

Em relação às manifestações hemorrágicas, 59 pacientes apresentaram hemorragias à admissão, sendo que 13 (15%) pacientes apresentaram hemorragias cutâneas, 7 (8%) hemorragias digestivas, 14 (16%) apresentaram outras hemorragias (hematúria, gengivorragia e epistaxe) e 5 (6%) mulheres com metrorragia (Tabela 7).

Dentre os 86 pacientes avaliados 80 realizaram a prova do laço (93%), apresentando uma positividade em 20 (23,2%).

Tabela 7 – Frequência das manifestações hemorrágicas em 86 pacientes com suspeita de dengue.

Manifestações hemorrágicas	Total de pacientes (n=86) (%)
Hemorragias cutâneas	13 (15)
Hemorragias digestivas	7 (8)
Metrorragias	5(6)
Outras	14 (16)
Prova do laço	20 (23,2)

4.3 Diagnóstico laboratorial da dengue

Dentre os 86 pacientes com suspeita clínica de dengue, 48 (56%) tiveram confirmação laboratorial do diagnóstico através da detecção do vírus ou antígenos virais pelas técnicas: RT-PCR e NS1 e/ou anticorpos específicos do tipo IgM. Os 38 pacientes que não apresentaram positividade em nenhum dos testes diagnósticos específicos para dengue foram considerados não portadores da doença (pacientes negativos para dengue). Dentre os 48 pacientes com dengue, 27 foram atendidos na emergência e 21 estavam internados. Desses 27 pacientes, 17 foram atendidos no HSJ e 10 no HMNSC. Entre os 21 pacientes internados, 19 pertenciam no HSJ e 2 no HMNSC.

O sexo feminino foi o mais acometido com 52% e sexo masculino representou 48% sendo que, a razão feminino/ masculino foi de 1,1: 1. Em relação à idade, a faixa etária predominante foi de 18 aos 38 anos na DC e na FHD. Enquanto, na DCC, a faixa dominante foi dos 39 aos 59 anos e desses, 92 % apresentaram plaquetopenia \leq a 50.000/mm³ (Tabela 8).

Tabela 8 – Número e porcentagem de pacientes com dengue, segundo sexo, faixa etária e tipo de dengue (classificação do MS, 2011).

Variáveis	DC 26 (54%)		FHD 10 (21%)		DCC 12 (25%)		Total 48 (100%)	
	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
Sexo								
Feminino	14	56	6	24	5	20	25	52
Masculino	12	52,1	4	17,4	7	30,4	23	48
Faixa Etária								
18-38	18	62	6	20	5	17,2	29	60
39-59	7	41,1	3	17,6	7	41,1	17	36
>60	1	50	1	50	-	-	2	4

A tabela 9 apresenta os sinais e sintomas gerais observados no quadro clínico de dengue, sendo que a cefaleia foi a mais predominante nesses pacientes. Neste estudo, a febre foi um dos critérios de inclusão, portanto, esteve presente em 100% dos pacientes (Tabela 9).

Tabela 9 – Sinais e sintomas nos 48 pacientes com dengue.

Sinais e sintomas	Total de pacientes (%)
Febre	48 (100)
Cefaleia	43 (89,5)
Mialgia	41 (85,4)
Artralgia	31 (64,5)
Prostração	27 (56,2)
Exantema	26 (54)
Dor retro-orbitária	24 (50)

Na tabela 10, observamos os sinais de alerta ou gravidade dos pacientes positivos para dengue, sendo a dor abdominal intensa presente em 6 (12,5%) pacientes. Não observamos manifestações neurológicas ou derrames cavitários na população avaliada (Tabela 10).

Tabela 10 - Sinais de alarme em 48 pacientes com dengue.

Sinais de Alarme	Total de pacientes (%)
Dor abdominal intensa	6 (12,5)
Insuficiência hepática	5 (10,4)
Hipotensão arterial postural	1 (2,0)

Dos 48 pacientes positivos para dengue, 20 apresentaram manifestações hemorrágicas espontâneas, contudo somente 15 tinham plaquetopenia (plaquetas < 100.000/mm³). Nas hemorragias espontâneas, as mais frequentes foram as hemorragias cutâneas em 6 pacientes.

A prova do laço foi realizada em todos os 48 pacientes positivos para a dengue, e destes 16 pacientes (33,3%) foram positivos (Tabela 11).

Tabela 11 – Frequência das manifestações hemorrágicas nos 48 pacientes com dengue.

Manifestações hemorrágicas	Total de pacientes (n=48) (%)
Hemorragias cutâneas	6(12,5)
Hemorragias digestivas	4(8,3)
Metrorragias	3(6,2)
Outros	7(14,5)
Prova do laço	16(33,3)

Segundo a classificação de gravidade do MS, os casos classificados como FHD Grau II ocorreram na maioria dos pacientes desse estudo representando 60% dos casos. Não houve casos de gravidade clínica máxima (Grau IV) (Tabela 12).

Tabela 12– Classificação dos 10 casos de FHD de acordo com os critérios de gravidade do MS.

Classificação	Ambulatório	Enfermaria	Total (%)
Grau I	1	1	2(20)
Grau II	2	5	7(70)
Grau III	-	1	1(10)
Grau IV	-	-	0(0)
Total	3	7	10(100)

Grau I – Única manifestação hemorrágica é a prova do laço positiva. **Grau II** – Hemorragias espontâneas leves (sangramento de pele, epistaxe, gengivorragias e outros). **Grau III** – Colapso circulatório. **Grau IV** – Síndrome do Choque da dengue.

Dos trinta e oito pacientes que foram negativos para dengue, um paciente evoluiu ao óbito (necropsia negada pela família) e oito foram diagnosticados como: 3 tiveram diagnóstico confirmado de leptospirose; 1 leucemia; 1 infecção urinária; 1 meningite viral; 1 púrpura trombocitopênica idiopática (PTI); 1 pancitopenia à esclarecer. Dois pacientes tiveram diagnóstico confirmado simultaneamente para leptospirose e dengue.

A distribuição em relação ao sexo, idade e os sintomas foram bastante semelhantes entre os grupos de pacientes com e sem confirmação laboratorial do diagnóstico de dengue. As diferenças de positividade observada para os sintomas referidos nos 2 grupos demonstraram que apenas o exantema e o distúrbio hemorrágico foram os que apresentaram significância estatística (Tabela 13).

Tabela 13 – Sintomas apresentados por pacientes confirmados de dengue versus pacientes com Síndrome febril indiferenciada.

Sintomas	Casos de dengue		Casos negativos para dengue		p
	n°	%	n°	%	
Febre	48	100	38	100	0,281
Cefaleia	43	89,5	37	97,3	0,502
Mialgia	41	85,4	33	86,8	0,352

Artralgia	31	64,5	26	68,4	0,508
Dor retro-orbitária	24	50	23	60,5	0,884
Prostração	27	56,2	19	50	0,238
Exantema	26	54,1	12	31,5	0,023*
Distúrbio Hemorrágico	22	45,8	8	21	0,011*

*Diferença significante: $p < 0.05$ (Teste qui quadrado).

A maioria dos casos confirmados de dengue eram procedente da capital (75%) e os principais sintomas quando comparado com pacientes que residiam no interior foram: cefaleia, prostração e dor retro-orbitária. A mialgia (91,6%), artralgia (83,3%) e as manifestações hemorrágicas foram mais prevalentes nos pacientes que residiam no interior (Tabela 14).

Tabela 14 - Frequência de sinais e sintomas de pacientes com dengue segundo a procedência.

Proporção de pacientes com dengue que apresentaram sinais ou sintomas			
Sinais e Sintomas	Fortaleza n= 36 (75%)	Interior n=12 (25%)	P
Febre	36 (100)	12 (100)	1
Cefaleia	36 (100)	10 (83,3)	0,209
Mialgia	30 (83,3)	11(91,6)	0,496
Artralgia	21 (58,3)	10 (83,3)	0,035*
Dor retro-orbitária	19 (52,7)	5 (41,6)	0,259
Prostração	21 (58,3)	5 (41,6)	0,110
Exantema	20 (55,5)	5 (41,6)	0,157
Epistaxe	2 (5,5)	3 (25)	0,001*
Hemorragias cutâneas ¹	6 (16,6)	2 (16,6)	1
Gengivorragia	-	3 (25)	
Metrorragia	2 (5,5)	1 (8,3)	0,593
Hematúria	-	-	
Hemorragias digestivas ²	-	3 (25)	
Vômitos	-	1 (8,3)	
Dor abdominal	3 (8,3)	2 (16,6)	0,072
Hepatomegalia	-	-	
Hipotensão	1 (2,7)	-	
Choque	-	-	
Manifestações	-	-	

neuroológicas			
Insuficiência hepática	2 (5,5)	3 (25)	0,593
Derrame Pericárdico	-	-	
Derrame pleural	-	-	
Prova do laço	9 (25)	7 (58,3)	0,001*

1.Petéquias e equimoses, 2.Hematêmese e enterorragia.
*Diferença significante: p< 0.05 (Teste qui- quadrado)

Entre os 48 pacientes positivos para dengue, o sexo feminino foi o mais acometido, com 25 casos (52%), o sexo masculino representou 48% ou 23 casos. Os principais sintomas que acometeram o sexo feminino foram mialgia, cefaleia e artralgia, enquanto que nos homens o exantema prevaleceu com 57,1% (Tabela 15).

Tabela 15 - Frequência de sinais e sintomas de pacientes com dengue segundo o sexo.

Proporção de pacientes com dengue que apresentaram sinais ou sintomas			
Sinais e sintomas	Masculino n=23(48%)	Feminino n=25 (52%)	P
Febre	23 (100)	25 (100)	1
Cefaleia	20 (86,9)	23 (92)	0,709
Mialgia	17 (73,9)	24 (96)	0,092
Artralgia	13 (56,5)	18 (72)	0,187
Dor retro-orbitária	11 (47,8)	13 (52)	0,689
Prostração	11 (47,8)	15 (60)	0,248
Exantema	12 (57,1)	13 (52)	0,632
Epistaxe	1 (4,3)	4 (16)	0,007
Hemorragias cutâneas¹	1 (4,3)	6 (24)	0,001*
Gengivorragia	2 (8,6)	1 (4)	0,166
Metrorragia	-	3 (12)	
Hematúria	-	-	
Hemorragias digestivas²	4 (17,3)	-	
Vômitos	-	1 (4)	
Dor abdominal	4 (17,3)	1 (4)	0,005*
Hepatomegalia	-	-	
Hipotensão	-	1 (4)	
Choque	-	-	
Manifestações neurológicas	-	-	
Insuficiência hepática	5 (21,7)	-	
Derrame Pericárdico	-	-	
Derrame pleural	-	-	
Prova do laço	8 (34,7)	8 (32)	0,714

1. Petéquias e equimoses, 2.Hematêmese e enterorragia.

O quadro clínico quando analisado segundo a idade, apresentou alguns sintomas ou sinais mais prevalentes. Na faixa etária que correspondia a 18 a 38 anos a mialgia foi a mais prevalente quando comparada com a faixa etária de 39 a 59 anos. A cefaléia e mialgia foram encontradas em todos os pacientes na faixa etária de maior de 60 anos. (Tabela 16).

Tabela 16- Frequência de sinais e sintomas de pacientes com dengue segundo a idade.

Proporção de pacientes com dengue que apresentaram sinais ou sintomas				
Sinais e sintomas	18 a 38 anos* n=29 (60%)	39 a 59 anos* n=17 (36%)	>60 anos* n=2 (4%)	P
Febre	29 (100)	17 (100)	2 (100)	1
Cefaleia	26 (89,6)	15 (88,2)	2 (100)	0,640
Mialgia	27 (93,1)	12 (70,5)	2 (100)	0,074
Artralgia	20 (68,9)	10 (58,8)	1 (50)	0,218
Dor retro-orbitária	17 (58,6)	6 (35,2)	1 (50)	0,047*
Prostração	16 (55,1)	9 (52,9)	1 (50)	0,887
Exantema	15 (51,7)	9 (52,9)	1 (50)	0,956
Hemorragias cutâneas ¹	2 (6,8)	3 (17,6)	-	
Petéquia	4 (13,7)	4 (23,5)	-	
Gengivorragia	-	3 (17,6)	-	
Metrorragia	3 (10,3)	-	-	
Hematúria	-	-	-	
Hemorragias digestivas ²	1 (3,4)	2 (11,7)	-	
Vômitos	1 (3,4)	-	-	
Dor abdominal	3 (10,3)	2 (11,7)	-	
Hepatomegalia	-	-	-	
Hipotensão	1 (3,4)	-	-	
Choque	-	-	-	
Manifestações neurológicas	-	-	-	
Insuficiência hepática	1 (3,4)	4 (23,5)	-	
Derrame pericárdico	-	-	-	
Derrame pleural	-	-	-	
Prova do laço	7 (24,1)	8 (47)	1 (50)	0,007*

*Faixa etária de 18 a 38 anos (N=29); 39 a 59anos (N=17) e maior ou igual a 60 anos (N=2)

1. Petéquias e equimoses, 2 .Hematêmese e enterorragia.

*Diferença significante: $p < 0.05$ (Teste qui- quadrado)

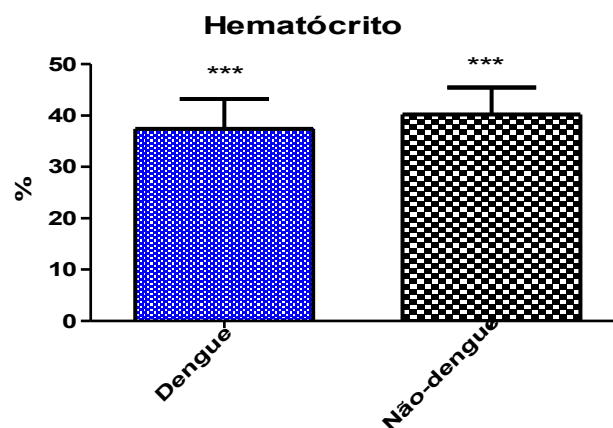
4.3.1 Exames inespecíficos

Os achados laboratoriais inespecíficos foram analisados comparando-se os valores da média e do desvio padrão em 3 situações: a primeira comparação foi entre pacientes com dengue e pacientes que não apresentaram diagnóstico positivo para a doença, a segunda foi entre pacientes agrupados nas 3 classificações da dengue e, por fim, entre a primeira e a segunda coleta de cada exame, para cada um das 3 classificações da dengue. A apresentação dos resultados em figura foi escolhida pela melhor visualização da média e do desvio padrão.

4.3.1.1 Hematócrito

Dos 86 pacientes com suspeita de dengue, 4 (4,7%) apresentaram queda do hematócrito maior que 20% do valor inicial após hidratação, caracterizando hemoconcentração. Quando analisamos os 48 pacientes positivos para dengue com os 38 pacientes negativos, a maior média foi observada nos pacientes negativos para dengue. Conforme demonstrado na figura 8, a diferença entre as médias foi estatisticamente significativa (Figura 8).

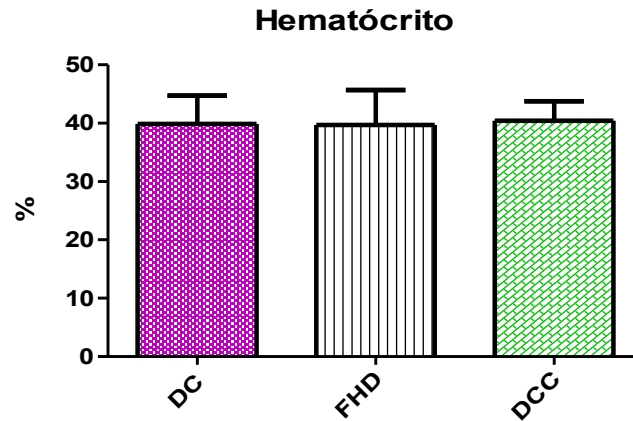
Figura 8 - Determinação do hematócrito em relação à dengue e a outras infecções (não dengue).



*Diferença significativa: $p < 0.05$ (Teste T não pareado)

Não identificamos diferenças significativas na média do hematócrito, nas 3 classificações, sendo que a maior média foi na DCC com 41,63 % (Figura 9)

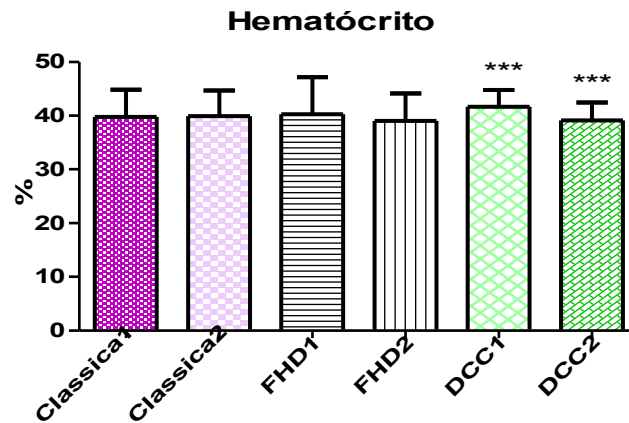
Figura 9 - Distribuição da porcentagem de hematócrito em relação à DC, FHD e DCC.



*Diferença significante: $p < 0.05$ (Teste ANOVA)

Quando foi comparado o hematócrito da primeira e da segunda coleta para cada um dos três grupos de dengue, observou-se a maior média na DCC e que a diferença entre as médias da 1ª e a 2ª coleta da DCC foi estatisticamente significante. (Teste T pareado) (Figura 10).

Figura 10 – Distribuição da porcentagem de hematócrito em relação a DC, FHD e DCC (1ª e 2ª coleta)



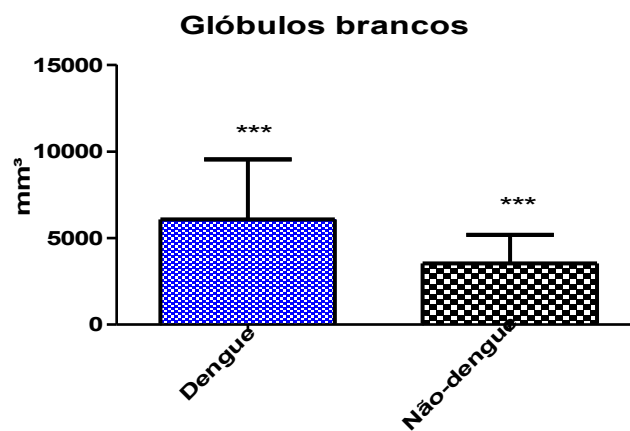
Clássica 1 - 1ª coleta FHD 1 - 1ª coleta DCC 1 - 1ª coleta
 Clássica 2 - 2ª coleta FHD 2 - 2ª coleta DCC 2 - 2ª coleta

*Diferença significante: $p < 0.05$ (Teste T pareado)

4.3.1.2 Glóbulos brancos

Dos 86 pacientes analisados, nenhum paciente apresentou um valor menor que 1.000mm^3 . A maior média foi entre os pacientes com dengue e a diferença entre as médias foi estatisticamente significativa (Figura 11).

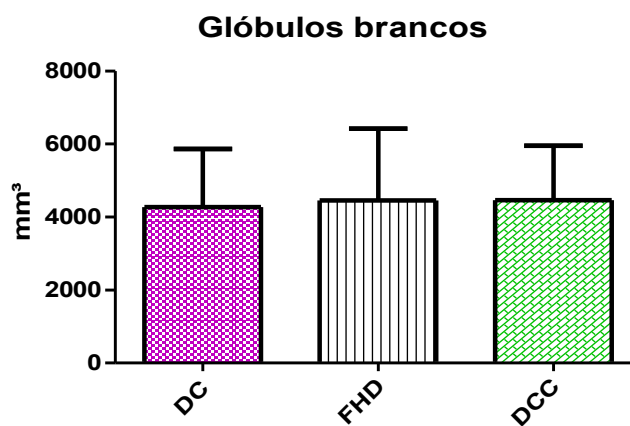
Figura 11 – Determinação dos glóbulos brancos em relação à dengue e a outras infecções (não dengue).



*Diferença significativa: $p < 0.05$ (Teste T não pareado)

Não foi observada diferença estatística, entre as médias dos glóbulos brancos nas 3 classificações clínicas da dengue (Figura 12).

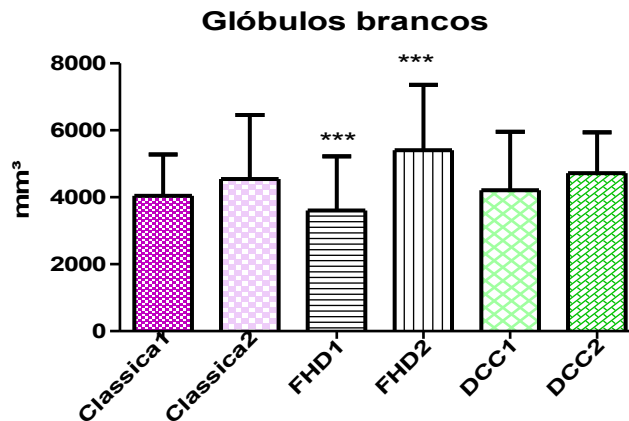
Figura 12 – Distribuição da contagem de glóbulos brancos em relação à DC, FHD e DCC.



*Diferença significativa: $p < 0.05$ (Teste ANOVA)

Quanto à distribuição da porcentagem de glóbulos brancos em relação à DC, FHD e DCC (1ª e 2ª coleta), houve elevação da média entre a primeira e a segunda coleta, porém, só foi estatisticamente significativa na FHD (Figura 13).

Figura 13 – Distribuição da contagem de glóbulos brancos em relação à DC, FHD e DCC (1ª e 2ª coleta).

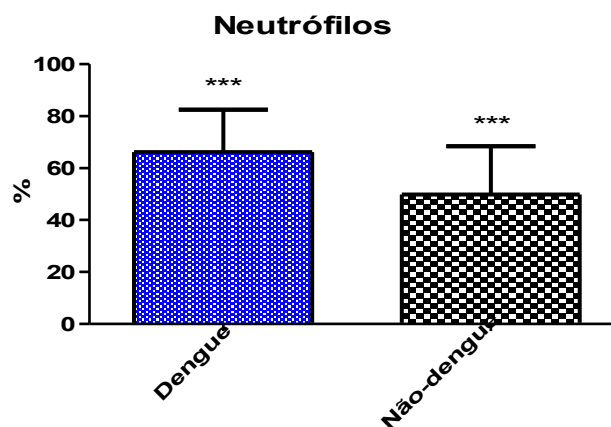


Clássica 1 - 1ª coleta FHD 1 - 1ª coleta DCC 1 - 1ª coleta
 Clássica 2 - 2ª coleta FHD 2 - 2ª coleta DCC 2 - 2ª coleta
 *Diferença significativa: $p < 0.05$ (Teste T pareado)

4.3.1.3 Neutrófilos

A maior média dos neutrófilos foi observada nos pacientes com dengue e tal diferença foi estatisticamente significativa (Figura 14).

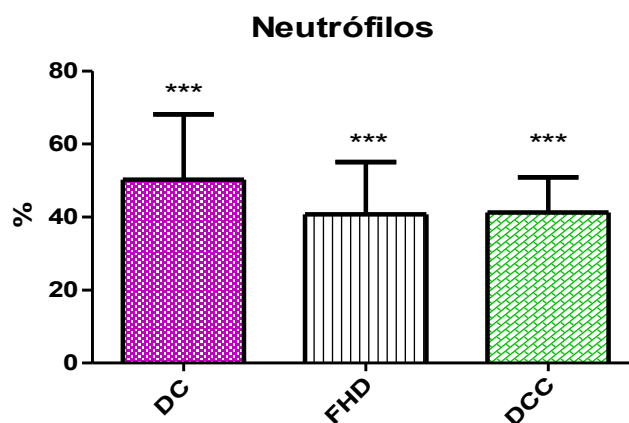
Figura 14 – Determinação dos neutrófilos em relação à dengue e a outras infecções (não dengue).



*Diferença significativa: $p < 0.05$ (Teste Mann- Witney)

Quando analisada a média dos neutrófilos em relação à DC, FHD e DCC, o maior valor encontrado foi na classificação DC. Segundo o teste de significância, tal diferença entre as médias tem uma probabilidade muito alta de refletir em dados da população (Figura 15)

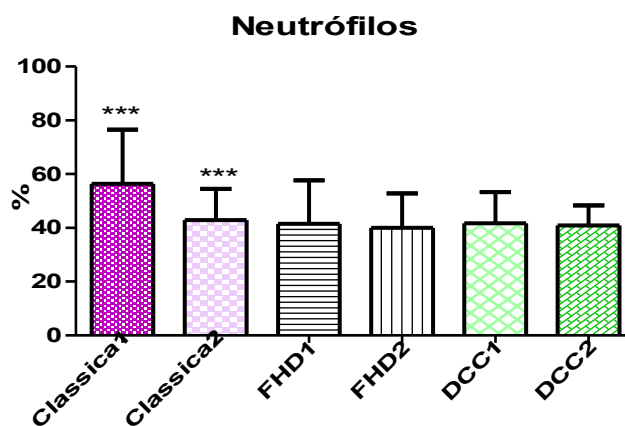
Figura 15 – Distribuição da porcentagem de neutrófilos em relação à DC, FHD e DCC.



*Diferença significante: $p < 0.05$ (Teste ANOVA)

Quanto à distribuição da porcentagem de neutrófilos em relação à DC, FHD e DCC (1ª e 2ª coleta), houve diferença entre as médias entre a primeira e segunda coleta em todas as classificações da dengue. No entanto, somente a diferença entre as coletas da DC foi estatisticamente significante (Figura 16).

Figura 16 – Distribuição da porcentagem de neutrófilos em relação à DC, FHD e DCC (1ª e 2ª coleta).

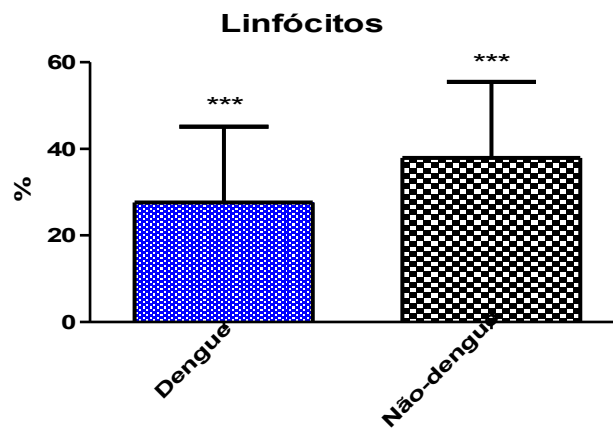


Clássica 1 - 1ª coleta FHD 1 - 1ª coleta DCC 1 - 1ª coleta
 Clássica 2 - 2ª coleta FHD 2 - 2ª coleta DCC 2 - 2ª coleta
 *Diferença significante: $p < 0.05$ (Teste T pareado)

4.3.1.4 Linfócitos

A atipia linfocitária foi encontrada em 5 pacientes (5/48), sendo 3 (6,2%) nos pacientes classificados como DCC e 2 nos pacientes classificados como DC. Quando foram comparadas as diferenças das médias, os pacientes negativos para dengue tiveram uma maior média e foram estatisticamente significantes (Figura 17).

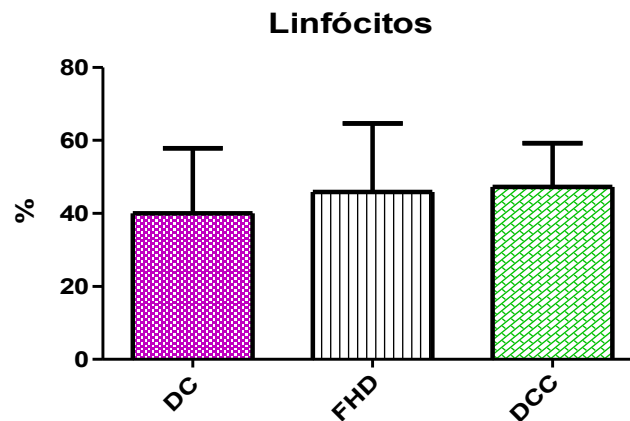
Figura 17 – Determinação de linfócitos em relação a dengue e a outras infecções (não dengue).



*Diferença significativa: $p < 0.05$ (Teste Mann- Witney)

A linfocitose foi observada nas formas mais graves da dengue como: FHD e DCC. Quando analisada a diferença da média dos linfócitos em relação à DC, FHD e DCC não foi estatisticamente significativa (Figura 18).

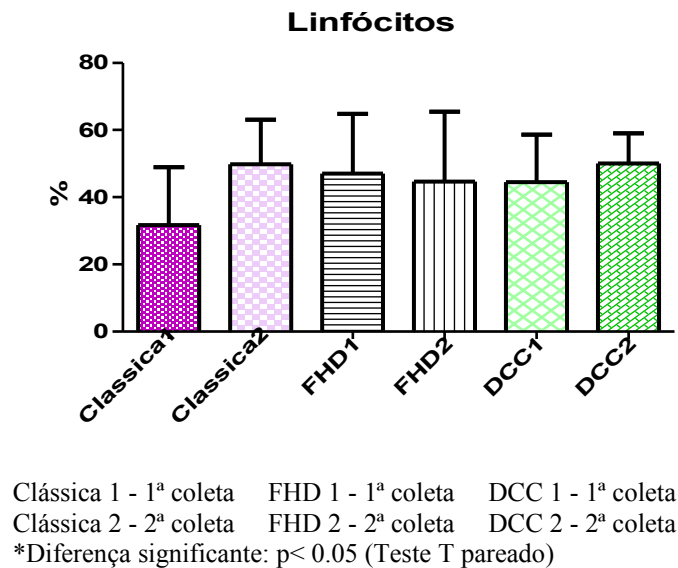
Figura 18 – Distribuição da porcentagem de linfócitos em relação à DC, FHD e DCC.



*Diferença significativa: $p < 0.05$ (Teste ANOVA)

A diferença entre a primeira e a segunda coleta não foi estatisticamente significativa (Figura 19).

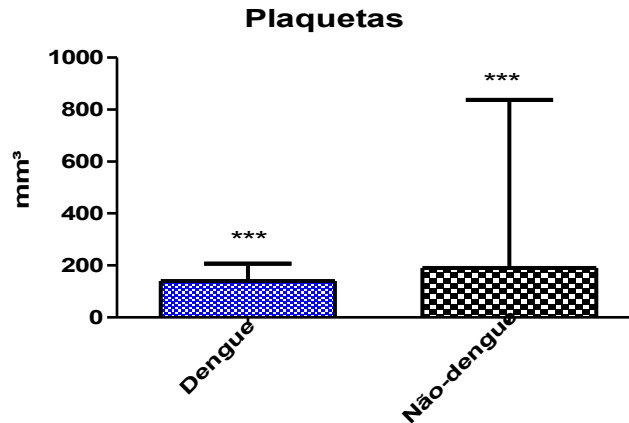
Figura 19 – Distribuição da porcentagem de linfócitos em relação à DC, FHD e DCC (1ª e 2ª coleta).



4.3.1.5 Plaquetas

Quando analisada a plaquetimetria dos pacientes estudados (86) notou-se que 37 pacientes (43%) tiveram plaquetas menores que 100.000 mm^3 . Destes, 25 eram dengue positivos e 12 pacientes com plaquetopenia eram dengue negativos. Quando associamos plaquetopenia e manifestações hemorrágicas, somente 20 pacientes dengue positivos apresentaram plaquetopenia e manifestações hemorrágicas espontâneas associadas. Dos 12 pacientes dengue negativos, somente 5 tinham alguma associação. Houve diferença estatística nas médias das plaquetas dos casos de dengue com os definidos como não-dengue (Figura 20).

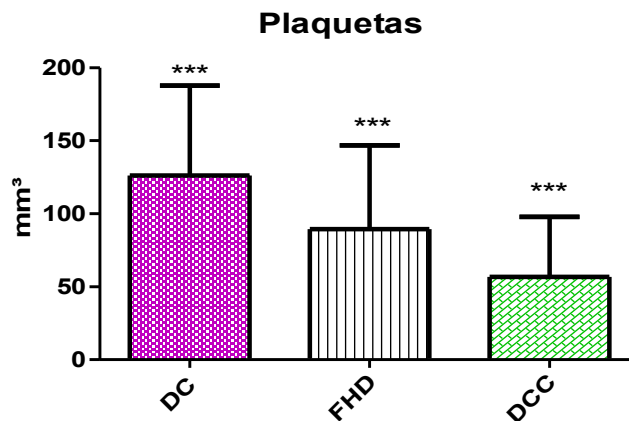
Figura 20 – Determinação da contagem das plaquetas em relação à dengue e a outras infecções (não dengue).



*Diferença significante: $p < 0.05$ (Teste Mann- Witney)

A plaquetopenia foi mais evidente na DCC, porém, a diferença entre as médias nas 3 classificações da dengue apresentou-se estatisticamente significativa (Figura 21).

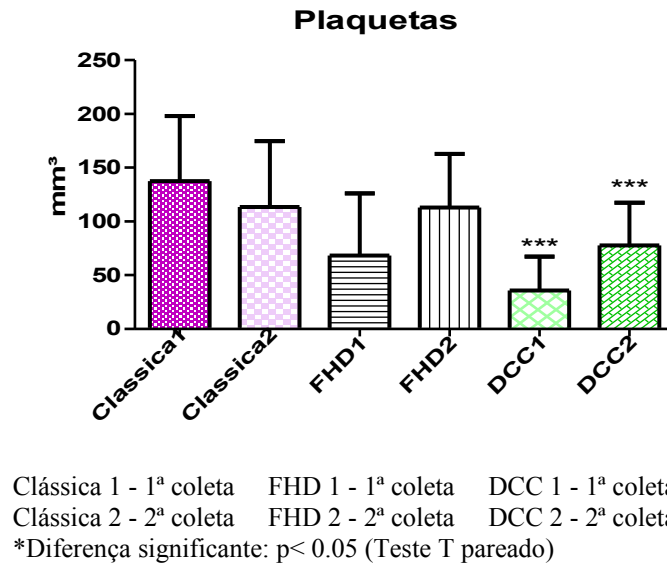
Figura 21 – Distribuição da contagem das plaquetas em relação à DC, FHD e DCC.



*Diferença significante: $p < 0.05$ (Teste ANOVA)

A diferença entre a primeira e a segunda coleta na DCC foi estatisticamente significativa (Figura 22).

Figura 22 – Distribuição da contagem das plaquetas em relação à DC, FHD e DCC (1ª e 2ª coleta).



4.3.1.6 AST

Dos 86 pacientes com suspeita de dengue, somente 9 (10,5%) tiveram AST >200U/L. A maior média ocorreu nos pacientes dengue negativo e a diferença entre as médias dos pacientes com dengue e os que não tinham a doença foi estatisticamente significativa (Figura 23). A diferença entre as médias nas 3 classificações da dengue apresentou-se estatisticamente significativa, a maior média ocorreu na DCC com 183,5U/L (Figura 24). A diferença entre a primeira e a segunda coleta de DC, FHD e DCC foi estatisticamente insignificante (Figura 25).

Figura 23 – Determinação da dosagem da aminotransferase aspartato sérica em relação à dengue e a outras infecções (não dengue).

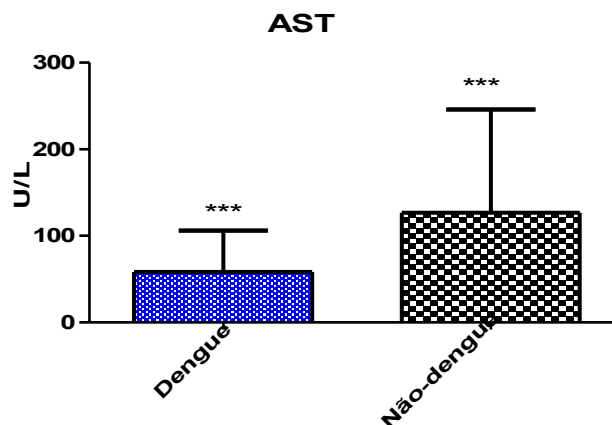


Figura 24 – Distribuição da dosagem da aminotransferase aspartato sérica em relação à DC, FHD e DCC

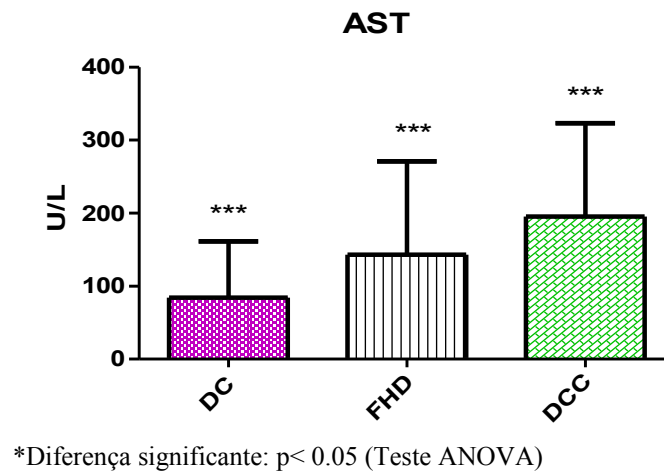
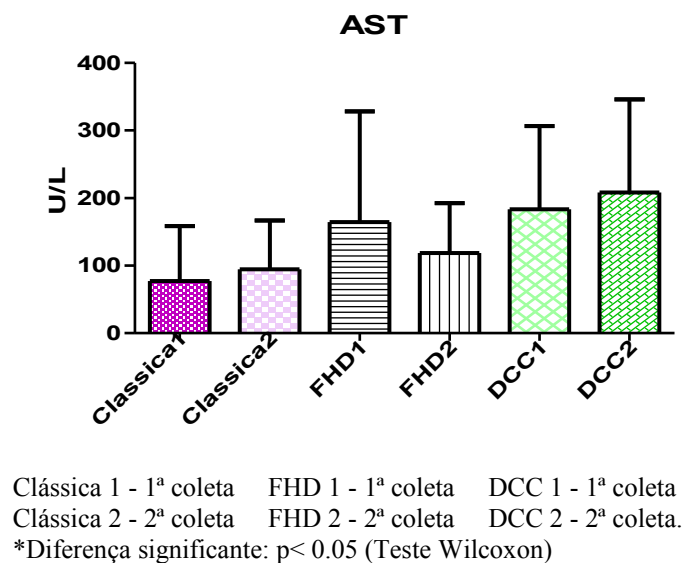


Figura 25 – Distribuição da dosagem da aminotransferase aspartato sérica em relação à DC, FHD e DCC (1ª e 2ª coleta).

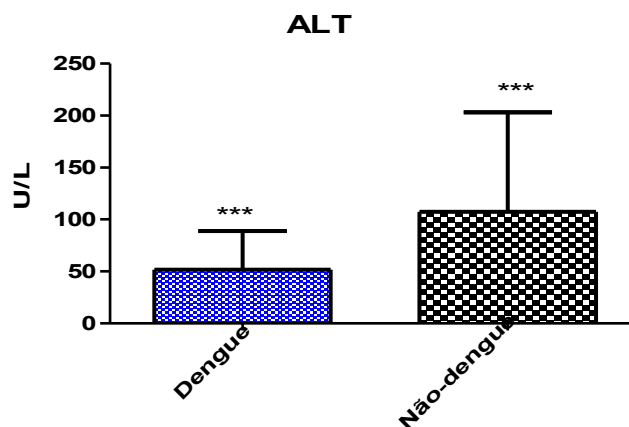


4.3.1.7 ALT

Quanto à aminotransferase alanina sérica, 5 pacientes (5/86) tiveram valores maiores que 200U/L. A maior média foi nos pacientes negativos para dengue, a diferença entre as médias dos pacientes com dengue e os que não tinham a doença foi estatisticamente significante (Figura 26). Quando comparamos as três formas clínicas observamos uma maior média na DCC. A diferença entre as médias das três formas clínicas apresentou-se estatisticamente significante (Figura 27). A diferença entre a primeira e a segunda coleta foi

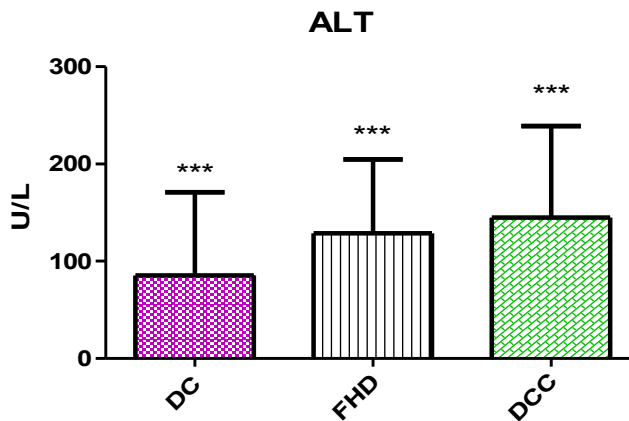
estatisticamente significativa com um aumento da média entre a 1ª e 2ª coleta na DCC (Figura 28).

Figura 26 – Determinação da dosagem da aminotransferase alanina sérica em relação à dengue e a outras infecções (não dengue).



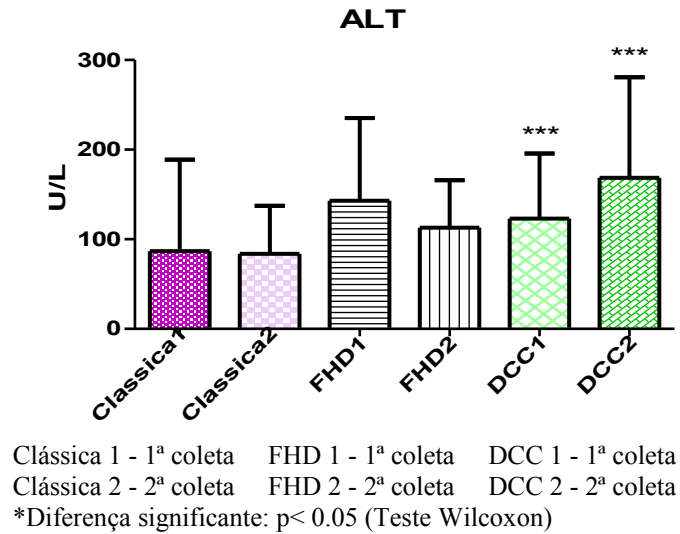
*Diferença significativa: $p < 0.05$ (Teste Mann- Witney)

Figura 27 – Distribuição da dosagem da aminotransferase alanina sérica em relação à DC, FHD e DCC.



*Diferença significativa: $p < 0.05$ (Teste ANOVA)

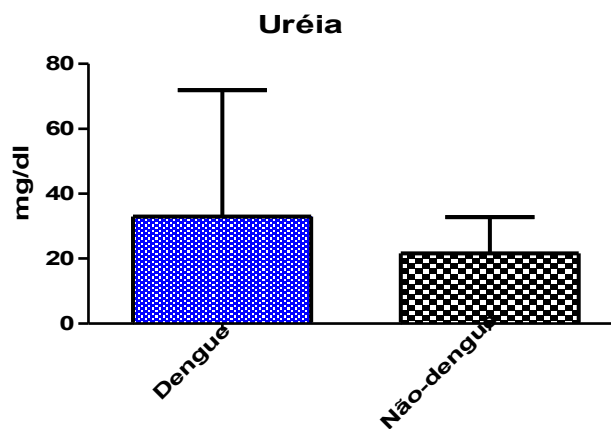
Figura 28 – Distribuição da dosagem da aminotransferase alanina sérica em relação à DC, FHD e DCC (1ª e 2ª coleta).



4.3.1.8 Ureia

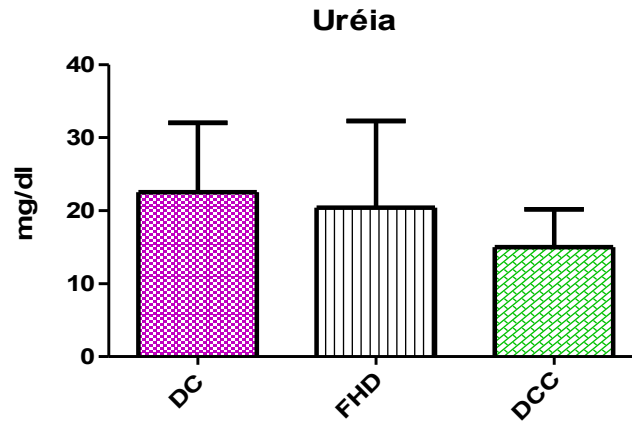
Três pacientes (3/86) tiveram dosagem de ureia maior que 40mg/dl. Não houve diferença estatística significativa entre as médias dos pacientes com dengue e os que não tinham a doença, quando analisamos a ureia entre as três formas clínicas e entre a primeira e a segunda coleta (Figura 29, 30 e 31).

Figura 29 – Determinação da dosagem da ureia em relação à dengue e a outras infecções (não dengue).



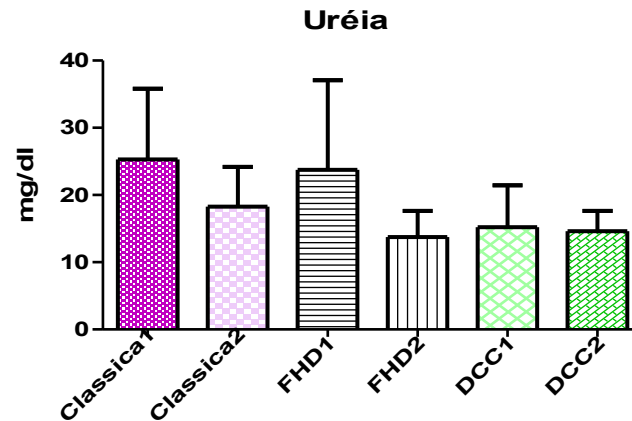
*Diferença significante: $p < 0.05$ (Teste Mann- Witney)

Figura 30 – Distribuição da dosagem da ureia em relação à DC, FHD e DCC.



*Diferença significante: $p < 0.05$ (Teste ANOVA)

Figura 31 – Distribuição da dosagem da ureia em relação à DC, FHD e DCC (1ª e 2ª coleta).

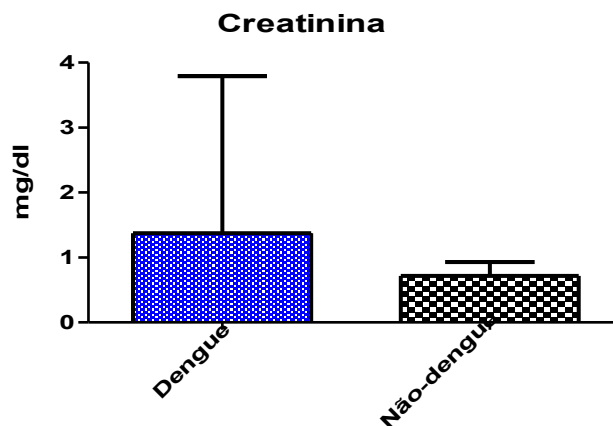


Clássica 1 - 1ª coleta FHD 1 - 1ª coleta DCC 1 - 1ª coleta
 Clássica 2 - 2ª coleta FHD 2 - 2ª coleta DCC 2 - 2ª coleta
 *Diferença significante: $p < 0.05$ (Teste Mann- Witney)

4.3.1.9 Creatinina

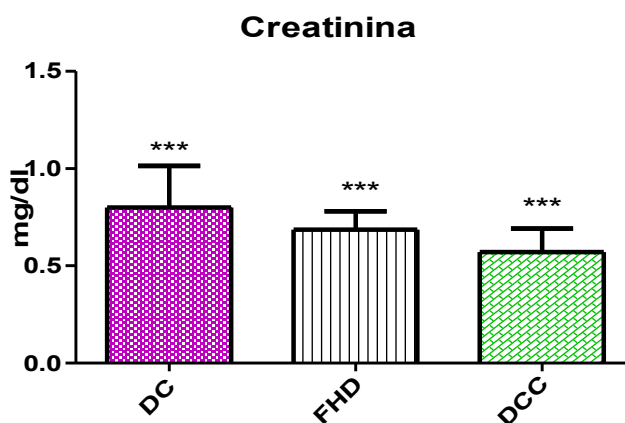
Ao analisarmos a creatinina, nenhum dos pacientes com suspeita de dengue apresentou dosagem da creatinina maior que 1,3mg/dl. Também não observamos diferença estatística significante quando comparada às médias de pacientes com dengue e os pacientes com dengue negativo (Figura 32). Neste estudo, observamos que a maior média da creatinina ocorreu nos pacientes classificados como DC (0,86mg/dl). E a diferença entre as médias nas três formas clínicas foram estatisticamente significante (Figura 33), ocorrendo significância estatística entre a primeira e a segunda coleta (Figura 34).

Figura 32 – Determinação da dosagem da creatinina em relação à dengue e a outras infecções (não dengue).



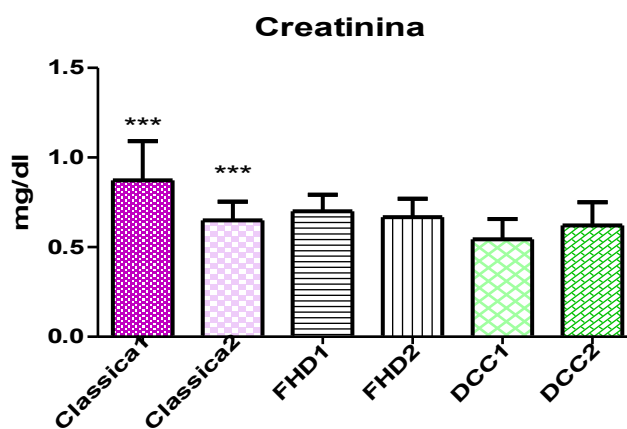
*Diferença significante: $p < 0.05$ (Teste Mann- Witney)

Figura 33 – Distribuição da dosagem da creatinina em relação à DC, FHD e DCC.



*Diferença significante: $p < 0.05$ (Teste ANOVA)

Figura 34 – Distribuição da dosagem da creatinina em relação à DC, FHD e DCC (1ª e 2ª coleta).

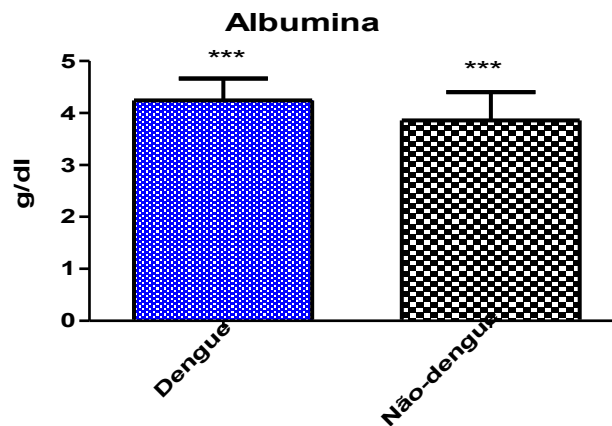


Clássica 1 - 1ª coleta FHD 1 - 1ª coleta DCC 1 - 1ª coleta
 Clássica 2 - 2ª coleta FHD 2 - 2ª coleta DCC 2 - 2ª coleta
 *Diferença significante: $p < 0.05$ (Teste Mann- Witney)

4.3.1.10 Albumina

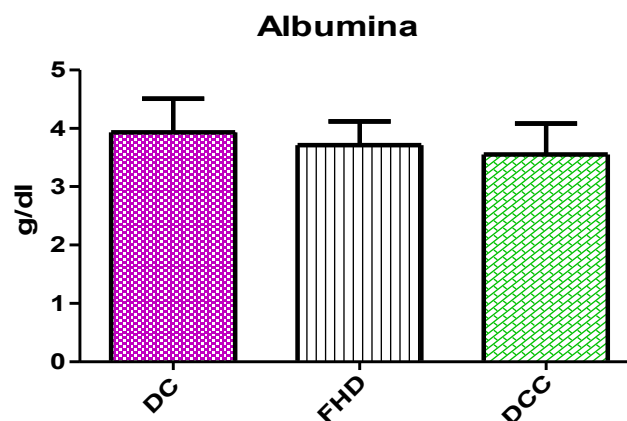
A dosagem da albumina plasmática foi realizada em 27 pacientes (57%) sendo que a hipoalbuminemia esteve presente em 5 pacientes (10,4%). Quando comparamos as 3 classificações clínicas, quase não houve diferença no valor da média da albumina. Observamos uma diminuição mais acentuada da média entre a primeira e segunda coleta na DCC. E apenas na comparação da diferença da média dos pacientes com dengue e casos não dengue é que foi estatisticamente significativa (Figura 35, 36 e 37).

Figura 35 – Determinação da dosagem da albumina em relação à dengue e a outras infecções (não dengue).



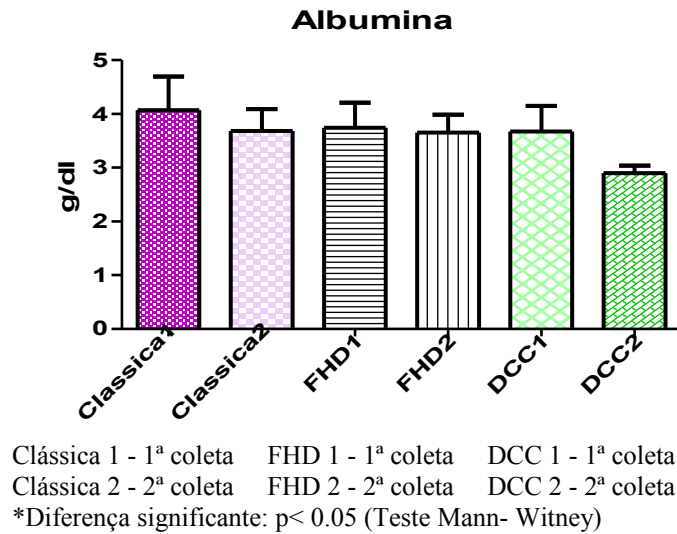
*Diferença significante: $p < 0.05$ (Teste T não pareado)

Figura 36 – Distribuição da dosagem da albumina em relação à DC, FHD e DCC.



*Diferença significante: $p < 0.05$ (Teste ANOVA)

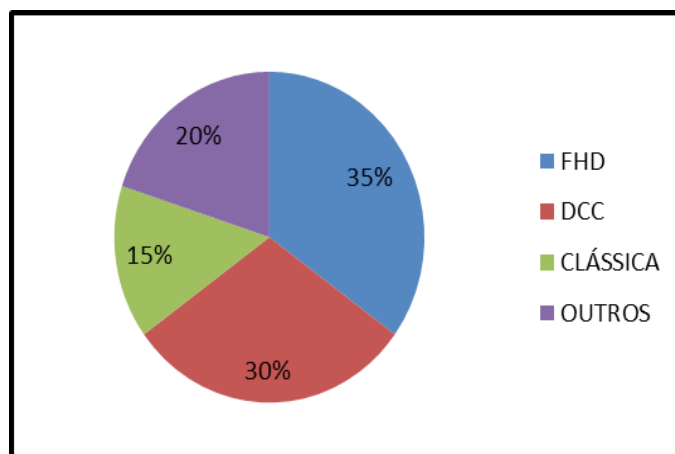
Figura 37 – Distribuição da dosagem da albumina em relação à DC, FHD e DCC (1ª e 2ª coleta).



4.3.1.11 Prova do laço

Dentre os 86 pacientes avaliados 80 realizaram a prova do laço (93%), com positividade em 20 pacientes (23%). Dos 48 pacientes positivos para dengue, somente 16 (33,3%) foram positivos, sendo que, 7 (35%) com FHD, 6 (30%) com DCC e 3 (15%) com DC. Quatro pacientes (20%) apresentaram prova do laço positiva, porém, tiveram outro diagnóstico e foi definido como não dengue. (Gráfico 3).

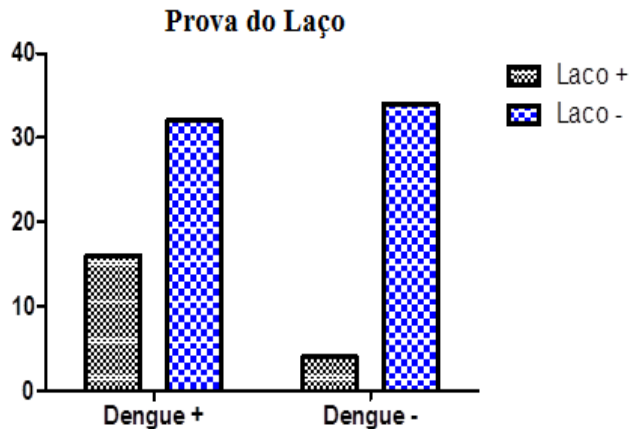
Gráfico 3 – Distribuição da porcentagem da prova do laço em relação à DC, FHD, DCC e outros.



Quando se comparou a prova do laço em relação aos pacientes dengue (diagnóstico confirmado de dengue) e dengue negativo, observamos que dos 48 pacientes com dengue, 16 tiveram prova do laço positiva e 32 foram negativos para a prova do laço.

Dos 38 (44,2%) pacientes negativos para dengue, 4 (4,7%) tiveram prova do laço positivo e 34 (39,5%) foram negativos (Figura 46).

Figura 38 – Distribuição da prova do laço com relação ao diagnóstico de dengue



4.3.2 Exames Específicos

Os 86 pacientes com suspeita de dengue realizaram os exames específicos em duas etapas. Na primeira etapa (do 1º ao 5º dia de sintomas) os soros dos pacientes foram testados para: detecção do antígeno e detecção de anticorpos. O antígeno foi detectado pelos testes de imunocromatografia (NS1) e ELISA (NS1), RT-PCR da classe IgG, pelo teste imunoenzimático. A segunda coleta do soro dos mesmos pacientes deu-se à partir do 3º dia dos sintomas. Foram testadas para a detecção de anticorpo anti-IgM e anti IgG pelo teste imunocromatográfico dengue duo test e detecção de IgM pelo teste de ELISA. Dos 86 pacientes com suspeita de dengue, que foram testados pelos exames específicos, somente 48 tiveram o diagnóstico confirmado para dengue por pelo menos um dos testes (Tabela 17).

Tabela 17 – Distribuição dos pacientes positivos para dengue de acordo com os testes diagnósticos realizados em 86 amostras.

Testes diagnósticos	Total de pacientes (%)
Imunocromatografia NS1	14 (16)
RT-PCR	16 (19)
ELISA IgM	38 (44)
Imunocromatografia IgM	36 (42)
ELISA IgG	66 (77)
ELISA NS1	23 (27)
Imunocromatografia IgG	39 (45)

Ao analisarmos a positividade dos testes específicos para dengue verificamos que na DC o IgM- ELISA foi preponderante e a maioria dos pacientes eram de ambulatório (45%).

No que tange a classificação FHD, a maior positividade foi pela RT-PCR (19%), com prevalência dos pacientes internados. Na DCC, 25% dos pacientes internados foram positivos pela RT-PCR (Tabela 18).

Tabela 18 – Testes laboratoriais específicos da dengue quanto à classificação clínica dos 48 pacientes

TESTES LABORATORIAS ESPECÍFICOS (DENGUE)	DC (26)				FHD (10)				DCC (12)				TOTAL (N=48)	
	INT (6)		AMB (20)		INT (7)		AMB (3)		INT (9)		AMB (3)		INT (22)	AMB (26)
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
NS1	1	7	9	64	1	7	1	7	1	7	1	7	14	29
RT-PCR	3	19	5	31	3	19	0	0	4	25	1	6	16	33
ELISA-IgM	3	8	17	45	5	13	2	5	8	21	3	8	38	79
Imunocromatografia IgM	3	8	14	39	6	17	2	6	8	22	3	8	36	75
ELISA-NS1	2	9	10	43	3	13	2	9	4	17	2	9	23	48
ELISA-IgG	3	8	14	37	7	18	2	5	9	24	3	8	38	79
Imunocromatografia IgG	3	10	10	32	6	19	1	3	8	26	3	10	31	65

Quando correlacionamos o sexo predominante e os testes específicos, observamos que o sexo masculino apresentou 23 pacientes (48%) com 11 pacientes internados (23%) e 12 (25%) de ambulatório. Nos pacientes do sexo masculino internados o teste específico com maior positividade foi o RT-PCR com 32%. Nos pacientes masculinos de ambulatório o teste específico de maior positividade foi o ELISA IgM com 53%. O sexo feminino predominou com 25 pacientes (52%), sendo 10 internados (21%) e 15 de ambulatório com 32%. O teste específico com maior positividade nos pacientes femininos internados foi o RT-PCR com 32% e o de ambulatório foi o NS1 imunocromatografico (Tabela 19).

Tabela 19 – Distribuição dos pacientes quanto aos testes laboratoriais específicos versus sexo.

Testes Específicos (Dengue)	Internados		Ambulatório		n	TOTAL %
	Masculino	Feminino	Masculino	Feminino		
Imunocromatografia NS1	1(7%)	2 (15%)	4(28%)	7(50%)	14	29,2
RT-PCR	5 (32%)	5(32%)	5(32%)	1(7%)	16	33,3
ELISA-IgM	10(27%)	6(16%)	10(53%)	12(32%)	38	79,2
Imunocromatografia IgM	10(28%)	7(20%)	9(25%)	10(28%)	36	75,0
ELISA-NS1	3(13%)	6(26%)	5(22%)	9(40%)	23	47,9
ELISA-IgG	9(24%)	10(27%)	9(24%)	10(27%)	38	79,2
Imunocromatografia IgG	10(33%)	6(20%)	7(23%)	8(26%)	31	64,6

O RT-PCR foi positivo em 16 pacientes (33,3%), com prevalência do DENV-2 em 14 pacientes. Houve um predomínio de pacientes do sexo masculino em 10 pacientes (62,5%), sendo que 5 pacientes estavam internados (31,25%) e 5 de ambulatório com 31,25%. O sexo feminino apresentou 5 (31,25%) pacientes internados e 1 (6,25%) de ambulatório (Tabela 20)

Tabela 20 – Distribuição dos pacientes com a identificação do sorotipo encontrado versus sexo.

Teste Específico (Dengue) RT-PCR (n=16)	Internados		Ambulatório		Total	
	Masc.	Femin.	Masc.	Femin.	n	%
DENV 1	-	-	1	-	1	6,25
DENV 2	5	4	4	1	14	87,5
DENV 3	-	1	-	-	1	6,25
DENV 4	-	-	-	-	-	0,0

5 DISCUSSÃO

A dengue pode ser causada por qualquer um dos quatro sorotipos, e ela pode se manifestar como uma enfermidade infecciosa aguda caracterizada por um amplo espectro clínico, que pode variar desde formas de infecção assintomática ou febre indiferenciada até as formas graves com hemorragia e/ou choque (BRASIL, 2011). É transmitida ao homem pela picada de mosquitos do gênero *Aedes*, sendo os de maior importância em nível mundial o *Aedes aegypti* e o *Aedes albopictus* (HENCHAL; PUTNAK, 1990).

Durante o ano de 2010 foram incluídos no estudo 86 pacientes atendidos nos HSJ e HMNSC, sendo 52 (60%) pacientes atendidos no ambulatório e 34 internados (40%). Dessa população estudada, 48 tiveram diagnóstico confirmado de dengue pelos exames específicos e 38 foram considerados negativos. Os pacientes de ambulatório apresentavam doença febril aguda com duração máxima de até 5 dias de febre acompanhada de pelo menos dois dos seguintes sintomas: cefaleia, dor retro-orbitária, mialgia, artralgia, prostração e exantema, enquanto que, os pacientes hospitalizados apresentavam febre de duração de até 7 dias.

Os 48 pacientes positivos para dengue foram classificados de acordo com os critérios do Ministério de Saúde (2011), em DC com 26 pacientes (55,5%), FHD com 10 pacientes (17,7%) e 12 pacientes (26,6%) como DCC. Essa classificação reúne todas as informações clínicas, laboratoriais e epidemiológicas. Os primeiros casos confirmados de FHD no Ceará ocorreram em 1994 e os anos que apresentaram os maiores números de casos de FHD 2003, 2007 e 2008 com respectivamente 291, 300 e 448 ocorrências. No ano de 2008, a proporção era de 100 casos de DC para cada caso de FHD e em 2010 a proporção diminuiu para 91 casos de DC para cada caso de FHD (CEARÁ, 2011), também foi observada uma elevação dos números de casos de FHD com a diminuição da faixa etária. Sendo que, os meses com maior prevalência foram maio e julho, porém, existem casos confirmados em todos os meses do ano (CEARÁ, 2011).

A definição de DCC foi criada pelo Ministério da Saúde em 2001 para os casos graves que não atendiam aos critérios de FHD. O ano que apresentou o maior número de casos confirmados de DCC foi em 2008 e em 2011 foi o ano com o maior número de óbitos. A proporção de casos graves quando comparados com a DC vem aumentando e vários fatores podem contribuir para esse evento como: a circulação simultânea dos três sorotipos virais, a população sensibilizada por infecções anteriores e a hiper endemicidade (CEARÁ, 2011).

No Brasil, a dengue apresenta um padrão sazonal com maior incidência nos primeiros cinco meses do ano, ocorrendo uma redução dos casos com o declínio das chuvas (FIGUEIREDO, 1999). Neste estudo, tivemos casos confirmados em todos os meses do ano, com predomínio no primeiro semestre (maio, junho e julho). O boletim semanal da Secretária do Estado do Ceará (CEARÁ, 2011) mostrou que nos últimos dez anos houve casos de dengue confirmado em todos os meses do ano, sempre com predomínio no primeiro semestre devido a aumento da pluviosidade, da temperatura e da umidade. O padrão sazonal de incidência da doença coincide com o verão, devido a maior ocorrência de chuva e aumento da temperatura nesta estação (KAETING, 2001). As chuvas não só aumentam a quantidade de criadouros para o desenvolvimento das formas imaturas do vetor, como também geram condições para o desenvolvimento das formas adultas (GONÇALVES NETO; RABELO, 2004; RIBEIRO, 2006)

Em contrapartida, Câmara *et al.* (2007), quando avaliaram a incidência de dengue em cinco regiões brasileiras, notaram uma maior prevalência no primeiro trimestre do ano, exceto para a região Nordeste, com maior notificação no segundo semestre. A região Nordeste juntamente com região Sudeste obteve 86% das notificações, e é válido ressaltar que, esses locais atraem muitos trabalhadores e turistas, favorecendo assim, a disseminação do vírus e vetor para o país.

Os 86 pacientes avaliados neste estudo tinham idades entre 18 a 77 anos de idade. Contudo, é importante ressaltar que este estudo foi voltado para pacientes com idade maior ou igual a 18 anos (sendo um dos nossos critérios de inclusão). O maior número de casos ocorreram entre as faixas etárias de 18 a 38 anos. Figueiredo *et al.* (2004) ao analisar a faixa etária da epidemia de dengue ocorrida no período de 1998-1999, em Manaus notou que todos os grupos foram afetados, sendo que o maior número de casos ocorreram entre as faixas etárias de 25 e 65 anos. Esse resultado foi semelhante ao estudo realizado no Estado do Pará em 1999, onde os grupos mais vulneráveis foram na faixa etária com maior atividade produtiva (ARAÚJO *et al.*, 2002). Em alguns países da América, a faixa etária foi de 30 a 39 anos (GÓMEZ; RAMOS; TAPIA, 1995). Enquanto, no Sudeste Asiático, a dengue é uma doença predominantemente infantil e no Brasil, até 2006, a incidência de DC e de FHD e até mesmo das infecções inaparentes por esse agente era muito mais elevada em adultos (HALSTEAD, 2006; BARRETO; TEIXEIRA, 2008). Contudo, na epidemia que explodiu no município do Rio de Janeiro em 2008, verificou-se uma súbita elevação da incidência entre menores de quinze anos, tanto de FD como de FHD (BARRETO; TEIXEIRA, 2008).

No Ceará, desde 2007 ocorre um aumento da infecção entre crianças e uma diminuição da faixa etária nos pacientes acometidos pelas formas graves. O predomínio do sorotipo DENV-2, sua maior virulência e ausência de anticorpos contra o vírus, são os principais fatores (CAVALCANTI, 2011; CEARÁ, 2011).

No total da população estudada (n=86) houve igualdade em relação ao sexo (feminino/masculino de 1/1). Figueiredo *et al.*, (2004), encontraram predomínio do sexo masculino nos primeiros casos de dengue, porém, à medida que a epidemia progredia, não existiu mais diferença estatisticamente significativa entre os sexos. Nossos resultados mostram que os pacientes que tiveram o diagnóstico confirmado de dengue (n=48) ocorreu um predomínio do sexo feminino em 56% na DC e 24% na FHD. Semelhante resultado foi observado no estudo realizado por Vasconcelos *et al.*, (1995), em que o sexo feminino prevaleceu com 52% . O sexo masculino predominou em 30,4% na DCC e 60% dos casos de dengue no Ceará eram do sexo masculino (CEARÁ, 2011). Um estudo realizado por Ribeiro *et al.* (2006), em casos de dengue autóctone, o sexo feminino foi prevalente com 60 % e a faixa etária dominante foi dos 20 aos 39 anos. A principal explicação poderia ser uma maior permanência da mulher no intradomicílio ou peridomicílio locais onde a transmissão é mais frequente (VASCONCELOS *et al.*, 1993).

Entre os pacientes com diagnóstico de dengue (n=48), observamos uma ocorrência maior de adultos jovens (18 aos 38anos) em 29 pacientes, sendo que, 62 % foram classificados em DC, 20 % em FHD e 17,2 % em DCC. Contudo, na DCC, a faixa predominante foi dos 39 aos 59 anos. Em um estudo realizado em Porto Rico durante epidemias de dengue e FHD/ SCD em 2003 foi descrito a alta letalidade por dengue em adultos com idade avançada. Destacou-se a necessidade de investigação imunológica e a presença de doenças crônicas nessa faixa etária (RIVIERA; PEREZ, 2003).

Desde 2002, o Brasil adota o estadiamento clínico, com o objetivo de orientar uma terapêutica adequada para cada situação, para tentar evitar o óbito (BRASIL, 2011). O maior número de pacientes deste estudo foram classificados no Grupo A, totalizando 60,5%, em que, na maior parte das vezes, o tratamento foi de orientação ou prescrição de sintomáticos. (LUPI *et al.*, 2007).

O vírus dengue ocasiona uma infecção aguda em que a sintomatologia pode ser confundida com outras doenças exantemáticas (FIGUEIREDO *et al.*, 2004). Neste estudo quando analisamos os 48 pacientes com dengue a cefaleia esteve presente em 89,5 %, mialgia em 85,4 % e artralgia com 64,5 %. Nos 38 pacientes negativos, a prevalência seguiu a mesma ordem com cefaleia (97,3 %), mialgia (86,8 %) e artralgia (68,4 %). Apenas o distúrbio

hemorrágico e o exantema é que foram mais evidentes nos pacientes com diagnóstico confirmado de dengue.

As principais manifestações clínicas presentes nos pacientes com suspeita de dengue (n=86) foram: febre, cefaleia, mialgia, artralgia, dor retro-orbitária, prostração e exantema. A replicação viral induz a produção de citocinas pelos macrófagos, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF α) e a interleucina (IL-6). Estas substâncias ao serem liberadas ocasionam febre, mal-estar, e dor inflamatória. Logo a dor retro-orbitária está relacionada com a multiplicação viral no tecido muscular adjacente, com comprometimento do nervo oculomotor (GUZMÁN, 2002; VERONESI; FOCACCIA, 2005). A cefaleia foi a queixa álgica mais presente, seguida por mialgia e dor abdominal de acordo com estudo retrospectivo em 252 prontuários de pacientes com suspeita de dengue atendidos no período de 2006 a 2007 no mesmo serviço de Fortaleza, realizado por Ponte *et al.* (2011). Em relação às manifestações hemorrágicas verificamos que a hemorragia cutânea (petéquias), hemorragia digestiva e metrorragia foram as mais observadas. Achado semelhante foi observado por Zagne *et al* (1994), num estudo em 56 pacientes confirmado de dengue (FHD), 46 apresentaram manifestações hemorrágicas espontâneas (petéquias e sangramentos de gengivas) enquanto Timbó *et al.* (2002) encontraram petéquias, gengivorragias e epistaxe.

Dos 86 pacientes avaliados, 19 pacientes (22 %) apresentaram sinais de alarme, desses, a dor abdominal foi o sinal mais encontrado com 31,5%. Achado semelhante foi descrito por Rocha (2009), no qual pacientes que evoluíram para as formas graves tiveram sete vezes mais chance de apresentarem dor abdominal. No nosso estudo 2 pacientes (10,5 %) tiveram hipotensão postural (10,5 %) e desconforto respiratório respectivamente, 4 pacientes tiveram aumento repentino do hematócrito em 21 % e 1 (5,2 %) com hepatomegalia. A plaquetopenia (plaquetas $\leq 100.000\text{mm}^3$) esteve presente em 37 pacientes com suspeita de dengue (43 %). Normalmente ocorre uma supervalorização da plaquetopenia e hemorragias em detrimento dos demais sinais de alerta. Isso faz com que, muitos pacientes que chegam pela primeira vez para atendimento sem hemorragias ou plaquetopenia sejam liberados e retornem com quadro clínico avançado (VITA, 2009).

Os sinais e sintomas gerais observados no quadro clínico dos 48 pacientes com dengue foram por ordem decrescente de frequência: cefaleia (89,5%), mialgia (85,4%), artralgia (64,5%), prostração (56,2%), exantema (53%) e dor retro orbitária (50%). Um estudo realizado por Oliveira *et al* (2009) que avaliou 543 pacientes constatou que os quadros clínicos mais leves foram mais frequentes na DC (46,9%). No entanto, Ponte *et al.* (2011), observou que os pacientes diagnosticados com FHD (40,16%) cursaram com mais sintomas

dolorosos que os pacientes com diagnóstico de DC. As manifestações hemorrágicas podem surgir no final do período febril como petéquias, gengivorragia, metrorragia e sangramentos maiores como hematêmese, melena ou hematúria podendo estar ou não associada com plaquetopenia (BRASIL, 2011; GURUGAMA *et al.*, 2010). Dos 48 pacientes positivos para dengue, a plaquetopenia (plaquetas $< 100.000/\text{mm}^3$) foi observada em 25 pacientes (52 %), contudo, só 20 (42%) apresentaram alguma manifestação hemorrágica espontânea. Um estudo realizado Lum *et al.*(2002), foi observado que a plaquetopenia esteve presente em 92,3% dos casos estudados com uma diminuição do seu valor de cerca de duas vezes nos pacientes que sangraram comparados aos que não sangraram.

As principais alterações hematológicas observadas na FHD são consequências da supressão da medula óssea, levando a ocorrência de leucopenia e plaquetopenia (PANDE; KABRA, 1996). O fato de ocorrer sangramento com um número de plaquetas considerado de baixo risco para hemorragias podem-se sugerir que outros fatores estão implicados tais como: o comprometimento vascular, a disfunção plaquetária e os distúrbios da coagulação sanguínea como a coagulação intravascular disseminada (CIVD). A trombocitopenia composta de plaquetopenia e disfunção plaquetária são causadas por supressão da medula óssea e infecção das plaquetas com vírus dengue. A coagulação intravascular disseminada (CIVD) e a hemorragia prolongada são os sintomas mais comuns em pacientes com choque e que levam ao óbito (SINGHI *et al.*, 2007).

Quando analisamos a distribuição de casos quanto aos critérios de gravidade da FHD, 7 pacientes (70%) foram definidos como grau II, 2 pacientes (30%) como grau I e 1 paciente (10%) foi classificado como grau III. Não houve nenhum paciente classificado como grau IV. Resultados semelhantes foram encontrados em outros estudos em que a maioria dos casos foi considerada como grau II, de menor gravidade (TIMBÓ *et al.*, 2002). Contudo, Cunha (1998) demonstrou que a maioria dos casos era classificada como grau III e IV, com sinais de choque. Cavalcanti, *et al.*, (2010) ao analisar os casos de dengue hemorrágico em 2003 no Ceará, classificou-os como: 22% grau I, 15,8% grau II, 4,5% grau III e 0,3% grau IV.

Em relação à prova do laço encontramos uma positividade em 20 pacientes, sendo que dos 48 pacientes positivos para dengue, só 16 (33,3%) tinham prova do laço positiva, divididos em 7 (35%) com FHD, 6 (30%) com DCC, 3 (15%) com DC e 4 (20%) apresentaram prova do laço positivo, porém com outro diagnóstico diferente de dengue.

A prova do laço é recomendada pela OMS como indicadora de presença de fragilidade vascular e para caracterização do quadro de FHD (grau I). Porém sua utilização

tem sido limitada pelo desconforto que provoca no paciente, pela demorada execução e com sensibilidade questionada. Rigau-Pérez *et al.* (1997), recomenda a prática padronizada da prova do laço, pois 15 a 20% de todos os casos de FHD foram confirmados por esse procedimento (RIGAU-PÉREZ, 1997). A positividade da prova do laço foi considerada baixa (33,3%) quando realizada em 351 pacientes com dengue (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

O extravasamento plasmático é o fator determinante nos casos de dengue grave, que pode ser determinado pela hemoconcentração, hipoalbuminemia e/ou derrame cavitários: pleural, pericárdico e ascite (BRASIL, 2011).

Na DC podemos observar neutropenia, linfocitose, com linfócitos ativos. Trombocitopenia pode ser observada em 35 a 50% dos casos DC sem apresentar hemorragia. Normalmente, o hematócrito, a hemoglobina e as provas de coagulação são normais (GUBLER *et al.*, 1998).

A hemoconcentração é considerada por queda do hematócrito de 20% nos valores do hematócrito após hidratação. No nosso estudo, dos 86 pacientes com suspeita de dengue, só 4 (4,7%) apresentaram queda do hematócrito maior que 20% do valor inicial após hidratação, caracterizando uma hemoconcentração. Quando se comparou os 48 pacientes positivos para dengue com os 38 pacientes negativos a maior média esteve presente nos pacientes negativos para dengue. Não foram identificadas diferenças significativas na média do hematócrito, nas 3 classificações, porém, a maior média foi na DCC com 41,63 %.

O hematócrito é o parâmetro mais utilizado, pois é de fácil execução, de resultado rápido e permite detectar e acompanhar a hemoconcentração ajudando a prevenir o choque. Em um estudo realizado por Brito *et al.* (2007) com 14 pacientes diagnosticados com FHD, sugeriu que a utilização exclusiva da hemoconcentração \geq a 20% pode diminuir a definição de FHD. A hemoconcentração pode estar presente na desidratação por vômitos, hipertermia ou reposição inadequada de fluidos.

No nosso estudo encontramos na DCC a menor média (35.670/ mm³) na contagem de plaquetas, seguida da FHD (média de 64.400/mm³) e DC (137.000/mm³). No estudo de Oliveira *et al.* (2009), a plaquetopenia esteve presente em 66,5% dos pacientes sendo que aqueles com FHD, as plaquetas demoraram mais a normalizar-se. Estudos realizados por Salgado *et al.* em Neiva, Colômbia, 2004 encontraram associação entre choque e plaquetas menores de 20.000/mm³. A plaquetopenia foi considerada um importante marcador de prognóstico (SALGADO, 2007).

Dos 86 pacientes analisados nenhum teve valor de leucócitos menor que 1.000 mm³. A dengue é uma doença viral e cursa predominantemente com leucopenia. Esse achado está associado à redução da contagem absoluta de células CD8 e CD4, tanto na fase aguda quanto no período de convalescença (AZEREDO *et al.*, 2006). A presença de leucocitose, apesar de ser um achado sugestivo de infecção bacteriana, pode estar associada ao desenvolvimento de complicações (TORRES, 2005), este parâmetro foi observado com a entrada do DENV-3 no Rio de Janeiro (VITA *et al.*, 2009). Barros *et al.*, 2008 ao realizar um estudo retrospectivo com 210 pacientes no Pará, verificou leucopenia em 25,2%, podendo não estar presente no início da infecção.

Neste estudo a maior média de linfócitos foi na FHD (46,2%) discordando do estudo de Oliveira *et al.* (2009) que avaliou 543 pacientes onde a linfopenia esteve presente em 67,8% dos pacientes, a linfopenia ocorre devido à redução de linfócitos T principalmente CD4 (LIU *et al.*, 2002).

No nosso estudo as atipias linfocitárias foram encontradas em 5 pacientes: 3 (6,2%) com DCC e 2 (4,1) com DC. Linfócitos atípicos são formas intermediárias de linfócitos T em decorrência de estímulos antigênicos virais. A presença de no mínimo 10% de linfócitos atípicos no sangue periférico é bom indicador para diagnóstico de dengue (LIU *et al.*, 2002). Em um estudo realizado por Oliveira *et al.* (2009), as atipias linfocitárias foram encontradas mais na FHD (66,9%).

Durante a infecção pelo vírus dengue ocorre envolvimento hepático, com alterações nas enzimas hepáticas, AST e ALT e elevações em suas dosagens sorológicas (GURUGAMA *et al.*, 2010). A avaliação da função hepática, através da dosagem da aspartato aminotransferase sérica (AST) e alanino aminotransferase sérica (ALT) foi realizada nos 86 pacientes. Ao analisarmos os 48 pacientes positivos para dengue, foi observado que, uma maior média da dosagem da AST ocorreu nos pacientes classificados como DCC (183,5U/L). Enquanto que, a maior média de ALT foi observada na FHD (147,8U/L). Alguns trabalhos indicam que níveis de ALT acima de 200U/l estão associados à lesão hepática grave na FHD e que uma dosagem normal da enzima AST possivelmente excluirá FHD (NGUYEN T *et al.*, 1997).

Ao analisarmos a albumina, não houve alterações no seu valor de normalidade. A dosagem da albumina plasmática foi realizada em 27 pacientes (57%) sendo que a hipoalbuminemia esteve presente em 5 pacientes (10,4%). Houve uma diminuição mais acentuada da média na DCC (3,67g/dl). Estudos realizados por Brito *et al.* (2007), mostraram que a dosagem sérica da albumina pode auxiliar na detecção de casos de FHD.

Sua realização é de baixo custo, simples e rápida podendo ser usada em algumas unidades de saúde.

A função renal é analisada através da ureia e creatinina. Ao analisarmos a creatinina, observamos uma maior média DC (0,86mg/dl). Foi observada pouca alteração no seu valor de normalidade. Em relação à ureia, notou-se uma maior média na DC (25,8 mg/dl). A insuficiência renal aguda tem sido descrita na literatura como forma atípica e não usual de dengue podendo se apresentar com quadro de maior gravidade e maior letalidade (GLUBER, 1998).

Frequentemente podemos observar anormalidades na coagulação e parece haver associação entre a gravidade da doença e presença de coagulação intravascular disseminada (GLUBER; MELTZER, 1999).

Os testes específicos utilizados neste estudo (sorotipagem do vírus por meio de RT-PCR, ensaios de ELISA para detecção de IgM e IgG anti-dengue, ensaios de ELISA para detecção de NS1 e ensaios de imunocromatográfico para detecção de NS1) foram utilizados para confirmar os casos suspeitos de dengue e auxiliaram no manejo clínico e epidemiológico.

Todos os 86 pacientes foram submetidos aos exames específicos, contudo, somente 48 tiveram diagnóstico confirmado de dengue pelos seguintes exames: 14 (29%) NS1, 16 (33%) RT-PCR, 38 (79%) ELISA IgM, 36 (75%) imunocromatografia IgM e 23 (48%) pelo método de ELISA NS1. Ao compararmos com a classificação clínica da dengue, verificamos que na DC o IgM-ELISA foi o mais preponderante e a maioria dos pacientes eram de ambulatório (45%). No que tange a classificação de FHD, a maior positividade foi pela RT-PCR (19%), acometendo mais os pacientes internados. Na DCC, 25% dos pacientes internados foram positivos pela RT-PCR.

Nos estágios mais precoces da infecção pelo vírus dengue foram utilizados métodos de detecção do ácido nucléico viral e de antígenos virais. Essas técnicas requerem a viabilidade viral (vírus pode ser detectado até cerca do 5º dia após o início dos sintomas). Logo ao final da fase aguda, os testes mais recomendados são os métodos sorológicos (WHO, 2009).

A proteína NS1 é uma proteína não-estrutural produzida e secretada durante a replicação viral. Esta proteína é bastante conservada entre os quatros sorotipos dos vírus e os níveis circulantes de NS1 mostram correlacionar-se com o desenvolvimento da FHD (YOUNG *et. al.*, 2000). Neste estudo, 14 pacientes (29%) foram positivos pelo teste de

imunocromatografia NS1, com predomínio de pacientes de ambulatório (64%), com classificação de DC e do sexo feminino (50%).

O teste ELISA-IgM tem alta sensibilidade e baixa especificidade podendo ocorrer reações cruzadas com outros flavivírus. Analisando-se o diagnóstico sorológico pela detecção de IgM anti-dengue, foi possível observar que das 86 amostras analisadas neste estudo 79% foram positivas pelo ELISA-IgM, sendo que 53% eram do sexo masculino e de ambulatório e o teste ELISA-IgG também apresentou alta positividade com 79%.

Atualmente, utilizam-se os métodos imunoenzimáticos (ELISA) para o diagnóstico das infecções por dengue. Pois, eles possuem uma alta sensibilidade detectando anticorpos na fase aguda (IgM) e na convalescença detectando anticorpos IgG e antígenos na fase aguda (DE PAULA *et al.*, 2004). Analisando-se o diagnóstico sorológico pela detecção de IgM anti-dengue, foi possível observar que os 86 pacientes analisados neste estudo 79% foram positivos pelo método ELISA-IgM. O sexo masculino esteve presente em 53% dos pacientes de ambulatório e o teste ELISA IgG também apresentou alta positividade (79%), com igualdade de pacientes internados e de ambulatórios. Os pacientes internados tiveram mais de quatro dias de febre e algumas amostras foram IgM e IgG positivas (80%) para dengue podendo sugerir uma infecção secundária.

O RT-PCR permite a detecção viral na fase aguda da doença, é um teste com uma alta sensibilidade e especificidade, capaz de amplificar o material genético até mesmo de vírus inativos. É um teste que apresenta alto custo, necessidade de profissionais bem treinados, necessidade de estocagem das amostras em potentes refrigeradores e também pode ocorrer a contaminação, sendo essas as suas principais desvantagens (DENG *et al.*, 2011).

O RT-PCR permite identificar o sorotipo infectante, neste estudo houve positividade em 16 pacientes (33,3%), com uma positividade maior do DENV-2 em 14 pacientes (87,5%), 1 (6,25%) paciente com DENV-1 e 1 paciente com DENV- 3 (6,25%). De acordo com o boletim da SESA, no Ceará o DENV-3 foi prevalente no período em 2003 a 2006, o DENV-2 em 2007 a 2009 e o DENV-1 no período de 2010 a 2011.

A associação dos dados clínicos com os achados laboratoriais, permite um diagnóstico preciso, possibilitando intervenções terapêuticas adequadas com melhor prognóstico do paciente.

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo permitem-nos algumas conclusões, dentre as quais destacamos:

- A dengue clássica foi a forma clínica predominante em 54%, com o sexo feminino acometido em 56% e a faixa etária dos 18 aos 38 anos em 62%;
- A maioria dos casos confirmados de dengue era procedente da capital (75%);
- A hipoalbuminemia esteve presente em 10,4% dos casos, sendo mais evidenciado na DCC;
- A queda do hematócrito acima de 20% pós-hidratação nos casos estudados, foi analisado como um indicador de extravasamento plasmático e a maior média esteve evidente nos pacientes classificados como DCC;
- As provas de função hepática (ALT e AST) estiveram aumentadas nas três classificações da dengue, sendo de maior importância na FHD e DCC;
- As alterações laboratoriais foram mais evidentes na DCC, apresentando um aumento do hematócrito e plaquetopenia, entretanto, a menor média dos linfócitos foi na DC;
- A sintomatologia foi semelhante nos pacientes positivos para dengues e negativos, com exceção das manifestações hemorrágicas;
- O teste de ELISA Igm foi o que apresentou uma maior positividade em relação aos outros testes utilizados neste estudo.

REFERÊNCIAS

- ALCON, S. *et al.* Enzyme-linked immunosorbent assay specific to Dengue virus type 1 nonstructural protein NS1 reveals circulation of the antigen in the blood during the acute phase of disease in patients experiencing primary or secondary infections. **J. Clin. Microbiol.**, v. 40, p. :376-381, 2002.
- ANGEL, B.; JOSHI, V. Distribution and seasonality of vertically transmitted dengue viruses in *Aedes* mosquitoes in arid and semi-arid areas of Rajasthan, India. **J. Vector Borne Dis.**, v. 45, p. 56–59, 2008.
- ARAÚJO, F. M. C. *et al.* Concurrent infection with dengue virus type-2 and DENV-3 in a patient from Ceará, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 101, n. 8, Dec. 2006.
- ARAÚJO, T.P. *et al.* Diagnóstico sorológico de infecções por dengue e febre amarela em casos suspeitos no Estado do Pará, Brasil, 1999. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 36, p. 579-584, 2002.
- AZEREDO, E. L. *et al.* Activated peripheral lymphocytes with increased expression of cell adhesion molecules and cytotoxic markers are associated with dengue fever disease. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 101, p.437 – 449, 2006.
- BARRETO, M. L.; TEIXEIRA, M. G. Dengue no Brasil: situação epidemiológica e contribuições para uma agenda de pesquisa. **Estud. Av.**, v. 22, n.64, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-40142008000300005>>. Acesso em: 15 fev. 2012.
- BARROS, L. P. S. *et al.* Análise crítica dos achados hematológicos e sorológicos de pacientes com suspeita de Dengue. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter.**, v. 30, n.5, p. 363-366, 2008.
- BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes Aegypti*: inseticidas, mecanismo de ação e resistência. **Epidemiol. Serv. Saúde**, v. 16, n. 4, p. 279-293, out./dez. 2007.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Doenças infecciosas e parasitárias**. 8. ed. Brasília, 2010. Disponível em:<http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/doencas_infecciosas_parasitaria_gui_a_bolso.pdf>. Acesso em: 24 mar. 2012.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Dengue: diagnóstico e manejo clínico - adulto e criança** 4. ed. Brasília, 2011.
- BRITO, C. Sensibilidade de diferentes exames complementares na detecção de alteração da permeabilidade capilar em febre hemorrágica da dengue. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE INFECTOLOGIA, 13., Goiânia, 2003. Anais. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 7, p. 11, 2003.
- BRITO, C.; ALBUQUERQUE, M.F. ; SILVA, N.L. Evidência de alterações de permeabilidade vascular na dengue: quando a dosagem de albumina sérica define o quadro? **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 40, n. 2, p. 220-223, mar./abr. 2007.

CÂMARA, D.C.P.; DE MATOS, R.R.C. Estudo retrospectivo (histórico) da dengue no Brasil: características regionais e dinâmicas. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, 2007.

CAUMES, E. *et al.* Signes cutânes de la dengue: a propois de trois cas. **Bull. Svc. Path. Ex.**, v. 86, p. 7-11, 1993

CAVALCANTI, L.P.G. Clinical and epidemiological characterization of dengue hemorrhagic fever cases in northeastern, Brazil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 43, n. 4, p. 355-358, 2010.

CAVALCANTI, L.P.; VILAR, D. S. R.S.; TEIXEIRA, M.G. Change in age pattern of persons with dengue, northeastern Brazil [letter]. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 17, n. 1, 2011.

CEARÁ. Secretaria da Saúde do Estado. Dengue. **Informe Semanal**, Fortaleza, 2011.

CUNHA R.V. *et al.* Retrospective study on dengue in Fortaleza, state of Ceará, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 93, p. 155-159, 1998.

DE PAULA, S. O.; FONSECA, B.A.L. Dengue: a review of the laboratory tests a clinician must know to achieve a correct diagnosis. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 8, n. 6, p. 390-398, 2004.

DENG, Y. Q. *et al.* A Broadly Flavivirus Cross- Neutralizing Monoclonal Antibody that Recognizes a Novel Epítotope within the Fusion Loop of E Protein. **PLoS One**, v. 6, n. 1, p. e16059, 2011.

DUSSART, P. *et al.* Evaluation of an enzyme immunoassay for detection of dengue virus NS1 antigen in human serum. **Clin. Vaccine Immunol.**, v. 13, n. 11, p. 1185-1189, 2006.

FIGUEIREDO, L.T.M. Patogenia das infecções pelos vírus do dengue. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 32, p.15 – 20, jan./mar. 1999.

FIGUEIREDO, R.M.D. *et al.* Doenças exantemáticas e primeira epidemia de dengue ocorrida em Manaus, Amazonas, no período de 1998 – 1999. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 37, n. 6, p. 476-479, nov./dez. 2004.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia Médica**. São Paulo: EDUSP, 2002.

GIBBONS, R.V.; VAUGHN, D.W. Dengue: na escalating problem. **BMJ**, v. 324, p. 1563-1565, 2002.

GÓMEZ, D. H.; RAMOS, B. B.; TAPIA, C. R. El riesgo de transmisión de dengue: um espacio para la estratificación. **Salud Pública Méx.**, v. 37, Supl., p. 88-97, 1995.

GONÇALVES NETO, V. S.; RABELO, J. M. M. Aspectos epidemiológicos do dengue no município de São Luís, Maranhão, Brasil, 1997-2002. **Cad. Saúde Pública**, v. 20, p. 1424-1431, 2004.

GUBLER, D. J. Dengue and dengue hemorrhagic fever. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 11, n. 3, p. 480-496, 1998.

GUBLER, D. J.; MELTZER, M. Impact of dengue/dengue hemorrhagic fever on the developing world. **Adv. Virus Res.**, v. 53, p. 35-70, 1999.

GURUGAMA, P. *et al.* Dengue viral infections. **Indian J. Dermatol.**, v. 55, n. 1, p. 68 – 78, jan./ mar. 2010.

GUZMÁN, M.G.; KOURI, G. Advances in dengue diagnosis. **Clin. Diag. Immun.**, v. 3, p. 621–627. 1996.

_____. Dengue an update. **Lancet Infect. Dis.**, New York, v. 2, p. 33-42, 2002.

_____. Dengue diagnosis, advances and challenges. **Int. J. Infect. Dis.**, v. 8, p. 69-80. 2004.

HALSTEAD, S. B. Pathogenesis of Dengue: Challenges to Molecular Biology. **Science**, v. 239, n. 4839, p. 476-481, 1988.

_____. Neutralization and antibody-dependent enhancement of dengue viruses. **Adv. Virus Res.**, v.60, p. 421-467, 2003.

_____. Dengue in the Americas and Southeast Asia: do they differ? **Rev. Panam. Salud Publica**, v.20, n.6, p.407-415, 2006.

HENCHAL, E. A. ; PUTNAK, R. The dengue viruses. **Clin. Microbiol. Rev.**, v.3, p. 376-396, 1990.

HUNG, N. T.; DUNG, N. M.; ROCHA, A.C. The who classification and case definitions: Time for a reassessment. **Lancet**, v. 368, p. 170-173, 2006.

KAETING, J. An investigation into the cyclical incidence of dengue fever. **Soc. Sci. Med.**, v. 53, p. 1587-1597, 2001.

KAUTNER, I.; ROBINSON, M. J.; KUBNLE, U. Dengue virus infection: epidemiology, pathogenesis, clinical presentation, diagnosis, and prevention. **J. Pediatr.**, v. 131, n. 4, p. 516-524, 1997.

KUMARASAMY, V. *et al.* Evaluation of a commercial dengue NS1 antigen-capture ELISA for laboratory diagnosis of acute dengue virus infection. **J. Virol. Methods**, v. 140, p. 75–79, 2007.

LEE, M.S.; HWANG, K. P.; CHEN, T. C. Clinical characteristics of dengue and dengue haemorrhagic fever in a medical center of southern Taiwan during the 2002 epidemic. **J. Microbiol. Immunol. Infect.**, v. 39, n. 2, p. 121-129, 2006.

LIU, C. C. *et al.* Transient CD4/CD8 ratio inversion and aberrant immune activation during dengue virus infection. **J. Med. Virol.**, v. 68, p. 241-252, 2002.

LIMA, E. P. *et al.* Resistência do *Aedes aegypti* ao Temefós em Municípios do Estado do Ceará. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 39, n. 3, p. 259-263, 2006.

LUPI, O.; CARNEIRO, C. G. ; COELHO, I. C. B. Manifestações mucocutânea da dengue. **An. Bras. Dermatol.**, v. 82, n. 4, p. 291-305, 2007.

LUM, L. C. *et al.* Risk factors for hemorrhage in severe dengue infections. **J. Pediatr.**, v. 140, p. 629-631, 2002.

MARTINEZ TORRES, M. E. **Dengue hemorrágico em crianças**. Havana: Jose Marti Editorial, 1990.

MARTINS, V. E. P. *et al.* Primeiro registro de Aedes(*Stegomyia*) albopictus no Estado do Ceará, Brasil. **Rev. Saúde Pública**, v. 40, n. 4, p. 737-739, 2006.

MONTENEGRO, D. *et al.* . Aspectos clínicos e epidemiológicos da epidemia de dengue no Recife, PE, em 2002. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 39, n. 1, jan./fev. 2006.

MUKHOPADHYAY, S.; KUHN, S. R. J.; ROSSMANN, M. G. A structural perspective of the *flavivirus* life cycle. **Nat. Rev. Microbiol.**, v.3, p. 13-22, 2005..

NEMER, A.; NEVES, F. **Exames Laboratoriais**. Rio de Janeiro: Revinter, 2010.

NGUYENT, T. L. *et al.* Liver histopathology and biological correlates in five cases of fatal dengue fever in Vietnamese. **J. Virology**, v. 73, p. 5201-5206, 1997.

NIESTER, H. G. Clinical Virology in real time. **J. Clin. Virol.**, v. 25, Suppl. 3, p. S3- 12, 2002.

NOGUEIRA R. M. *et al.* . Dengue virus type 3 in Rio de Janeiro, Brasil. **Mem. Inst. Oswald Cruz**, v. 96, n. 7, p. 925-926, 2001.

OLIVEIRA, É. C. L. *et al.*. Alterações hematológicas em pacientes com dengue. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 42, n. 6, 2009.

OPAS. El dengue y la fiebre hemorrágica de dengue em las Américas: uma visão general del problema. **Bol. Epidemiol.**, v. 13, n. 1, 1992.

OSANAI, C. H. **A epidemia de dengue em Boa Vista, Território Federal de Roraima, 1981-1982**. 1984. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Escola Nacional de Saúde Pública, Rio de Janeiro, RJ, 1984.

PANDE, J.N.; KABRA, S.K. Dengue hemorrhagic fever and dengueshock syndrome. **Natl. Med. J. India**, v. 9, p. 256-258, 1996.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION (PAHO). Dengue in the Americas: 1980 – 1987. **Epidemiol. Bull.**, v. 10, p.1-8, 1989.

_____. Re-emergence of dengue in the Americas. **Epidemiol. Bull.**, v. 18, n. 2, p. 1-7, 1997.

PINHEIRO, F. P. ; CORBER, S. J. Global Situation of dengue and dengue haemorrhagic fever, and its emergence in the Americas. **World Health Stat. Q.**, v. 50, n. 3/4, p. 161-169, 1997.

PONGSUMPUN, P. ; YOKSAN, S. ; TAN, I.M. A comparison of the age distributions in the dengue hemorrhagic fever epidemics in Santiago de Cuba (1997) and Thailand (1998). **Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health**, v.33, n. 2, p. 255-258, June 2002

PONTE, H. J. *et al.* Avaliação de manifestações dolorosas em pacientes internados em hospital de referência, com diagnóstico provisório de dengue. **Rev. Dor**, v. 12, n. 2, p. 104-107, abr./jun. 2011.

PONTES, R. J. S.; RUFFINO-NETO, A. Dengue em localidade urbana da região sudeste do Brasil: aspectos epidemiológicos. **Rev. Saúde Pública**, v. 28, p. 218-227, 1994.

RAMOS, E. F. Sobre a transmissão transfusional da febre Dengue. **Rev. Bras. Hematol. Hemoter**, v. 30, n. 5, p. 417-422, 2008.

RIBEIRO A. F. Associação entre incidência de dengue e variáveis climáticas. **Rev. Saúde Pública**, v. 40, n. 6, p. 671-676, 2006.

RIGAU-PÉREZ, J. C. Clinical manifestation of dengue hemorrhagic fever in Puerto Rico: 1990 – 1991. **Rev. Panam. Salud Publica**, v.1, p. 381 – 388, 1997.

RIVIEIRA, E. J.; PÉREZ, R. J. G. Dengue severity in Elderly in Porto Rico. **Rev. Panam. Salud Publica**, v. 13, n. 6, p. 362-368, 2003.

ROCHA, L. A. **Fatores de prognóstico associado a gravidade do dengue em crianças atendidas em Manaus-AM, Brasil.** 2009. 140 f. Tese (Doutorado em Medicina) - Núcleo de Medicina Tropical, Universidade de Brasília, Brasília, 2009.

ROLIM, M. L. M.; LIMA, J. W. O. **Aspectos clínico-laboratoriais de pacientes com formas graves de Dengue em Fortaleza-Ceará.** 2005. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

SALGADO, D. M.; RODRIGUEZ, J. A.; GARZÓN, M. Caracterización clínica y epidemiológica da dengue hemorragico em Neiva, Colombia 2004. **Rev. Salud Pública**, v. 9, p. 53-63, 2007.

SANTOS, R. L. C.. Atualização da distribuição de *Aedes albopictus* no Brasil (1997-2002). **Rev. Saúde Pública**, v. 37, p. 671-673, 2003.

SANTOS, M. C.; RUFFINO NETO, A. **Febre Hemorrágica da Dengue e Dengue com complicações:** aspectos clínicos, epidemiológicos e laboratoriais dos casos notificados em Manaus, Amazonas. 2003. 2004. Dissertação (Mestrado em Doenças Tropicais e Infecciosas) - Universidade do Estado do Amazonas, Amazonas. 2004.

SCHATZMAYR, H. G. Dengue situation in Brazil by year 2000. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 95, supl. 1, p. 179-181, 2000.

SCHILLING, S. *et al.* Laboratory diagnosis of primary and secondary dengue infection. **J. Clin. Virol.**, v. 31, p. 179–184, 2004.

SHU, P.Y.; HUANG, J. H. Current advances in dengue diagnosis. **Clin. Diagn. Lab. Immunol.**, v. 11, p. 642–650, 2004.

_____. **Dengue: Guidelines for treatment, prevention and control.** Geneva: WHO, 2009.

SILVA, F.G. *et al.* Avaliação de kits para detecção de antígenos NS1 dengue. **Bepa**, v. 9, n. 91, p. 14-26, 2011.

SINGHI, S.; KISSOON, N.; BANSAL, L. A. Dengue and dengue hemorrhagic fever: management issue in an intensive care unit. **Rev. J. Pediatr.**, v. 83, p. 522-535, 2007.

SOUZA, R. V. An outbreak of dengue in the state of Ceará, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 90, n. 3, p. 345-346, May/June 1995.

TAUIL, P. L. Aspectos críticos do controle de dengue no Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 18, n.3, p. 867-871, maio/jun. 2002.

TEIXEIRA, M. G. Recent shift in age pattern of dengue hemorrhagic fever, Brazil. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 14, n. 10, 2008.

TEIXEIRA, M. G.; BARRETO, M. L.; GUERRA, Z. Epidemiologia e medidas de prevenção do Dengue. **Inf. Epidemiol. SUS**, Brasília, v. 8, n. 4, dez. 1999.

TIMBÓ, M. J. M. *et al.* Perfil Clínico – epidemiológico do dengue hemorrágico no Ceará, 2001. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE MEDICINA TROPICAL, 38., 2002, Foz do Iguaçu. Anais... **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.35, supl.1, p.92, 2002.

TORRES, E. M. **Dengue.** 20. ed. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2005.

UEHARA, P. M. *et al.* Envolvimento hepático em pacientes com dengue hemorrágico: uma manifestação rara. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.39, n.6, p.544-547, nov./dez. 2006.

VASCONCELOS, P. F. C. *et al.* Epidemia de febre clássica de dengue causada pelo sorotipo 2 em Araguaiana, Tocantins, Brasil. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**, v. 35, n.2, p. 141-148, 1993.

VASCONCELOS, P. F. C. *et al.* A large epidemic of dengue fever with dengue hemorrhagic cases in Ceará State, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop.**, São Paulo, v. 37, p. 253-255, 1995.

VELATHANTHIRIA, G. N. S. *et al.* Comparasion of Serology, Virus Isolation and RT-PCR in the Diagnosis of Dengue Viral Infections in Sri Lanka. **Dengue Bull.**, n. 30, 2006.

VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de infectologia.** 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

VILAR, D. C. L. F.; SOUZA-SANTOS, R. **Aspectos clínicos e epidemiológicos do Dengue Hemorrágico no Ceará no período de 1994 a 2006**. 2008. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2008.

VITA, W. P. *et al.*. Dengue: alertas clínicos e laboratoriais da evolução grave da doença. **Rev. Soc. Bras. Clín. Méd.**, 2009.

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

WALLACH, J. B. **Interpretação de exames laboratoriais**. 7. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2003.

WHO. **Dengue haemorrhagic fever**: diagnosis, treatment, prevention and control. Geneve, 1997.

_____. **Dengue**: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. Geneve, 2009.

YOUNG, P. R. *et al.* **Tratado de infectologia**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

ZAGNE, S. M. *et al.* Dengue hemorrhagic fever in the state of Rio de Janeiro, Brazil: a study of 56 confirmed cases. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 88, n. 6, p. 677-679, Nov./Dec. 1994.

APÊNDICES

APÊNDICE A- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL

Coordenador do Projeto: Danielle Malta Lima
Grupo de investigadores: Jeová Keny Baima Colares
Danielle Malta Lima
Almira Monteiro
Laiane Fernanda de M. Bezerra

CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO

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, como por exemplo, não há um método de diagnóstico rápido, não há um tratamento eficaz para os sintomas causados pelo vírus dengue. Nosso trabalho tem como objetivo estudar os diferentes métodos de diagnóstico e as alterações causadas pelo vírus em nosso organismo. No sangue que você está doando iremos fazer o diagnóstico de dengue e conseguiremos quantificar com exatidão quantos vírus dengue estarão presentes no seu sangue. Para que com isso, torne o diagnóstico mais rápido e eficaz, contribuindo para um diagnóstico mais precoce.

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 1 amostra 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 a 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, 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 Danielle Malta Lima no Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina pelo telefone (0xx85) 33668310/33668311, ou no Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital São José de Doenças Infecciosas (0xx85) 34527880.

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 a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas. Reconheço que a minha participação é voluntária.

De acordo:

Nome do paciente: _____

Assinatura do paciente: _____

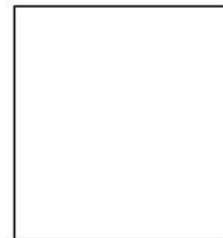
Testemunha: _____

Pesquisador: _____

Assinatura do pesquisador: _____

Telefones para contato: _____

Fortaleza, ___ / ___ / ____



Paciente
Impressão digital

APÊNDICE B – FICHA DE AVALIAÇÃO INICIAL E SUBSEQUENTE

Data da consulta ___ / ___ / _____ Número _____
 MÉDICO: Dr.(a) _____

Projeto Dengue 2010
Ficha de Avaliação Inicial (1º ao 5º dia)

Nome: _____ Idade: _____ Sexo: _____
 Endereço: _____ Bairro: _____
 Cidade: _____ Estado: _____ Telefone: () _____

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

Crítérios 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):
 - Cefaléia Dor retroorbitária Mialgias Artralgias Prostração Exantema

Crítérios de exclusão:

- Gestante < 18 anos Uso de imunossupressores Não concordou
- Possuir sinais de localização que sugiram outra etiologia (ex: influenza, gastroenterite, amigdalite, etc)

Manifestações clínicas:

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

Manifestações hemorrágicas: Não

- Gengivorragia Epistaxe Equimoses Petéquias Hematúria
- Metrorragia Hematêmese Melena
- ❖ Prova do laço: Positiva Negativa Não realizada
- Outras: _____

Antecedentes:

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

Sinais de alarme: Não

- Dor abdominal intensa Vômitos persistentes \downarrow PA postural/lipotímia Oligúria
- Hemorragia importante Sonolência/irritabilidade Hepatomegalia dolorosa \downarrow temp/hipotermia
- \uparrow abrupto hematócrito \downarrow abrupta plaquetas Desconforto respiratório Derrames cavit.

Sinais de choque: Não

- Hipotensão ($PA_{max} < 90$ mmHg) PA convergente (diferencial < 20mmHg) Pulso rápido e fino
- Extremidades frias/cianose Enchimento capilar lento (> 2 seg)

Complicações: Não Neurológicas Disfunção cardio-respiratória Hepáticas Hemorragias Leucopenia (GB < 1000 Plaquetopenia (Plaq < 50000) Outras: _____

Tabela de achados clínicos e laboratoriais:

Dados/Data							
Peso (Kg)							
Pulso							
Temp							
PA _{decúbito}							
PA _{ortostase}							
Capilar (s)							
Freq. Resp							
Hb (g/dL)							
Ht (%)							
GB ($\times 10^3$)							
Bastões (%)							
Seg (%)							
Linfo (%)							
Pla α ($\times 10^3$)							
TGO/AST							
TGP/ALT							
BT							
BD							
BI							
Albumina							
Uréia							
TAP (INR)							
TPTA							
Creatinina							
Sódio							
Potássio							
pH (A ou V)							
pO ₂ (FIO ₂)							
pCO ₂							
HCO ₃ ⁻							
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: _____

Data da consulta ___/___/___

Número _____

MÉDICO: Dr.(a) _____

Projeto Dengue 2010
Ficha de Avaliação Subsequente

Nome: _____ Idade: _____ Sexo: _____

Endereço: _____ Bairro: _____

Cidade: _____ Estado: _____ Telefone: () _____

Controle:

- Data início da febre: ___/___/___ (D=___)
- Data início da avaliação inicial: ___/___/___
- Data 1ª coleta: ___/___/___ (Se diferente da data anterior)
- Data 2ª coleta: ___/___/___ (Se diferente da data de hoje)

Manifestações clínicas adicionais (Não presentes na avaliação inicial): Não

- Cefaléia Mialgias Dor retroorbitária Artralgias Prostração Exantema
 Desidratação Edema Derrame pleural Ascite Prurido Anorexia
 Náuseas Vômitos Meningismo Diarréia Icterícia Palpitações
 Rinorréia Tosse Expectoração Dispnéia Dor de garganta
 Outras: _____

Manifestações hemorrágicas (Durante todo o caso): Não

- Não Gengivorragia Epistaxe Equimoses Petéquias Hematúria
 Metrorragia Hematêmese Melena
 ❖ Prova do laço: Positiva Negativa Não realizada
 Outras: _____

Sinais de alarme (Durante todo o caso): Não

- Dor abdominal intensa Vômitos persistentes PA postural/hipotímia Oligúria
 Hemorragia importante Sonolência/irritabilidade Hepatomegalia dolorosa ↓ temp/hipotermia
 ↑ abrupto hematócrito ↓ abrupta plaquetas Desconforto respiratório Derrames cavit.

Sinais de choque (Durante todo o caso): Não

- Hipotensão (PA_{max} < 90mmHg) PA convergente (diferencial < 20mmHg) Pulso rápido e fino
 Extremidades frias/cianose Enchimento capilar lento (> 2 seg)

Complicações (Durante todo o caso): Não

- Neurológicas Disfunção cardio-respiratória Hepáticas Hemorragias
 Leucopenia (GB < 1000) Plaquetopenia (Plaq < 50000)
 Outras: _____ Detalhes: _____

Evolução (Desde primeira avaliação):

- Observação < 24h Observação > 24h Consultas emergenciais: n= _____
 Internamento hospitalar Internamento UTI Atendimento fora do HSJ
 Outras: _____ Detalhes: _____

- MAC ELISA:** positivo negativo não realizado
IgG ELISA: positivo negativo não realizado
Isolamento viral: positivo negativo não realizado
NS1: positivo negativo não realizado
RT-PCR: positivo negativo não realizado

Tabela de achados clínicos e laboratoriais (Usar após esgotar a tabela inicial):

Dados/Data							
Peso (Kg)							
Pulso							
Temp							
PA _{decubito}							
PA _{ortostase}							
Capilar (s)							
Freq. Resp							
Hb (g/dL)							
Ht (%)							
GB (x10 ³)							
Bastões (%)							
Seg (%)							
Linfo (%)							
Plaq (x10 ³)							
TGO/AST							
TGP/ALT							
BT							
BD							
BI							
Albumina							
Uréia							
TAP (INR)							
TPTA							
Creatinina							
Sódio							
Potássio							
pH (A ou V)							
pO ₂ (FiO ₂)							
pCO ₂							
HCO ₃ ⁻							
BE							

Raio de X tórax (_ / _): normal não realizado alterado _____

US abdome (_ / _): normal não realizado alterado _____

Outros exames: _____

Classificação final: Suspeito de Dengue Dengue clássica Dengue c/ complicações Febre hemorrágica da dengue (FHD) Síndrome do choque da dengue (SCD) Descartado

Outro: _____

Observações: _____

APÊNDICE C – HEMOGRAMA

O hemograma foi realizado em contadores hematológicos, utilizando como aparelho, o Analisador automático de células sanguíneas Advia 120-SIEMENS, associado à análise microscópica. A metodologia utilizada foi a Automatização com estudo morfológico em esfregaços corados em sangue total com EDTA.

Valores de referências para eritograma, leucograma e plaquetas de acordo com a bula do kit.

Eritograma:

Hemácias: 3,9 a 5,8 milhões/ mm³

Hemoglobina: 11,5 a 16,5 g/ 100 ml

Hematócrito: 36 a 47%

Leucograma

Leucócitos: 4.000 a 10.000/ mm³

Bastões: 3 a 5% (0 a 500 /mm³)

Segmentados: 55 a 65% (1.600 a 7.000/mm³)

Linfócitos: 23 a 35% (800 a 5.000/mm³)

Plaquetas: 150.000 a 450.000/mm³

BIOQUÍMICA

O equipamento utilizado foi o Analisador Automático de Bioquímica (LABMAX 240 - LABTEST). Os valores de referências foram baseados na bula do kit do reagente do LABTEST®

Ureia: Método- Enzimático UV em soro ou plasma (Referência: 15 a 40mg/dl)

Creatinina: Método- Cinético de Jaffér em soro ou plasma (Referência- 0,4 a 1,3 mg/dl)

ALT: Método-Cinético UV em soro (Referência- Mulheres: 10 a 37 U/L - Homens: 11 a 39U/L)

AST: Método-Cinético UV em soro (Referência- Mulheres: 10 a 32 U/L - Homens: 11 a 38U/L)

Albumina: Método- Reação de Biureto em soro (Referência- 3,5 a 5,5 g/dl)

COAGULOGRAMA

Tempo de Protombina (TAP): Método- Quick em plasma com citrato (Referência- 11 a 12,5 segundos)

Tempo Parcial de Tromboplastina Ativado (TPTA): Método: Quick em plasma com citrato (Referência- 30 a 45 segundos)

ANEXOS

ANEXO A – PARACER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO HSJ

	GOVERNO DO ESTADO DO CEARÁ SECRETARIA DA SAÚDE	HOSPITAL SÃO JOSÉ DE DOENÇAS INFECIOSAS
--	---	---

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA (CEP-HSJ)

Protocolo Nº 031/2009

CAAE:0033.0.042.000-09

Título do Projeto: "Diagnóstico alternativos em pacientes com suspeita de dengue com testes imunológicos e virológicos negativos"

Instituições envolvidas: Hospital São José de Doenças Infecciosas
Universidade Federal do Ceará-UFC

Pesquisadora Responsável: Dra. Danielle Malta Lima

PARECER CONSUBSTANCIADO

Analisamos o projeto em questão, em reunião ordinária do dia 27 de julho de 2009. O estudo tem como objetivo geral pesquisar os agentes etiológicos: Febre Amarela, Hantavirose, Mayaro, Orupouche e Leptospirose em pacientes o diagnostico de Dengue negativo através de testes sorológicos e virológicos.

A pesquisa será realizada nos ambulatórios de e na enfermaria do Hospital São José de Doenças Infecciosas (HSJ) pelo médico infectologista Dr. Jeová Keny Baima Colares. Os pacientes serão recrutados por busca ativa de casos, dentre homens e mulheres, com idade igual ou superior a 18 anos, apresentando quadro febril, associado a pelo menos dois dos seguintes sintomas: cefaléia, dor retro-orbitaria, artralgia, mialgia e exantema, atendidos no HSJ. O projeto foi submetido ao edital do "Programa Primeiro Projetos" – PPP/FUNCAP/CNPq, EDITAL FUNCAP 04/2009 e aguarda financiamento. Os aspectos éticos foram mencionados.

O projeto está bem escrito, segue uma seqüência lógica e apresenta-se congruente com o método científico. Além disso, tem potencial para trazer grandes benefícios para melhoria do diagnostico diferencial da dengue com relação a agentes etiológicos causadores de doenças importantes tais como a Febre Amarela, as Hantavíroses e a Leptospirose.

Diante do exposto, o projeto foi considerado **APROVADO**.

Lembramos a necessidade do envio de relatório do andamento do projeto (primeiro para 27 de julho de 2010) e de relatório final quando de sua conclusão, além do que qualquer mudança na proposta do estudo, deverá passar por uma prévia avaliação deste comitê. Outrossim, comunicamos que, mensalmente, o CEP-HSJ está monitorando pesquisas em execução no Hospital São José de Doenças Infecciosas escolhidas aleatoriamente.

Fortaleza, 15 de agosto de 2009.

Dr. Robério Dias Leite
Coordenador do CEP/HSJ

Rua Nestor Barbosa, 315 - Parquiêndia - Fortaleza / Ceará
CEP 80.455-610 FAX (85) 3101.2363 FAX (85) 3101.2318
e-mail: hsj@hsj.ce.gov.br

ANEXO B – NÚMERO DE PROTOCOLO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA DO HSJ.

	GOVERNO DO ESTADO DO CEARÁ SECRETARIA DA SAÚDE	HOSPITAL SÃO JOSÉ DE DOENÇAS INFECIOSAS
--	---	---

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA (CEP-HSJ)

Ofício Nº 064/2009 Fortaleza, 15 de agosto de 2009

Referente ao protocolo Nº 031/2009 **CAAE: 0033.0.042.000-09**
Título do Projeto: "Diagnóstico alternativo em pacientes com suspeita de dengue co testes imunológicos e virológicos negativos"
Instituição envolvida: Hospital São José de Doenças Infecciosas
 Universidade Federal do Ceará-UFC
Pesquisador Principal: Dra. Danielle Malta Lima

Senhor Diretor,

Levamos ao conhecimento de V. Sa. que o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital São José de Doenças Infecciosas (CEPHSJ), dentro das normas que regulamentam a pesquisa em seres humanos do Conselho Nacional de Saúde, Resolução Nº 196 de outubro de 1996, publicada no Diário Oficial da União em 16 de outubro de 1996, aprovou o projeto em apreço na reunião ordinária no dia 27 de julho de 2009. Sem mais para o momento subscrevemo-nos.

Atenciosamente,

Dr. Robério Dias Leite
 Coordenador do CEP-HSJ

Imo Sr.
 Dr. Anastácio de Queiroz Sousa
 Diretor Geral
 Nesta

Rua Nelson Batista, 315 - Parqueolinda - Fortaleza / Ceará
 CEP 60.455-410 - Fone: (85) 3101.1263 FAX: (85) 3101.2109
 e-mail: hsj@hsj.ce.gov.br