



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS AGGEU MAGALHÃES
Doutorado em Saúde Pública



Carlos Alexandre Antunes de Brito

**Dengue em Recife, Pernambuco:
padrões clínicos, epidemiológicos,
laboratoriais e fatores de risco associados
à forma grave da doença.**

RECIFE
2007

Carlos Alexandre Antunes de Brito

**Dengue em Recife, Pernambuco: padrões clínicos, epidemiológicos,
laboratoriais e fatores de risco associados à forma grave da doença**

Tese apresentada ao Programa de Pós
Graduação do Centro de Pesquisas Aggeu
Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz para
obtenção do título de Doutor em Ciências.
Área de Concentração: Saúde Pública

Orientadoras:

Profa. Dra. Norma Lucena-Silva

Profa. Dra. Maria de Fátima P. Militão de Albuquerque

RECIFE

2007

Catálogo na fonte: Biblioteca do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães

B862d Brito, Carlos Alexandre Antunes de.

Dengue em Recife, Pernambuco: padrões clínicos, epidemiológicos, laboratoriais e fatores de risco associados à forma grave da doença. — Recife: C. A. A. Brito, 2007.

80 p.

Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Centro de Pesquisas Aggeu, Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, 2007.

Orientadoras: Norma Lucena-Silva e Maria de Fátima P. Militão de Albuquerque.

1. Dengue. 2. Dengue - epidemiologia. 3. Dengue – imunologia. 4. Dengue – mortalidade. 5. Febre hemorrágica da dengue. I. Lucena-Silva, Norma. II. Albuquerque, Maria de Fátima Militão de. III. Título.

CDU 616.92

Carlos Alexandre Antunes de Brito

**Dengue em Recife, Pernambuco: padrões clínicos, epidemiológicos,
laboratoriais e fatores de risco associados à forma grave da doença**

Tese apresentada ao Programa de Pós
Graduação do Centro de Pesquisas Aggeu
Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz para
obtenção do título de Doutor em Ciências.
Área de Concentração: Saúde Pública

Aprovado em: ___/___/_____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. João Bosco Siqueira Jr
Universidade Federal de Goiás

Profa. Dra. Heloisa Ramos
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dra. Zulma Medeiros
CPqAM/FIOCRUZ

Prof. Dra. Valéria Pereira
CPqAM/FIOCRUZ

Profa. Dra. Norma Lucena-Silva
CPqAM/FIOCRUZ

Esta tese é dedicada a minha esposa Rita, minhas filhas Cecília, Marina e Luiza para que no futuro possam entender o porquê de alguns momentos de ausência.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, a quem devo todas as conquistas até hoje alcançadas e que me estimularam a vencer mais esta etapa.

A Rita de Cássia, minha esposa, que criou condições pessoais para que eu pudesse desenvolver a tese, supriu a minha ausência junto às minhas filhas, me orientou, apoiou e estimulou diante das dificuldades.

À Prof. Dr^a Norma Lucena, por ter aceitado mais uma vez o desafio de me orientar, o fazendo com brilhantismo, simplicidade, maestria e paciência, me fazendo compreender o verdadeiro significado da ciência, tornando-se para mim referência de estímulo à pesquisa e ao crescimento coletivo.

À Prof. Dr^a Fátima Militão pelo apoio, incentivo, colaboração incansável, disponibilidade em ouvir, e estímulo constante nas horas de recomeço.

Ao Dr. Ernesto Marques pela presteza, incentivo e pelas importantes sugestões no enriquecimento deste trabalho.

A Marli Tenório pela sua importante colaboração no diagnóstico laboratorial e constante disponibilidade em ajudar.

À Cecília Magalhães, pelo constante apoio para o desenvolvimento desta pesquisa.

A todos que fazem do LaViTE, um laboratório de pesquisa, que tornaram possível à realização deste trabalho.

Aos pesquisadores e funcionários do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/FIOCRUZ que tornam esta instituição, exemplo de trabalho em equipe.

Aos colegas do doutorado Celso, Clarice, Cleide, Eduarda, Fábio, Flávia, Garibaldi Gurgel, Idê Gurgel, Juliana, Marta, Rosângela, pelo longo período de convivência, incentivo nos momentos de dificuldade, amizade e por terem tornado agradável o retorno à sala de aula.

A Carlos Luna e estagiárias Vanessa Santos e Leila Milfont pela colaboração valiosa nas análises estatísticas.

Ao Hospital Esperança, Hospital Santa Joana e IMIP nas pessoas de Dr. Ronald Cavalcanti, Dr. Marcelo Ventura, Dr. Eustácio Vieira, Dra. Lígia Arruda, Dra. Márcia Azevedo, Dr. Rubem Maggi e Dr. Jailson Correia que abriram as portas destes serviços, sem nenhuma restrição, tornando possível a realização desta

coorte, contribuindo para entendimento da doença e melhoria da saúde da população.

A Dr. Luciano Almeida, Renildes Fernandes, Norma Shisfferes e Taybe Leal que modificaram as suas rotinas sempre preocupados em oferecer condições ideais para coleta das amostras e realização dos exames.

A Liciania, Ivanacha, Patrícia, Vanessa pela importante colaboração na realização das entrevistas e coleta das amostras, sempre realizadas com muito carinho e presteza aos pacientes.

Aos colegas médicos plantonistas dos serviços de Clínica Médica do Hospital Esperança, Hospital Santa Joana e pediatras do IMIP que sempre se colocaram a disposição na seleção dos casos, prestando uma assistência de excelência aos mesmos e contribuindo para a cura dos pacientes acompanhados.

A Filipe Lima e Roberto Magalhães Filho, que souberam compreender as ausências no Serviço de Endoscopia e que absorveram mais atividades, o que me proporcionou tranquilidade e tempo para realização desta tese.

Aos pacientes, que contribuíram de forma fundamental, através da sua permissão e disponibilidade, para o desenvolvimento desta pesquisa, colaborando para o desenvolvimento científico, o nosso sincero agradecimento.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADEM	'Acute disseminated encephalomyelitis'
ALT	Alanina-amiotransferase
AST	Aspartado amino-transferase
C3a	Complemento 3a
C5a	Complemento 5a
cDNA	DNA complementar
DC	Dengue clássica
DEN-1	Dengue 1
DEN-2	Dengue 2
DEN-3	Dengue 3
DEN-4	Dengue 4
ELISA	Ensaio imudoadsorvente enzima-associado
ENA	'Epithelil cell-derived neutrophil-activating protein'
FcR	Receptor Fc
FHD	Febre hemorrágica da dengue
FNT	Fator de necrose tumoral
HI	Inibição de hemaglutinação
HLA	Antígeno maior de histocompatibilidade
IDL	Infecção <i>dengue-like</i>
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina G
IL	Interleucina
INF	Interferon
LCR	Liquor cefalorraquidiano

MS	Ministério da Saúde
OMS	Organização mundial de saúde
P1	"primer" 1
P2	"primer" 2
PAHO	'Pan American Health Organization'
pb	Pares de base
PCR	Reação em cadeia de polimerase
RANTES	'Regulation upon Activation Normal T cell Expressed and Secreted'
RNA	Ácido ribonucléico
RNM	Ressonância nuclear magnética
RT-PCR	Reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa
SCD	Síndrome do choque da dengue
SNC	Sistema Nervoso Central
Th	Células T helper
US	Ultra-sonografia
WHO	'World Health Organization'

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 Epidemiologia	14
1.2 Etiologia	16
1.3 Imunopatogênese da FHD	18
1.3.1 Trombocitopenia	21
1.4 Aspectos Clínicos	24
1.4.1 Manifestações clínicas incomuns	30
1.4.2 Prognóstico	35
1.5 Diagnóstico laboratorial	35
1.5.1 Ultra-sonografia (US)	37
1.6 Fatores de Risco associado a formas graves da doença	37
1.6.1 Faixa etária	39
1.6.2 Manifestações clínicas. Sinais de alerta	41
1.6.3 Prova do laço	42
1.6.4 Co-morbidades	42
1.6.5 Fatores de riscos entre adultos e crianças	43
2 JUSTIFICATIVA	45
3 OBJETIVOS	47
3.1 Objetivo Geral	48
3.2 Objetivos Específicos	48
REFERÊNCIAS	49
APÊNDICES	60
Apêndice A - Capítulo de Livro - Dengue e Febre Hemorrágica da dengue	
Apêndice B - Artigo de Revista 1- Acute disseminated encephalomyelitis in classic dengue	

Apêndice C - Artigo de Revista 2 - Evidência de alterações de permeabilidade vascular na dengue: quando a dosagem de albumina sérica define o quadro?

Apêndice D - Artigo de Revista 3 - (Em preparação) - Dengue: perfil clínico-epidemiológico, laboratorial e avaliação de fatores de risco em uma coorte prospectiva entre pacientes adultos em Recife, Nordeste do Brasil

Apêndice E - Artigo de Revista 4 -(Em preparação) - Padrões clínicos de dengue e FHD entre adultos e crianças na cidade do Recife, Brasil

CONSIDERAÇÕES FINAIS

APRESENTAÇÃO

A dengue uma doença infecciosa, causada por um flavivirus e transmitida pelo mosquito do gênero *Aedes aegypti*, tornou-se um grave problema de saúde em todo o mundo. Estima-se que cerca de 80 milhões de pessoas adoecem anualmente, com 550 mil hospitalizações e 20 mil óbitos (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2002).

Nos últimos 15 anos vem crescendo o número de casos no Brasil. No período de 2000 a 2004, o país foi responsável por 70% dos casos de dengue relatados na região das Américas (SIQUEIRA JÚNIOR et al., 2005). Pernambuco, localizado no nordeste do Brasil, foi o segundo estado com maior número de casos em 2002, com 101.871 notificações, 346 casos de febre hemorrágica da dengue (FHD) e 20 óbitos (BRASIL, 2007).

A forma grave da doença tem sido freqüentemente associada a uma segunda infecção e explicada por uma resposta imune exacerbada em um sistema imune previamente sensibilizado com liberação de amina vasoativas, citocinas levando entre outras anormalidades a alterações do endotélio capilar podendo evoluir para choque e ao óbito. A letalidade entre casos de FHD tem sido bastante variável em diferentes regiões. Na epidemia de 2002 por DEN-3 no Brasil, de um total de 686.305 casos, 2727 eram classificados como FHD com letalidade de 4,5%.

O acometimento de dengue por faixa etária tem apresentado diferentes resultados dependendo da região estudada. Na Ásia predominam acometimento de faixa etária pediátrica, bem como as formas graves da doença (CARLOS et al., 2006; HAMMOND et al., 2005; SHAH; DESHPANDE; TARDEJA, 2004). Nas Américas este padrão clínico-epidemiológico tem tido comportamento diferente acometendo predominantemente adultos (CARLOS et al., 2006; GUZMAN; KOURI, 2003; GUZMAN et al., 2006).

Na tentativa de reduzir os índices de morbidade e mortalidade associado a doença e ajudar os médicos a estabelecer um diagnóstico precoce em casos graves da doença, diversos “guidelines” buscam identificar marcadores clínicos e laboratoriais capazes de prever os pacientes com risco de desenvolver a forma grave da doença (BRASIL, 2005a; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999). Porém as diferentes metodologias utilizadas para definir tais marcadores têm

produzido resultados discordantes, que aliadas a importantes diferenças epidemiológicas das epidemias dificultam a extrapolação destes “guidelines” e sua utilização para as diferentes regiões do mundo.

A tese será apresentada no formato de um capítulo de livro e quatro artigos para periódico. O capítulo do livro intitulado: **“Dengue e Febre Hemorrágica da Dengue”**, teve como objetivo realizar uma atualização do tema visando subsidiar os profissionais de saúde no suporte ao paciente com dengue. Esse capítulo está sendo publicado no livro *Condutas em Clínica Médica*, editado pela MEDSI/Guanabara-Koogan, do Rio de Janeiro, com lançamento previsto para agosto de 2007.

O primeiro artigo intitulado: **“Acute disseminated encephalomyelitis in classic dengue”** teve por objetivo divulgar uma forma incomum de acometimento da doença e já está aceito para publicação na *Revista Brasileira de Medicina Tropical*, volume 40 de 2007.

O segundo artigo intitulado: **“Evidência de alterações de permeabilidade vascular na dengue: quando a dosagem de albumina sérica define o quadro?”** apresenta uma série de casos de FHD estudados retrospectivamente com o objetivo de sistematizar as características clínicas dos casos e os exames laboratoriais relevantes para o seu acompanhamento e diagnóstico clínico. Esse estudo já foi aceito para publicação *Revista Brasileira de Medicina Tropical*, volume 40 de 2007.

A partir de uma coorte iniciada em 2003, em Recife-PE, objetivando o desenvolvimento de vacina contra dengue e a identificação de marcadores prognósticos apresentaremos o terceiro e quarto artigos. A população do estudo foi composta por voluntários recrutados no serviço de urgência de dois hospitais gerais privados da cidade, Hospital Santa Joana e Hospital Esperança e um hospital de pediatria público o Instituto Materno Infantil Professor Fernando Figueira (IMIP).

Os médicos do plantão ao identificarem um caso suspeito seguiam o protocolo de atendimento aos pacientes com dengue do Ministério da Saúde (MS 2003), avaliando o paciente clínica e laboratorialmente no primeiro dia do atendimento e subseqüentemente quando necessário. Amostras de sangue eram coletadas na fase aguda da doença, na convalescença e após 6 meses.

O terceiro artigo intitulado: **“Dengue: perfil clínico-epidemiológico, laboratorial e avaliação de fatores de risco em uma coorte prospectiva entre pacientes adultos em Recife, Nordeste do Brasil”** teve como objetivo descrever o

padrão clínico-epidemiológicos dos casos de dengue entre maiores de 14 anos e identificar fatores de riscos associados a FHD. Como objetivo secundário analisou-se as características que diferenciam os casos de dengue clássica (DC) daqueles de infecção *dengue-like* (IDL).

O quarto artigo intitulado: “**Padrões clínicos de dengue e FHD na cidade do Recife, Brasil: uma comparação entre crianças e adultos**” tem objetivo descrever o padrão de apresentação na faixa etária pediátrica comparando com adultos. Esses dois últimos serão submetidos para periódicos indexados visando à difusão do conhecimento produzido.

Esperamos que estas publicações possam contribuir para um melhor entendimento da dengue no Brasil e que sirvam como estímulo para o desenvolvimento de novas coortes que permita nortear novas abordagens terapêuticas e principalmente identificar precocemente os pacientes com risco potencial de desenvolver a forma grave da doença, bem como suas complicações, possibilitando criar estratégias diferenciadas de suporte terapêutico para tais pacientes.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Epidemiologia

A dengue é uma doença infecciosa, causada por um flavivirus e transmitida pelo mosquito do gênero *Aedes aegypti*, que se tornou um grave problema de saúde em todo o mundo. Estima-se que cerca de 80 milhões de pessoas adoecem anualmente, com 550 mil hospitalizações e 20 mil óbitos (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2002a).

Nas últimas décadas, vem ocorrendo um encurtamento nos intervalos entre as epidemias, variando de um a três anos, associado a um aumento do número de casos da forma hemorrágica da doença.

Os primeiros relatos de epidemias com quadros clínicos compatíveis com dengue clássica (DC) datam de 1780 na Filadélfia e de casos de febre hemorrágica da dengue (FHD) em 1953 em Manila, Filipinas (GUZMAN; KOURI, 2003).

A atual pandemia teve início na Ásia e regiões do Pacífico, durante e após a segunda guerra mundial. Diversos fatores contribuíram para expansão geográfica do vetor, como a presença de indivíduos susceptíveis e o deslocamento da população, o que favoreceu a dispersão do vírus.

As últimas três décadas do século 20 foram de fundamental importância na definição da atual situação das Américas. No ano de 1977 foi relatada pela primeira vez uma disseminação da infecção pelo vírus 1, neste período deixou de circular o vírus 3 e em 1981, a primeira epidemia de FHD pelo Dengue-2 é relatada em Cuba, com mais de 300.000 casos, incluindo 10.000 casos de FHD e 158 mortes, das quais 105 ocorreram em crianças.

Em 1981, o vírus 4 foi introduzido nas ilhas do Caribe, se estendendo nos anos seguintes para a América do Sul e América Central. Este período foi caracterizado pelo surgimento das formas hemorrágicas e co-circulação de diferentes sorotipos (Dengue 1, 2 e 4).

Em 1989, uma segunda epidemia foi relatada, desta vez causada predominantemente pelo sorotipo 2. Na Venezuela no período de 1989 a 1990 foram relatados 3108 casos de FHD com 73 óbitos (PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION, 1990).

O vírus 3 deixou de circular nas Américas por cerca de quatorze anos, retornando em 1994, inicialmente na Nicarágua e Panamá, um ano após atingiu

América Central e em 1998 expandiu-se para a América do Sul (GUZMAN; KOURI, 2003).

No Brasil, em 1986 foi registrada uma epidemia pelo Dengue 1 e entre 1990 a 1991 foi relatada a primeira epidemia de FHD causada pelo Dengue 2, porém com um menor número de casos quando comparados àqueles ocorridos em Cuba. Foram notificados 462 casos de FHD, dos quais, oito evoluiu para o óbito (PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION, 1992).

Em Pernambuco, o sorotipo 1 foi detectado em 1987, o Dengue 2 em 1994 e o sorotipo 3 foi isolado pela primeira vez em 2002 sendo responsável pela maioria dos casos daquela epidemia (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 1996, 2002a).

O número de casos vem crescendo de forma alarmante no Brasil. Entre 1986 e 1993 foram notificados 294.419 casos, com intervalo de 2 anos entre as grandes epidemias, com a maioria dos casos ocorrendo entre os meses de dezembro a maio. Entre 1994 e 2002 foram relatados 2.826.948 casos, um aumento de incidência de 37 para 454 por 100.000 habitantes. Duas grandes epidemias ocorreram em 1998 e 2002 com 528.388 e 794.219 casos respectivamente (SIQUEIRA JÚNIOR et al., 2005).

O número de casos confirmados de dengue em Pernambuco entre 1996 a 1999 foi de 108.395, com 91 casos de FHD. Em 2002 foram notificados 101.548 casos, com 346 casos de FHD, com 20 óbitos, uma incidência sete vezes maior que a observada no ano de 2001 (BRASIL, 2007).

No Brasil a doença tem predominado na faixa etária entre 15 e 44 anos. Cerca de 50% de todos os relatos ocorrendo entre 20 e 40 anos. Dos 91 casos de FHD entre 1996 a 1999 em Pernambuco, apenas 7% deles tinham menos de 15 anos de idade (BRITO; BRITO; GOMES, 2004; SIQUEIRA JÚNIOR et al., 2005).

Há poucos estudos que avaliam o impacto econômico da doença, mas em 1981 em Cuba, foram notificados 344.303 casos e foi estimado um custo de aproximadamente 103 milhões de dólares. Na Tailândia em 1987, onde ocorreram 152.840 casos de febre hemorrágica da dengue (FHD) com 785 mortes, foram gastos US\$ 16.048.200. Estes custos não incluem as perdas com os dias não trabalhados pelo paciente e seus familiares (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1997).

Entretanto, há consenso acerca das razões de disseminação da doença, reflexo das condições sócio-econômicas precárias. O rápido crescimento

populacional, principalmente em países sub-desenvolvidos, seguido de uma urbanização não planejada, sem suplência adequada de água, gerou condições ideais para proliferação do mosquito transmissor e conseqüentemente da doença.

Um outro importante fator para a disseminação da doença é a falta de medidas amplas e adequadas de controle do vetor nas áreas endêmicas, onde muitas vezes as atividades de controle se restringem ao uso de inseticidas lançados no ar, com baixa eficácia, gerando apenas falsa sensação de segurança (SINNIAH; IGARASHI, 1995).

Um programa de erradicação do *Aedes aegypti* para prevenção de febre amarela foi iniciado pela *Pan American Health Organization* (PAHO) em 1940, conseguindo erradicar o vetor em 19 países incluindo o Brasil, porém em virtude da ausência de estratégias permanentes e falta de investimento em melhoria das condições de vida e habitacionais o mosquito foi re-introduzido na década de 70.

No Brasil diante do aumento do número de casos e com a introdução do sorotipo DEN-3, o Ministério da Saúde em parceria com a Organização Pan-Americana de Saúde elaborou em 2001 o Plano de Intensificação das Ações de Controle da Dengue. As estratégias incluem medidas de combate ao vetor e orientações de rotinas de atendimento, incluindo capacitação de profissionais da área de saúde na tentativa de minimizar o impacto destas epidemias com o reconhecimento e tratamento oportuno dos casos mais graves (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2002a).

1.2 Etiologia

O vírus é transmitido ao homem pela picada do mosquito fêmea, cujo principal vetor é o *Aedes aegypti*, que tem hábitos diurnos, domésticos e preferência por depósitos de água limpa (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 1996).

O vírus é da família Flaviridae, gênero Flavivirus, dividido em quatro sorotipos antigenicamente diferentes: DEN 1, 2, 3 e 4.

Infecção por qualquer um dos sorotipos, freqüentemente está associado ao desenvolvimento de doença febril leve, autolimitada. Formas graves tem sido associado à infecção secundária (HALSTEAD, 1981)

Estudos epidemiológicos revelam que algumas cepas do vírus da dengue estão envolvidas mais frequentemente com graves epidemias, com alta incidência de FHD/SCD e rápida transmissão (GUBLER, 1993). Uma explicação admitida, é que evolução genética do vírus dentro de cada sorotipo tenha resultado em cepas epidêmicas ou mais virulentas (ROSEN, 1997). Uma mudança na proteína E, em particular, pode alterar a suscetibilidade da célula do hospedeiro, afetando a replicação viral e a intensidade da doença.

Alguns estudos têm associado infecção pelo vírus 3 a uma maior frequência de casos de FHD, inclusive após infecção primária (ANANTAPREECHA et al., 2005; HARRIS et al., 2000; MURQUE et al., 1999). Há atualmente 04 subtipos identificados dentro do sorogrupo classificados de I a IV. O vírus *Taiti* (1965) e *Porto Rico* (1963, 1977) são antigenicamente similares e classificados como subtipo IV, sempre associados a epidemias de dengue clássica (LANCIOTTI et al., 1994).

Recente epidemia (1989) de casos com FHD ocorreu no Taiti, causada pelo subtipo I (*Indonésia, Malásia ou o Filipinas*). Os vírus *Sirilanka* 1989 e 1991 estiveram associados a epidemias de FHD, assim como o *Índia* 1990, classificados como subtipo III. No Rio de Janeiro, Brasil, na epidemia de 2002, a caracterização genética do vírus de um dos 37 óbitos de FHD revelou o genótipo subtipo III/*Índia* (MIAGOSTOVICH et al., 2006).

Transmissão vertical tem sido descrita sob a forma de relatos de casos, em mulheres que ao adoecer próximo ao parto, tiveram suas crianças com quadro clínico compatível com dengue ao nascer, nos quais o teste sorológico com anticorpo IgM específico para dengue foi positivo, além de isolamento viral no sangue dos mesmos (CHYE et al., 1997). Portanto, apesar de possível, esta forma de transmissão tem pouco impacto epidemiológico devido a sua baixa prevalência.

Em um estudo realizado em 10 gestantes que contraíram a doença durante a gravidez, não se observaram malformações fetais, alterações placentárias, comprometimento do peso ao nascer, do boletim de Apgar e do tempo de gestação. Os soros fetais foram positivos para anticorpo IgG para dengue do tipo 1, os quais foram transferidos passivamente (FIGUEIREDO; CARLUCCI; DUARTE, 1994).

1.3 Imunopatogênese da FHD

Várias hipóteses para a patogênese da dengue tem sido proposta. Entre elas a descrita inicialmente por Halstead (1981), que tem sido utilizada para explicar uma resposta imune exacerbada nos pacientes com FHD. Admite-se que em 90% dos casos, a síndrome surge no segundo episódio de infecção. O primeiro estímulo antigênico (1ª infecção) levaria a uma sensibilização do sistema imune envolvendo linfócitos T e B. Apesar de antigenicamente distintos, os sorotipos compartilham *epitopos* comuns, sendo este o motivo pelos quais, anticorpos heterólogos de dengue pré-existente, reconhecem de forma cruzada o novo vírus infectante, formando complexos antígeno-anticorpo que se ligam ao receptor Fc (FcR) para imunoglobulina presente nos macrófagos, que promovem sua internalização. O anticorpo heterólogo, não é capaz de neutralizar o vírus que se replicara livremente dentro da célula (HALSTEAD, 1981; GREEN; ROTHMAN, 2006; LEI et al., 2001; ROTHMAN; ENNIS, 1999).

Monócitos e macrófagos teciduais são as células alvos predominantes para infecção pelo vírus da dengue, levando a produção de diversas citocinas vasoativas envolvidas na imunopatogênese da dengue.

Seguindo-se a uma infecção secundária a população de linfócitos T vírus específico previamente sensibilizado, reconhece de forma cruzada *epitopos* da proteína não estrutural, observando-se uma mais rápida ativação e proliferação das células T. Estas células T e monócitos ativados liberam aminas vasoativas e citocinas como: Interferon- γ (IFN- γ), Interleucina-2 (IL-2), IL-6, e fator de necrose tumoral- α (TNF- α) (ROTHMAN; ENNIS, 1999; HALSTEAD, 1998).

Estas citocinas podem induzir alteração de permeabilidade capilar por diversos mecanismos. TNF α tem induzido choque em modelos animais e IL-2 utilizado na terapia do câncer, têm levado a severas síndromes de alteração de permeabilidade capilar (BALUNA; VITETTA, 1997; TRACEY; CERAMI, 1993). IFN- γ não diretamente induz alterações vasculares, mas aumenta a produção de TNF α por monócitos ativados e interage com TNF α para ativar células endoteliais. IFN γ pode também aumentar a apresentação de antígenos virais aos linfócitos T, por aumentar a expressão de antígenos da classe II, aumentando a expressão de receptores para

imunoglobulinas em monócitos e desta forma aumentando o número de células infectadas pelo vírus (ROTHMAN; ENNIS, 1999).

Estudos clínicos têm demonstrado que níveis de $TNF\alpha$ são mais elevados na FHD do que em DC em crianças (GREEN et al., 1999). Apesar de níveis de IL-2 e IFN serem mais altos em pacientes com FHD, não há diferença estatisticamente significativa quando comparado aos casos de DC (KURANE et al., 1991). Elevações de aminotransferase e níveis elevados de receptor para IL-2 têm sido demonstrados.

Níveis de CD4 e CD8 solúveis, receptores para IL-2 (sIL-2R) e para TNF (sTNFR-I e sTNFR-II) são mais estáveis indicadores de ativação imune do que citocinas, tendo sido demonstrados em níveis mais elevados entre pacientes com FHD. Green e outros em 1999 demonstraram ainda que os níveis de sTNFR-II eram elevados, pelo menos 2 dias antes do início das alterações vasculares e estavam correlacionados com a intensidade do choque (GREEN et al., 1999).

Porém, nem sempre os resultados são reproduzíveis, recentemente, Libraty DH e outros não encontraram diferenças significativas entre níveis séricos de IFN- γ , IFN- α e sIL-2r entre FHD e DC, no entanto, encontrou níveis mais elevados de IL-10 e sTNFR-II entre os pacientes com FHD do que naqueles com DC (LIBRATY et al., 2002).

A limitação destes estudos é que os resultados tem sido conflitantes e não reproduzíveis, além de não comparar as diferentes formas clínicas de FHD com a DC e sobretudo por utilizar amostras isoladas, ao invés de seriadas durante a evolução da doença.

Bethell e outros (1998) utilizaram sTNFR-75 como preditor de gravidade e detectaram entre casos de FHD que nível superior a 55pg/ml na admissão estava relacionada com o risco de desenvolver choque subsequente com um OR de 5.5, sugerindo-o como um marcador precoce e específico de alterações de permeabilidade vascular e choque importante na avaliação de prognóstico do paciente na admissão (BETHELL et al., 1998). O estudo não comparou estes pacientes com quadros de DC, portanto não estabelecendo os valores em situações clínicas de menor gravidade.

A ativação do complemento, ocorre pela presença de imunocomplexos e a ação de citocinas, com liberação de C3a e C5a. A consequência final do efeito sinérgico destes elementos liberados, leva a retração endotelial e consequentemente aumento da permeabilidade vascular e perda de líquido para o

extravasular o que leva a hipovolemia, hipotensão e o choque da FHD (GREEN; ROTHMAN, 2006; LEI et al., 2001).

Koraka e outros (2001) avaliaram a cinética das imunoglobulinas IgG e as subclasses, e detectaram altos níveis de IgG1 e IgG3 em pacientes com FHD superior a dengue clássica. Estas imunoglobulinas estão associadas a uma maior capacidade de ativação do complemento e apresentam maior afinidade por receptores Fc, promovendo uma fagocitose mais eficiente. Na síndrome do choque da dengue, observaram altos títulos na fase aguda de IgG1 e principalmente de IgG 4, sugerindo o autor, que esta última condição clínica pode estar associada a uma resposta do tipo Th2, já que esta imunoglobulina é estimulada por IL-4 (KORAKA et al., 2001).

Avaliando-se a expressão gênica em macrófagos infectados com D-2 e utilizando *microarrays*, encontrou-se uma maior expressão de genes relacionadas às citocinas IL-1 β , IL-8, IL-6, IL-15 e outras quimiocinas, ainda não descritas, associadas a dengue como GRO- α , β e γ e ENA-78 (MORENO-ALTAMIRO et al., 2004).

Um estudo envolvendo 54 crianças, identificou picos mais precoces e mais intensos de viremia em FHD do que em DC, as diferenças eram de $0,94 \pm 0,26$ log D3V cDNA cópias/ml, três dias antecedendo a defervescência da febre ($p=0,003$) e de $0,70 \pm 0,30$ log no quarto dia antes da defervescência ($p=0,03$). O máximo de viremia correlacionou-se com o grau de hemoconcentração e uma correlação negativa era vista com os níveis mais baixos de plaquetas (LIBRATY et al., 2002). Este estudo incluiu apenas hemoconcentração como critério de alteração de permeabilidade capilar para o diagnóstico de FHD, não pesquisando níveis séricos de albumina ou derrames cavitários, o que poderia aumentar a sensibilidade na detecção de FHD, podendo ter incluído indivíduos com FHD no grupo de DC e diminuindo as diferenças.

O tipo de resposta dos linfócitos são bastante variáveis entre os estudos. Pacsa AS detectou níveis mais baixos de IL-12 em casos de FHD, quando comparados com dengue clássica. Nenhum nível de IL-12 foi detectado entre pacientes com FHD grau III e IV. Esta deficiência poderia levar a uma substituição da resposta do tipo Th2 e inapropriada geração de linfócitos T citotóxico.

A análise de soro de 107 lactentes, 85 com FHD e 22 com síndrome do choque da engue (SCD), comparando com controle saudáveis detectou na fase aguda níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias (INF- γ e TNF- α) e citocinas anti-inflamatórias (IL-10 e IL-6) sugerindo que estas devem surgir para conter a resposta inflamatória e que o equilíbrio entre as citocinas, devem determinar a forma de apresentação clínica da doença (HUNG et al., 2004).

O fato de só uma parcela de indivíduos com infecção secundária desenvolver casos graves, reforça a importância de fatores relacionados ao hospedeiro na susceptibilidade para FHD. Alguns estudos têm identificado que variações genéticas de alelos de HLA classe I, podem ter efeito protetor ou patogênico, porém com resultados discrepantes, incluindo um valor protetor para HLA A24 e A*0207 e uma associação com maior patogenicidade para HLA A24 e A*0207 em Vietnamitas e em populações de etnia Tailandesa respectivamente (LOKE, H. et al., 2001; STEPHERS; KLAYTHONG; SIRIKONG, 2002). Estudo no México, mostrou que HLA-DRB1*04 é um importante alelo de resistência para FHD e sua alta frequência no México poderia explicar pelo menos em parte o curso atípico neste país (LaFLEUR et al., 2002).

No Recife Nascimento e outros (2006) analisamos 93 casos de DC e 19 de FHD e identificamos uma associação entre o alelo C1 com FHD ($p=0.02$, $OR=6.58$), dados semelhantes aos obtidos por Pérez em 1987 que mostrou correlação entre o mesmo alelo e casos de FHD (PARADOA PEREZ; TRUJILLO; BASANTA, 1987).

1.3.1 Trombocitopenia

Trombocitopenia é comum na dengue clássica e sempre encontrada na FHD. São diversos os mecanismos propostos e estudados para a plaquetopenia, que envolve produção diminuída e destruição periférica aumentada. A fase de progressiva plaquetopenia ocorre no período de defervescência da febre e cerca de dois dias antecedendo o choque. Tem sido demonstrado, que a produção diminuída neste momento tem pouca importância, pois o que se observa é uma medula com um número normal ou aumentado de megacariócitos (SRICHAIKUL; NIMMANNITYA, 2000).

Fortes evidências sugerem portanto, que a destruição periférica é o principal responsável pela queda dos níveis séricos das plaquetas e os mecanismos são imunomediados, ocorrendo por ação de imunocomplexos e principalmente via ativação de complementos, que levam a lise plaquetária (BOONPUCKNAVIG et al., 1979).

A interação de antígeno-anticorpo na superfície plaquetária induziria a agregação das mesmas e postulou-se que a ligação se daria através do receptor Fc das plaquetas com parte da IgG do imunocomplexo, porém outros estudos, demonstraram que a ligação não é primariamente mediada por receptor Fc das plaquetas e que os auto-anticorpos plaquetários são do tipo IgM e não IgG (LIN et al., 2001). Na presença destes auto-anticorpos ocorre lise plaquetária via ativação de complemento.

Plaquetopenia tende a ocorrer a partir do terceiro a quarto dia de doença e após atingir os valores mais baixos, as plaquetas rapidamente se elevam, independente de qualquer terapia, atingindo valores superiores a 100.000 em dois a três dias. Nos últimos 14 casos de FHD acompanhados por nós em 2002 (BRITO 2007), o máximo da plaquetopenia, ocorreu a partir do quinto dia de doença, com valores que variaram entre nove e 75 mil por μl , sendo transfusão de plaquetas administrado apenas em um paciente com 9 mil/ μl plaquetas. Após atingir o nadir inferior de plaquetopenia, elevação acima de 100 mil por μl ocorreu entre dois e cinco dias, com uma média de três dias, reforçando que, elevações rápidas ocorrem espontaneamente. Esta cinética de evolução e elevação de plaquetas, foi descrita em uma casuística de 61 pacientes por Mitrakul e outros em 1977, que mostraram resultados semelhantes. Estudos iniciais demonstraram que a severidade da plaquetopenia era proporcional a gravidade da FHD (MITRAKUL et al., 1977).

Apesar da plaquetopenia ser um componente da FHD, não há uma correlação com intensidade de sangramento, nem é esta última à causa principal do choque e da morte dos pacientes. Sangramentos maiores estão relacionados a FHD severa (grau III e IV), porém estes quadros são menos comuns. A maioria dos casos de FHD, se apresentam sob a forma dos graus I e II, correspondendo aos casos leves da doença. Na epidemia de Cuba os graus III e IV, representaram apenas 3% de todos os casos de FHD (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 1996).

Estudos de Nimmannitya (1987) demonstraram que apenas 15% dos casos de choque (Grau IV) com plaquetopenia inferior a 50.000, apresentavam sangramentos volumosos (SRICHAIKUL; NIMMANNITYA, 2000).

A manifestação hemorrágica mais comum é uma prova do laço positiva. Dos 91 casos de FHD da nossa casuística (1996-1999) a manifestação hemorrágica predominante foi à prova do laço positiva e petéquias espontâneas em 82% dos casos, epistaxe ou gengivorragia estiveram presentes isoladamente ou associados a petéquias em 18% dos casos (BRITO; BRITO; GOMES, 2004).

Em um estudo com 306 crianças menores de 15 anos na Indonésia com FHD, a prova do laço foi positiva em 78,1% dos pacientes, outras formas de sangramento como petéquias estiveram presente em 29,7% e epistaxe em 39,7% isoladamente ou em associação com a prova do laço positiva (CHAIRULFATAH et al., 1995).

Um estudo publicado em 2001 por Krishnamurti e outros (2001), avaliaram 21 casos de DC e 47 casos de FHD (Grau I= 8, G II= 30 e G III=9). Os locais de sangramento observados, excluindo a prova do laço, foram: petéquias (22); epistaxe ou sangramento gengival (14); TGI (12). O local de sangramento era similar entre DC e FHD. Transfusão foi requerida em apenas um paciente com FHD.

Não houve correlação entre o índice de sangramento e a gravidade da doença, porém o índice de derrame pleural aumentou com a intensidade da doença, reforçando que sangramento, não é o determinante de gravidade, mas sim as alterações de permeabilidade capilar. O estudo mostrou ainda, que entre todos os pacientes, o índice de sangramento era independente de níveis séricos de plaqueta (KRISHNAMURTI et al., 2001).

Muitos pacientes apresentam petéquias durante a fase febril apesar de contagem de plaquetas normais, sugerindo alterações funcionais, o que é corroborado por alguns estudos que tem demonstrado uma inibição da agregação plaquetária, induzida por ADP nestes pacientes (SRICHAIKUL; NIMMANNITYA, 2000).

1.4 Aspectos Clínicos

O período de incubação varia de cinco a 10 dias, e a doença se apresenta sob as formas assintomática, oligossintomática e clássica (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2002a).

Em pediatria, um número significativo de doentes podem apresentar a forma oligossintomáticas, o que dificulta o diagnóstico diferencial com outras doenças virais comuns nesta faixa etária (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2002a).

A dengue clássica se apresenta com: febre de início abrupto, na maioria das vezes intensa e persistente; cefaléia frontal, retro-orbitária com relato de intensificação quando da movimentação dos olhos; mialgia generalizada, predominando na região lombar. Linfadenopatia cervical pode ocorrer em 50% dos casos, podendo dificultar o diagnóstico diferencial com rubéola (BUSTOS et al., 1990).

Febre habitualmente desaparece em lise, quando surge então um rash mobiliforme, presente em cerca de 50% dos casos, atingindo face, tronco e membros de forma aditiva, não poupando plantas de pés e palmas das mãos. O prurido pode ser intenso e necessitar de sintomáticos. Na recente epidemia, tem sido observado além do rash descrito, pacientes que apresentam um rash caracterizado por hiperemia cutânea difusa, aditiva, com pequenas áreas arredondadas brancas, que correspondem às áreas poupadas que se destacam ao longo do corpo, acompanhado de sensação de “queimor” cutâneo (BRITO; BRITO; GOMES, 2007).

Diarréia está presente em 48% dos casos. Habitualmente não é volumosa, caracterizada por fezes pastosas, numa frequência de três a quatro evacuações por dia, o que facilita o diagnóstico diferencial com gastroenterites de outras causas.

Os casos oligossintomáticos, devido a sua manifestação clínica frustra, tornam difícil o diagnóstico diferencial com outras viroses endêmicas.

Nas últimas duas epidemias, em Pernambuco, têm-se observado casos confirmados por sorologia com apresentação atípica, como a presença de rash cutâneo como único sintoma (BRITO 2003).

Fenômenos hemorrágicos podem estar presentes na dengue clássica e esta alteração isoladamente não deve ser confundida com FHD. Em uma análise de

casos da epidemia ocorrida em 1996, em Porto Rico, foi detectada plaquetopenia inferior a 100.000 em 34% dos casos (SINNIAH; IGARASHI, 1995).

A principal manifestação hemorrágica é uma prova do laço positiva, porém outros sangramentos espontâneos podem estar presentes. Dos 18.818 casos de dengue clássica em nosso estado em 1997, além de prova do laço positiva, 7,9% apresentaram petéquias, epistaxe em 1% e alguns casos de gengivorragia (BRITO; BRITO; GOMES, 2004).

A FHD tem o início da sintomatologia semelhante à dengue clássica evoluindo com deterioração do quadro a partir do 5º dia de doença, habitualmente após melhora clínica e desaparecimento da febre.

Baseado na fisiopatologia os critérios para o diagnóstico de FHD segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) são:

1-Febre ou história de febre nos últimos sete dias;

2-Plaquetopenia inferior a 100.000/mm³;

3-Manifestação hemorrágica;

4-Alterações de permeabilidade capilar, representado por hemoconcentração, que corresponde a um aumento relativo do hematócrito de 20% ou presença de derrame cavitário ou hipoproteinemia/hipoalbuminemia (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1997).

Dos 91 pacientes com diagnóstico de FHD avaliados entre 1996 a 1999, a manifestação hemorrágica predominante foi a prova do laço positiva e petéquias espontâneas em 82% dos casos, epistaxe ou gengivorragia estiveram presentes isoladamente ou associado a petéquias em 18% dos casos (BRITO 2003).

Em um estudo com 306 crianças menores de 15 anos na Indonésia com FHD a prova do laço foi positiva em 78,1% dos pacientes, enquanto outras formas de sangramento como petéquias, estiveram presentes em 29,7% e epistaxe em 39,7% isoladamente ou em associação com a prova do laço positiva (CHAIRULFATAH et al., 1995).

A OMS dividiu ainda os casos em grupos de acordo com a gravidade (WHO 1997). Após preencher os quatro critérios de FHD o caso pode ser classificado em:

Grau I. Apenas prova do laço positiva como manifestação hemorrágica.

Grau II. Hemorragias espontâneas.

Grau III. Hipotensão, hipovolemia.

Grau IV. Choque profundo.

Os graus III e IV são denominados como síndrome do choque da dengue

Não há exames específicos para o diagnóstico da febre hemorrágica da dengue (FHD), sendo o seu diagnóstico, baseado em critérios clínicos laboratoriais. Tem-se estabelecidos valores para níveis de plaquetas, hemoconcentração para classificar os casos como sendo FHD (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1997).

Dos quatro critérios da OMS, três deles (clínica compatível com dengue, contagem de plaquetas inferior a 100.000 e alguma manifestação hemorrágica) podem estar presentes na dengue clássica, porém a presença de alteração de permeabilidade capilar caracteriza e diferencia a FHD, o que reforça a fisiopatologia da resposta imune secundária exacerbada da FHD.

A presença de alteração de permeabilidade capilar pode ser detectada por hemoconcentração maior ou igual a 20%, derrame cavitário ou albumina baixa, entretanto na prática clínica, apenas hemoconcentração tem sido rotineiramente utilizado. Algumas observações têm levantado discussões sobre tais critérios indicando a possibilidade de redefinição de casos (PHUONG; NHAN; KNEEN, 2004; RIGAU-PEREZ; BONILLA, 1999).

A proporção de casos de DC em relação a FHD relatada nas diferentes casuísticas da literatura, tem demonstrado resultados bastante diferentes. No Brasil durante a epidemia de 2002, foram notificados 794.219 casos de dengue com 2.714 casos de FHD (relação FHD:DC de 1:292) (SIQUEIRA JÚNIOR et al., 2005). No Rio de Janeiro ocorreram 150.547 casos de dengue e 786 de FHD (relação de 1:191). A proporção de formas hemorrágicas variou entre diferentes cidades do Nordeste. Em Recife ocorreram 43.361 casos de DC e 304 de FHD (relação de 1:142), e em Fortaleza, 5.226 casos, com 62 casos de FHD (relação de 1:84) (BRASIL, 2007). Estes resultados podem representar diferenças quanto a virulência entre as cepas, ou dificuldade na definição de casos e preenchimento dos critérios da OMS quando se utiliza apenas hemoconcentração maior ou igual a 20% como marcador de alterações do endotélio capilar.

Rigau-Perez e Bonilla (1999) investigaram uma possível modificação no ponto de corte do nível de hemoconcentração em 915 pacientes, sendo 818 definidos como DC e 97 FHD. Considerando um ponto de corte de 10% ou mais na hemoconcentração, foi possível re-classificar 192 casos como FHD, praticamente dobrando o número de casos iniciais. Por outro lado, os autores não utilizaram outros métodos de diagnóstico, como USG e a dosagem da albumina sérica,

capazes de confirmar as alterações de permeabilidade capilar nos 95 casos novos de FHD após mudança do ponto de corte (RIGAU-PEREZ; BONILLA, 1999). Portanto mudanças, no ponto de corte de hemoconcentração, necessitam ser validadas.

Tem sido sugerido que hemoconcentração isoladamente parece não ser apropriada para definição de alterações da permeabilidade capilar, pois pode ocorrer durante a desidratação em consequência dos vômitos, hipertermia ou inadequada reposição de fluidos, características clínicas presentes na FHD. Neste contexto, as presenças de derrame cavitário e hipoproteinemia, poderiam apresentar uma maior especificidade para estas alterações de endotélio capilar.

É possível também que hemoconcentração maior ou igual a 20%, padrão utilizado pela OMS, ocorra nos casos mais graves da doença. Porém nos casos de FHD as formas de apresentação mais comuns são os graus leves, I e II da doença (SINNIAH; IGARASHI, 1995).

Kalayanarroj, Vaughn e Nimmannitya (1997) detectaram hemoconcentração maior ou igual a 20% em apenas 48% (12/ 25) dos pacientes classificados como FHD, dos quais 78% deles estavam classificados nos graus I e II. O autor observou nestes casos as alterações de permeabilidade capilar através da presença de derrame pleural, por meio da utilização do Raio X em decúbito lateral direito, enquanto a presença de ascite foi identificada durante o exame clínico em 84% dos casos.

Dificuldade em classificar os pacientes como FHD utilizando-se o atual ponto de corte para hemoconcentração, tem sido relatado em algumas casuísticas, mesmos na formas graves da doença. Um estudo realizado no Vietnã, relatou que 20 de 310 casos (6%) com síndrome do choque da dengue, falharam em preencher o quarto critério para classificação de FHD, utilizando apenas hemoconcentração. Os autores utilizaram o diagnóstico provisório para FHD descrito no *guidelines* da OMS como critério modificado e utilizaram os mesmo para classificar os casos como sendo FHD. Esta conduta levou a definição de 168 novos casos de FHD previamente classificados como DC, superestimando os casos de FHD (PHUONG; NHAN; KNEEN, 2004). De fato, a OMS não propôs uma modificação dos critérios de diagnóstico no seu *guideline*. Apenas foram incluídos alguns critérios como indicadores de alerta, ou seja, os pacientes que apresentassem essas manifestações, necessitariam de uma maior observação, pois poderiam evoluir para

FHD, definindo apenas um diagnóstico provisório, não tendo a intenção de substituir a classificação tradicional de FHD (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1997).

Em uma análise dos óbitos por dengue em Recife, Nordeste do Brasil em 2002, Montenegro D e outros (2006) relataram que dos 14 casos apenas cinco (36%) preencheram todos os critérios da OMS para FHD. Hemoconcentração maior ou igual a 20% acima dos valores normais para idade e sexo foi positivo em seis de 13 pacientes que realizaram dosagem do hematócrito seriado. Se tivesse sido utilizado rigorosamente os critérios da OMS a maioria dos pacientes que foram a óbitos seriam casos de dengue clássica complicada. Os pacientes evoluíram com quadros compatíveis com FHD, pois apresentaram hipotensão e choque decorrente de alterações de permeabilidade capilar, alguns com manifestações hemorrágicas, responsáveis pelo agravamento do quadro (MONTENEGRO et al., 2006).

Um outro estudo de Casali e outros (2004) em epidemia no Rio de Janeiro, Brasil, dos 54 óbitos confirmados como dengue, 23 (42%) foram classificados como dengue clássica, reforçando a dificuldade existente, para mesmo em doença grave, preencher os rígidos critérios da OMS.

É importante considerar que tais resultados podem ser decorrentes em parte, da metodologia dos dois estudos que utilizaram uma análise retrospectiva, a partir de fichas de sistemas oficiais de notificação de casos. Este tipo de análise está sujeito em nossa região, a vícios de classificação, decorrente frequentemente da escassez de informações clínicas e laboratoriais nas fichas de notificação, impedindo a correta classificação dos mesmos. Além disso, podem também representar a dificuldade na realização de exames seriados em algumas unidades de saúde.

Um outro fator limitante quando se utiliza a hemoconcentração, além da dificuldade de se preencher um ponto de corte superior a 20%, é que só se consegue confirmar este limite tardiamente, pela observação da evolução do paciente, pois habitualmente se desconhece o valor de hematócrito basal, que será definido muitas vezes no momento da alta, quando superada a hemoconcentração.

Em muitas regiões do mundo se desconhece a média de hematócrito de sua população, como é o caso do Brasil, um país com extenso território e regiões com diferentes realidades sócio-econômicas.

No Brasil alguns estudos têm utilizado diferentes parâmetros de média populacional de hematócrito para o cálculo da hemoconcentração. Zagne e outros

em 1994 no Rio de Janeiro, considerou como critério de hemoconcentração um hematócrito acima de 45%. Mais recentemente o Ministério da Saúde (MS) do Brasil sugeriu em algoritmo de condutas, aplicado para todo o país, que na ausência de exames seriados ou do valor basal de hematócrito do paciente, deva ser considerado aumento acima de 10%, se o hematócrito for superior a 42%, 45% e 50% para crianças, mulheres e homens respectivamente (BRASIL, 2005a). Porém, não dispomos de estudos populacionais que nos permitam conhecer a média de hematócrito em nossa região.

Uma análise recente de 35 casos na Índia, detectou hemoconcentração acima de 20% em 20 pacientes (57,14%), com a presença de derrame cavitário detectado em 32 (91,4%), sugerindo que o ponto de corte de 20% necessita ser validado (BALASUBRAMANIAN et al., 2006). Utilizando hemoconcentração baseado na média populacional, os resultados aumentaram para 91,4%, porém ressaltando o fato de que o parâmetro utilizado para se definir esta média, foi obtido a partir de uma amostra de pacientes submetidos a cirurgias eletivas, o que limita a sua extrapolação para a população geral (BALASUBRAMANIAN et al., 2004).

Portanto, a utilização de parâmetros aleatórios ou baseados em estudos de grupos populacionais específicos, para definir média de hematócrito populacional é inadequada, correndo o risco de vícios de classificação.

Brito C e outros estudaram 14 casos de FHD, que foram avaliados para os diferentes critérios relacionados à alteração de permeabilidade capilar. A utilização de apenas hemoconcentração identificou 64% dos casos o que poderia ter levado a sub-notificação. Ao incluir dosagem sérica de albumina e realização de US foi observado aumento na sensibilidade de detecção dos casos. Hipoalbuminemia foi detectada em 10 pacientes (71%) e derrame cavitário visualizado por US em 09 casos (64%). Portanto, a utilização de dosagem sérica de albumina e US sensibilizou a detecção de alterações de permeabilidade capilar, permitindo a notificação de mais cinco casos como FHD (BRITO et al., 2007).

Faz-se necessário portanto, novos estudos com o objetivo de discutir os critérios utilizados pela OMS, principalmente redefinindo o ponto de corte utilizado para hemoconcentração, validando-o com os outros métodos de diagnósticos como a US, que apesar de ter custo elevado, é não invasivo ou utilizar dosagem sérica de proteína/albumina que são fáceis de realizar, apresentam baixo custo e poderá servir como marcador mais precoce de casos de FHD.

A definição adequada de casos de FHD, permitirá uma avaliação melhor da doença, tanto do ponto de vista clínico, como de saúde pública. Contribuirá para estabelecer o real impacto desta forma da doença para a população, além de permitir a comparação, de forma fidedigna, de dados provenientes de diferentes regiões do mundo.

1.4.1 Manifestações clínicas incomuns

As manifestações clínicas incomuns incluem: miocardite, insuficiência hepática, síndrome de Reye (associada com o uso de medicações contendo AAS) e síndrome da angústia respiratória aguda (SARA).

Dentre as manifestações incomuns a que atualmente vem despertando especial interesse e preocupação são os quadros neurológicos, o número destes casos vem crescendo nas Américas, principalmente no Brasil.

Relatos de casos têm sido descritos no mundo na década de 70 em áreas endêmicas de dengue, relacionados inicialmente aos casos de FHD. Nimmannitya, Thisyakorn e Hemsrichart (1987) entre 1972 e 1981 estudaram 18 casos de crianças com FHD associado a sintomas neurológicos de convulsão e alterações de nível de consciência, dentre os quais, 10 pacientes evoluíram para o óbito. Oito pacientes tinham FHD grau IV, sete grau III, e um paciente grau II. O liquor cefalorraquidiano (LCR) realizados em cinco pacientes foram normais. A análise atribuiu os sintomas neurológicos a edema, hemorragia, hiponatremia e insuficiência hepática, portando decorrentes de uma encefalopatia e não de uma encefalite.

Este ponto de vista tem sido defendido por outros autores como Cam e outros (2001) que estudaram 5.400 casos de crianças com FHD durante dois anos e identificaram acometimento neurológico em 27 pacientes (0,5%), sendo que 33% com FHD grau II, 52% grau III e 15% grau IV. Os inícios dos sintomas neurológicos surgiram em média no sexto dia de doença. Vinte e seis pacientes estavam em coma, destes, 21 apresentaram convulsão e um hemiplegia. Ressonâncias magnéticas foram realizadas em 18 pacientes, onde 04 foram normais, e a maioria deles (12 casos) tinham edema cerebral sugerindo o autor encefalopatia como principal mecanismo, associado a disfunção hepática. Dois apresentaram

anormalidades semelhantes à encefalite com edema e lesões focais dispersas (CAM et al., 2001)

A letalidade foi de 22% e recuperação ocorreu no máximo, dentro de sete dias. Detecção de IgM no LCR em 14 (64%) de 22 pacientes, sem diferenças na apresentação clínica, nos achados de ressonância, nos exames laboratoriais e na evolução. Realizado PCR cujo resultado foi positivo para Dengue 3 em um paciente. O autor em virtude dos achados de ressonância nuclear magnética (RNM) considerou a encefalopatia como principal mecanismo e encefalite como condição rara. O achado de IgM positiva foi sugerido como evidência de replicação viral em SNC, porém o autor levanta dúvidas quanto ao efeito citopático do mesmo em sistema nervoso central (SNC) como principal causa dos sintomas neurológicos (CAM et al 2001).

A “encefalopatia” como único ou principal mecanismo responsável pelos quadros neurológicos começou a ser questionada a partir do aumento de relatos de casos em pacientes com formas leves da FHD ou nos quadros de dengue clássica.

Na Tailândia entre 1996 e 1998, de 44 crianças admitidas em uma unidade hospitalar com quadro de encefalite viral agudo, oito (18%) tinham PCR ou isolamento viral foram positivos para dengue, e foram caracterizadas como FHD, sendo um Grau I, seis grau II, e um grau III. O quadro clínico era indistinguível de outras etiologias, predominando alterações do nível de consciência. Papiledema, convulsão, paralisia de nervo facial e meningismo, foram apresentações incomuns. Alterações de função hepática ocorreram, porém de pequena monta e sete (87,5%) tinham LCR normal. Tomografia computadorizada (TC) mostrou anormalidades em dois pacientes e demonstrou edema cerebral (KANKIRAWATANA et al., 2000).

O estudo reforça o efeito citopático direto do vírus, reforçado pelo acometimento precoce do SNC, coincidindo com o período de viremia e pelo fato dos pacientes apresentarem quadros leves de FHD, sem evidências de disfunção hepática, colapso circulatório, hipóxia ou distúrbio metabólico que leva-se secundariamente a encefalopatia (KANKIRAWATANA et al., 2000).

Pancharoen, Thisyakorn e Nisalak (2000) estudaram 1493 crianças com dengue na Tailândia detectou manifestações neurológicas em 80 (5,4%), destes 20 casos apresentavam dengue clássica, 26 casos com FHD e 34 com síndrome do choque da dengue (8). Apesar dos casos descritos na forma clássica da doença os autores não levantam a discussão de mecanismos patogênicos e apenas classificam

os pacientes em grupos. Eles foram classificados em pacientes com encefalopatia (42), um grupo com crises convulsivas (35) e 03 do grupo miscelâneas. No grupo com encefalopatia as principais manifestações foram: alteração de consciência (83,3%), convulsão (45,2%), confusão mental (23,8%), rigidez de nuca (21,4%), espasticidade de membros (9,5%), *clonus* positivo (4,8%), hemiplegia (2,4%), positividade da manobra de Kernig em (2,4%).

São poucos os estudos de necropsia em SNC, alguns deles têm identificado a presença do vírus em tecido e demonstrado uma resposta inflamatória local. Chimelli e outros (1990), relataram um caso de um paciente brasileiro falecido por choque que apresentava quadro neurológico concomitante. O estudo de necropsia evidenciou infiltrado linfocítico com vários focos de desmielinização perivascular intensa, sugerindo que uma leucoencefalite perivascular seria o substrato morfológico dos casos de acometimento neurológico na dengue.

Ainda no Brasil uma avaliação pós-morte publicada por Nogueira, Filippis e Coelho (1997), utilizando imunoperoxidase, detectaram a presença de reação antígeno específico para dengue em células de substância cinzenta da cortical cerebral e uma reação citoplasmática e granulocítica foi identificado em neurônios com reação de PCR positiva para DEN-2, reforçando a hipótese de que há invasão do vírus em SNC e um efeito citopático direto. Níveis de IgG sérico acima de 1/640 sugeriu infecção secundária.

Estudo envolvendo imunohistoquímica de Miagostovich e outros (1997) demonstraram infiltração de macrófagos CD68, sugerindo que macrófagos infectados pelos vírus pode ser um dos mecanismos de entrada do mesmo no cérebro.

Poderiam surgir argumentos contrários à hipótese de lesão direta a partir destes achados de necropsia, decorrente do fato que tais achados de atividade inflamatória em tecido neural, poderiam representar apenas uma reação imune inata na presença do antígeno viral, insuficiente para causar dano estrutural-funcional.

Encefalomielite disseminada aguda (ADEM) é uma manifestação neurológica incomum envolvendo nervos periféricos que podem também estar associado à Dengue. Dois recentes relatos de casos de dengue sugerem esta associação, mas não mostrou evidências clínicas e laboratoriais capazes de dar suporte a um efeito citopático do vírus sobre o SNC (FERREIRA et al., 2005; YAMAMOTO et al., 2002).

Yamamoto e outros (2002) relataram um caso de ADEM em um paciente japonês após infecção por dengue durante estadia no Brasil, que apresentou quadro de paraplegia (ao nível de T7) e distúrbios visuais. A ressonância magnética (RNM) mostrou múltiplas lesões de alta intensidade entre T7 e T11, sem nenhuma anormalidade no cérebro. Na evolução clínica houve melhora do quadro neurológico e desaparecimento das imagens na RNM semanas após iniciado a pulsoterapia com metilprednisolona (13). O paciente apresentava importante plaquetopenia (50.000/ μ l) e disfunção hepática podendo estar associado a “encefalopatia da dengue” (YAMAMOTO et al., 2002).

Quarenta e um casos de dengue em pacientes brasileiros com manifestações neurológicas foram classificados como encefalites (22), doença de nervos periféricos (14), mielite transversa (2) e ADEM (1). Não houve nenhum isolamento no liquor, nem alterações na RNM no caso de ADEM. Não houve informação sobre a forma clínica da dengue, contagem de plaquetas ou disfunção hepática que pudesse ajudar a esclarecer a discussão sobre a gênese das manifestações neurológicas (FERREIRA et al., 2005).

Os relatos de casos com acometimento neurológico na dengue e o seu isolamento em SNC vem sendo descrito mais especificamente em algumas regiões do mundo, como no sudoeste da Ásia (LUM et al., 1996; SREY et al., 2002) e no Brasil (CHIMELLI, L 1990; NOGUEIRA; FILIPPIS; COELHO, 2002). No Brasil vem também surgindo um aumento de relato de casos com manifestações neurológicas incomuns (LEAO et al., 2002; MIAGOSTOVICH et al., 1997; SANTOS; AZOUBEL; LOPES, 2004). Uma hipótese é que existam cepas com tropismo pelo SNC. Fong e Lam (2001) estudaram a seqüência de aminoácidos da proteína do envelope viral, que está associado a virulência e indução de resposta imune, de quatro cepas de pacientes com manifestação neurológica ocorridas entre 1991 a 1994 e comparou com cepas de pacientes sem acometimento neurológico ocorridos 10 a 15 anos antes e identificou uma diferença em nove aminoácidos (FONG; LAM, 2001).

Porém em recente publicação o autor comparou com cepas não associadas à manifestação neurológicas circulantes no mesmo período e oito dos nove aminoácidos considerados associado a neurovirulência estavam também presentes nestas cepas, sugerindo o autor novos estudos na tentativa de identificar mutações, em outras proteínas virais, capazes de sugerir neurovirulência (FONG; YUSUP; YUSOF, 2004).

Em regiões endêmicas para dengue, a infecção deve ser lembrada no diagnóstico diferencial dos quadros neurológicos com manifestações atípicas. Estudos avaliando a prevalência de dengue em pacientes com manifestação neurológica nestas regiões, poderão determinar o real impacto clínico epidemiológico.

Envolvimento hepático inclui a presença de hepatomegalia e elevação de enzimas hepáticas. Vários estudos têm demonstrado níveis elevados de aminotransferases que são mais altos em FHD/SCD tende a normalizar de 14 a 21 dias. Nimmannitya (1987) relatou 145 casos de FHD, destes 74% tinham ALT normais, 18% discreta elevação e 8% elevações significativas.

Kuo e outros (1992) detectaram elevação aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), bilirrubina, fosfatase alcalina e gama-glutamil transpeptidase (G-GT) em 93,3%, 82,2%, 7,2%, 16,3% e 83% dos pacientes, respectivamente. As elevações eram leves a moderadas na maioria dos casos, porém foi 10 vezes maior do que o limite superior de AST e ALT em 11,1% e 7,4% dos pacientes respectivamente.

Kalayanarooj, Vaughn e Nimmannitya (1997), em um estudo na Tailândia identificaram em 60 crianças com idade entre 6 meses a 14 anos elevação de transaminases em 29% dos pacientes com dengue clássica e 91% dos casos de FHD, houve predominância de elevação de aspartato aminotransferase (AST) sobre a alanina aminotransferase (ALT).

Casos de insuficiência hepática tendo sido relatado. Na epidemia da Tailândia em 1987 foram observados 18 casos de encefalopatia hepática entre 334 casos de FHD e em um estudo na Indonésia publicado em 1995, se relatou um caso de insuficiência hepática entre 306 casos de FHD (SINNIAH; IGARASHI, 1995). Nimmannitya (1987) avaliou 18 crianças com FHD, todas com elevação de enzimas hepáticas, 02 com valores superiores a 1000 U/ml, 10 delas tendo evoluído para o óbito.

A elevação de AST parece ser mais elevadas que de ALT, semelhante aos padrões de hepatite alcoólica e diferindo daquele observado em outras hepatites virais. Mudanças histológicas incluem: esteatose microvesicular, necrose hepatocelular, destruição e hiperplasia das células de Kupffer, corpos de *councilman* e infiltrado celular do trato portal (BHAMARAPRAVATI; TUCHIMIDA; BOONYPACKNAVIK, 1967; NIMMANNITYA, 1987).

Tem sido demonstrado que o vírus infectam os hepatócitos, podendo causar dano por ação direta ou por ação de citocinas. Elevações séricas de RANTES (Regulation upon Activation Normal T cell Expressed and Secreted) têm sido demonstrado estar associado a dano celular indireto (LEI et al., 2001; SENEVIRATNE; MALAVIGE; SILVA, 2006).

1.4.2 Prognóstico

A letalidade esperada é inferior a 1%. Na epidemia de Cuba em 1981 a letalidade foi de 0,046% e na epidemia 2001-2002 de 0,02% (MS 1996). Mesmo em algumas regiões da Ásia, com alta prevalência de FHD, incluindo as formas graves, a letalidade tem sido inferior a 1% (LAI et al., 2004; RAHMAN et al., 2002; WICHMANN et al., 2004).

No Brasil, a letalidade no período de 1998 a 2002 foi de 5,4% (SIQUEIRA JÚNIOR et al., 2005). No Ceará (1994) foi registrada a maior taxa de letalidade por FHD das Américas, com 12 óbitos entre 26 casos notificados (48%). Estes resultados podem ser justificados por uma sub-notificação dos casos leves (grau I e II), já que todos os casos foram classificados como III e IV elevando desta forma estes índices (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 1996).

Na recente epidemia de 2002, em Recife, Pernambuco, foram registrados 18 óbitos entre 208 casos de FHD, portanto uma letalidade de 5,2% (MONTENEGRO et al., 2006).

1.5 Diagnóstico laboratorial

As alterações mais freqüentes encontradas na série leucocitária é a presença de leucopenia com linfocitose e atipia celular. Podendo ocorrer em fase precoce leucocitose e neutrofilia, incluindo discreto desvio a esquerda.

Vários métodos têm sido utilizados para detecção de anticorpos do vírus da dengue incluindo inibição de hemaglutinação (HI), testes de neutralização, o teste

com anticorpos imunoflorescente (ELISA), fixação de complemento, *dotblotting*, *Westwrn blotting*. Entre estes os testes de ELISA e HI são os mais comumente utilizados para o diagnóstico sorológico da dengue (SHU; HUANG, 2004).

Os testes de HI têm sido utilizados para diferenciar infecção primária de infecção secundária. Na infecção primária os títulos de anticorpos tendem a se elevar lentamente, tornando-se indetectáveis antes de cinco dias de doença, na fase aguda.

A infecção secundária é caracterizada por rápido aumento e elevados títulos de anticorpos, com aumento de quatro vezes entre a fase aguda e fase de convalescença, com um pico de títulos maior ou igual a 1:2560 (KAO et al., 2005; SHU; HUANG, 2004).

Recentemente testes de ELISA têm sido utilizados em substituição a HI, por ser mais simples de realizar e diminuir problemas de reação cruzada com outros flavivirus. Em infecção primária, os anticorpos IgM surgem rapidamente e são detectáveis nos três a cinco primeiros dias de infecção, atingindo seu pico cerca de 2 semanas após infecção. Anticorpos anti-dengue, são produzidos transitoriamente, declinando para níveis indetectáveis dois a três meses após. Em infecção secundária a cinética é similar, porém os níveis de IgM são mas baixos. Neste tipo de infecção ao contrário das infecções primárias há um precoce surgimento de anticorpos cruzados IgG que surge antes ou simultaneamente com a resposta IgM. Innis e outros propuseram uma classificação baseada na razão entre níveis sérios de IgM e IgG, considerando infecção primária e secundária quando as razões fossem ≥ 1.2 e < 1.2 respectivamente (SHU; HUANG, 2004).

Um teste de captura ELISA imunocromatográfico para detectar IgM e IgG (PamBIO) mostrou excelente sensibilidade e especificidade para distinguir o tipo de infecção. Uma razão de absorvância para IgG maior ou igual a três e nenhuma IgM detectável, era considerada infecção secundária (KAO et al., 2005).

O Isolamento viral em cultura de células vem sendo substituído pelo RT-PCR, devido à baixa sensibilidade e o longo tempo necessário que é requerido na técnica quando utilizado imunofluorescência indireta.

No diagnóstico molecular é utilizado RT-PCR, existindo vários protocolos para identificação dos vírus, entre eles os de Lanciotti e outros (1992). Deve ser realizado até o 5° dia da doença, tem a finalidade de na vigência da epidemia identificar o

sorotipo responsável ou detectar a presença de novo sorotipo na região (LANCIOTTI et al., 1992; KAO et al., 2005).

1.5.1 Ultra-sonografia (US)

A US tem sido realizada com a finalidade de identificar a presença de líquido livre em cavidade ou derrame pleural, que corresponde a um dos quatro critérios necessários para definir o caso como FHD. É sugerido por alguns autores que sua realização pode prever de forma precoce a severidade da doença. A quantidade de líquido é de pequena monta depositado nas goteiras peri-hepáticas e fundo de saco posterior na pelve e permite definir mais precocemente o diagnóstico de FHD, já que a utilização do critério de hemoconcentração só será feita no momento da alta, quando se observará uma redução dos níveis do hematócrito.

Um achado também freqüente é a presença de espessamento da parede vesicular, que pode levar ao diagnóstico errôneo de colecistite alitiásica.

Vários estudos demonstram a alta prevalência destes achados nos pacientes com FHD. Setiawan e outros (1998) identificaram entre 148 crianças com faixa etária entre cinco meses e 14 anos a presença de derrame pleural (14% e 53% respectivamente) dos casos grau I e II de FHD e em 95% dos pacientes com grau III e IV. Ascite esteve presente em 23%, 50%, 95 e 90% dos pacientes com os graus I, II, III e IV respectivamente. Espessamento da parede vesicular maior que 3 mm esteve presente em 31% do grupo grau I-II e em 94,7% do grupo grau III-IV. Hepatomegalia foi identificada em 50 % e esplenomegalia em 16% dos casos (SETIAWAN et al., 1998).

1.6 Fatores de Risco associado às formas graves da doença

A proporção de casos de DC para FHD varia de 1:100 a 1:500. Vários fatores parecem determinar por que só uma parcela da população de infectados,

desenvolvem as formas graves da doença, como susceptibilidade genética do hospedeiro, fatores ligados à virulência do sorotipo ou carga viral.

Identificar quais os pacientes com risco de desenvolver a forma hemorrágica da dengue é um desafio. Há algumas tentativas baseadas em série de casos e experiência de especialistas, tentando nortear e alertar ao urgentista quais os pacientes com riscos de evoluir para a forma grave, através de critérios clínicos e laboratoriais, utilizando principalmente ferramentas disponíveis e acessível da prática clínica (BRASIL, 2005a; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1997).

A World Health Organization (1997) utilizou um diagnóstico provisório para FHD/SCD cujo objetivo é “ajudar os clínicos a estabelecer um diagnóstico precoce, idealmente antes do início do choque”. Os seguintes critérios clínicos são indicadores de FHD/SCD: febre alta de início agudo; manifestação hemorrágica (pelo menos um prova do laço positiva); hepatomegalia; choque. Os achados laboratoriais incluem: trombocitopenia (menor ou igual a 100.000 células/mm³); hemoconcentração de pelo menos 20%). As duas primeiras observações clínicas, mais um achado laboratorial, são suficientes para estabelecer o diagnóstico provisório de alerta para FHD/SCD.

Um “*guidelines*” produzido em Nova Deli, Ásia, pela OMS para tratamento da dengue e FHD em pequenos hospitais, considera como sinais de alerta: dor abdominal intensa; melena; vômitos persistentes; sangramento de pele, nariz ou gengiva; sudorese; pele fria e boca seca.

No Brasil, o manual para manejo clínico da dengue do MS (BRASIL, 2005a), considerou como sinais relacionados a risco de doença mais grave, a presença de dor abdominal intensa e contínua; vômitos persistentes; hipotensão postural; hipotensão arterial; hepatomegalia dolorosa; hemorragias importantes (Hematêmese e/ou melena); extremidades frias; cianose; pulso rápido e fino; letargia e/ou agitação; diminuição de diurese; aumento repentino do hematócrito e desconforto respiratório.

Apesar de algumas semelhanças, não há nos “*guidelines*” uma uniformidade na escolha dos chamados sinais de alerta, capazes de predizer os pacientes com risco de evoluírem para formas graves. A identificação de tais marcadores tem sido baseada a partir de diferentes fontes, principalmente de série de casos ou experiência dos especialistas.

Os estudos têm obtido diferentes resultados na identificação dos sinais de alerta. Em parte, isto pode ser decorrentes das diferentes metodologias utilizadas:

alguns estudos obtêm as informações apenas da observação de série de casos das formas graves; os casos controles utilizam grupos de comparação com perfis variáveis; algumas análises são retrospectivas e outras obtidas de fichas de sistemas oficiais de notificações de casos provenientes de diferentes hospitais em diferentes regiões do mundo.

As diferenças das populações estudadas também dificultam as comparações: há regiões onde predominam acometimento em faixa etária pediátrica; em outros difere a intensidade e freqüência de casos de FHD, bem como o sorotipo; alguns estudam pacientes internados, outros utilizam amostras de serviço de urgência e há poucas coortes prospectivas com metodologia homogênea que permita uma análise fidedigna.

Realizamos uma revisão da literatura de artigos que estudaram diferentes variáveis potencialmente associados a um maior risco de desenvolvimento de formas graves da doença que incluem: faixa etária, manifestações clínicas (sinais e sintomas), exames laboratoriais (Hematológicos e bioquímicos) e tipo de infecção.

1.6.1 Faixa etária.

O acometimento de dengue por faixa etária tem apresentado diferentes resultados dependendo da região estudada. Na Ásia predominam acometimento de faixa etária pediátrica, bem como as formas graves da doença (CARLOS et al., 2006; HAMMOND et al., 2005; SHAH; DESHPANDE; TARDEJA, 2004; WICHMANN et al., 2004).

Formas graves da doença têm sido freqüentemente descritas em crianças (CARLOS et al., 2006; SHAH; DESHPANDE; TARDEJA, 2004), mesmo em populações onde diferentes faixas etárias são acometidas (MALAVIGE et al., 2006; WICHMANN et al., 2004). No estudo de Malvigie e outros (2006), em epidemia por Dengue-3, 35% (30/86) dos pacientes desenvolveram choque quando comparado com 19% (14/75) dos adultos ($p < 0.001$), mostrando uma maior freqüência de formas graves entre crianças.

Porém, este padrão clínico-epidemiológico de dengue nas Américas tem tido comportamento diferente. Em Cuba na epidemia de 1981 pelo DEN-2 observou-se maior prevalência de infecção e formas graves em crianças, com mudança de padrão na epidemia 2001-2002 pelo DEN-3 onde apenas 12% dos casos

confirmados, na capital Havana, eram de pessoas com idade abaixo de 15 anos e todas as formas de FHD acometendo adultos (GUZMAN et al., 2006).

Este padrão de predomínio em adultos vem se repetindo nas Américas (CASALI et al., 2004; HARRIS et al., 2000). No Brasil em 1989 a entrada do DEN-2, em uma população com circulação prévia de DEN-1, diferente de Cuba, atingiu a faixa etária de adultos, o que pode ser justificado pela diferença das cepas circulantes nos dois países, *New Guinea* em Cuba e *Jamaica* no Brasil (PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION, 1992).

No Brasil têm circulado nos últimos 20 anos os sorotipo 1, 2 e 3. Entre 1986 a 2002 foram notificados 3.121.367 casos, com aumento significativo na recente epidemia de 2002, com aproximadamente 50% de todos os casos ocorrendo em adultos de 20 a 40 anos. Em 2001 a taxa de incidência de FHD foi de 2,9/100.000 habitantes (682 casos) e em 2002 de 12,9/100.000 habitantes (2.714 casos), neste período a média de idade entre estes casos era de 33 anos. O único estado que obteve diferentes resultados neste período foi o Amazonas, que registrou um maior acometimento de casos entre crianças com 30,9% (17/55) e 28,8% (15/52) dos casos de FHD atingindo os menores de 15 anos (SIQUEIRA JÚNIOR et al., 2005).

Portanto a faixa etária isoladamente não pode ser considerada um fator de risco associado a formas mais graves, apresentando variações entre diferentes regiões e em uma mesma região em diferentes epidemias.

Tipo de infecção. Classicamente é aceito que mais de 90% dos casos de FHD ocorrem após uma segunda infecção, desencadeando uma antibody-dependente enhancement (HALSTEAD, 1981), com diversos estudos identificando infecção secundária como um dos mais importantes fatores de risco associados ao desenvolvimento das formas graves (BURKE, 1988; KLIKIS et al., 1988; SANGKAWIBHA et al., 1984; VALDES et al., 1999). Sangkawibha e outros (1984) na Tailândia e Valdez (1999) em Cuba detectaram infecção secundária em 100% (22/22) e 98% (201/205) respectivamente dos casos de síndrome do choque da dengue (SCD), particularmente na Tailândia, após infecção pelo vírus 2.

Recentemente alguns estudos vêm relatando um maior número de casos de FHD em pacientes com infecção primária. Casos de FHD associado à infecção primária por DEN-3 tem sido descrito em 15 a 20% dos casos (ANANTAPREECHA et al., 2005; HARRIS et al., 2000; MURQUE et al., 1999). Murque e outros (1999)

detectaram entre pacientes com FHD infecção primária em 18% (6/33) e 6% (1/16) em duas sucessivas epidemias decorrentes de dengue 3 e 2 respectivamente.

No Brasil, um estudo de 37 óbitos em 2002, no estado do Rio de Janeiro, causado por DEN-3, detectou infecção primária em 20 casos (54,1%), infecção secundária em nove casos (24,3%) e oito (21,6%) foram classificados como inconclusivos. No México entre 1984 e 1993, os casos de FHD eram esporadicamente relatados, com relatos de apenas 26 casos. Em 1994 foram notificados 30 casos de FHD, porém em 2005 com a entrada do DEN-3, houve um grande aumento do número de casos, com descrição de 358 casos de FHD, cuja letalidade foi de 7,8% (BRISEÑO-GARCÍA et al., 1996).

Variações genóticas e diferenças estruturais pode ser uma explicação para as diferenças na patogenicidade (BRISEÑO-GARCÍA et al., 1996; LEITMEYER et al., 1999; WATTS et al., 1999).

Não há estudos que associe gravidade de doença e infecção secundária entre os casos de FHD. Um estudo de Wichmann e outros (2004), durante surto epidêmico, identificaram infecção primária em 18% de 219 casos de FHD, e não detectaram diferenças significativas da razão entre infecção secundária e primária entre os diferentes subgrupos de FHD (2.0:1.0 para DC, 6.9:1.0 para FHD grau I; 6.0:1.0 para grau II e 7.0:1.0 para SCD).

Apesar de os estudos mostrarem que há um maior risco de FHD após infecção secundária, começam a surgir na literatura casuísticas de formas graves surgindo após infecção primária, não explicada pela teoria clássica de Halstead. Os resultados indicam portanto, que o risco de desenvolver a forma grave, parece depender de outros fatores como a patogenicidade da cepa e do hospedeiro, devendo-se particularizar estes fatores de riscos em diferentes regiões do mundo.

1.6.2 Manifestações clínicas. Sinais de alerta

Entre os sinais de alerta associado ao maior risco de desenvolver FHD descritos nos *guidelines*, estão as presenças de vômitos, dor abdominal, hipotensão arterial, hepatomegalia dolorosa, presença de prova do laço positiva, hemorragias intensas (BRASIL, 2005a; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1997). Porém estes resultados nem sempre tem sido reproduzidos na literatura.

Em uma casuística hospitalar em Singapura entre adultos, a presença de confusão, ausência de rash, taquicardia, anormalidades da função hepática, creatinina, albumina e tempo de protrombina eram estatisticamente mais frequentes nos casos de óbito quando comparado com DC, mas após a análise multivariada, apenas taquicardia foi identificada como fator independentemente associado com mortalidade (ONG et al., 2006).

Em hospital da Sirilanka, Malavige e outros (2006), em 2004, estudaram 75 (69,4%) casos de FHD e compararam com 33 casos de DC, encontraram uma maior frequência de hemorragias, melena, derrame cavitário, hepatomegalia, hipotensão e choque entre os pacientes com FHD ($p < 0.05$). Dos casos de FHD, os graus I, II, III, IV estavam presentes em 33 (54,4%), 28 (37,4%), 10 (13,3) e quatro (5,3%) respectivamente. Observou-se um número maior de casos com doença mais intensa.

Um estudo de Casali e outros (2004), em epidemia no Rio de Janeiro, Brasil, encontraram uma diferença estatisticamente significativa na incidência de mialgia (OR 1,39), náuseas (OR 1,86), exantema (3,96), dor abdominal (OR 1,59), petéquias (OR 13,89) e epistaxe (OR 14,89) entre pacientes com FHD quando comparado com dengue clássica diferindo substancialmente dos dados encontrados na literatura. O estudo não classificou a FHD quanto à intensidade.

1.6.3 Prova do laço

Phuong, Nhan e Kneen (2004) obtiveram diferentes resultados estudando especificamente a validade de prova do laço, como fator de risco preditivo de FHD e encontraram para pacientes com dengue uma sensibilidade de 41% e especificidade de 94,4% quando comparados com casos de infecção sem dengue, com VPP e VPN de 98,3% e 17,3% respectivamente. Não houve diferenças entre FHD e dengue clássica.

1.6.4 Co-morbidades

Há poucos estudos tentando correlacionar presença de comorbidades com formas graves da dengue. O Ministério da Saúde em seu último manual, baseado na experiência de especialistas, alerta para um grupo de pacientes com maior risco,

associado à evolução desfavorável, necessitando de acompanhamento clínico diferenciado, que incluem os portadores de hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, asma brônquica, doenças hematológicas ou renais crônica, doença grave do sistema cardiovascular, doença ácido-péptica ou auto-imune.

A presença de comorbidade tem sido considerada por alguns autores como um fator de risco. Em Taiwan um estudo analisou 644 casos confirmados, com 95,5% de adultos, 412 com DC e 232 com FHD/SCD. A proporção de casos de FHD/SCD associados com Diabetes Mellitus (DM), Hipertensão arterial sistêmica (HAS), Insuficiência renal crônica (IR) e idade acima de 65 anos eram significativamente ($p < 0,05$) mais alto do que DC (16,8% x 7,6%; 28,9% x 16,3%; 6,6 x 1,0 %; 22% x 9,5% respectivamente (LEE et al., 2006).

1.6.5 Fatores de riscos entre adultos e crianças

No Brasil não há estudos comparando os fatores de risco entre diferentes faixas etárias e são poucos os artigos na literatura internacional. Whicmann e outros (2004), na Tailândia, analisaram 287 crianças e 60 adultos, sendo 170 (59%) e 49 (82%) delas com FHD respectivamente. Nenhuma diferença significativa foi observada entre os casos de FHD e DC tanto para adultos como para as crianças, exceto prova do laço positiva mais freqüente em FHD do que DC (76% x 58%, $p = 0,003$). Porém quando se compararam os casos de SCD ($n = 40$) com todos os outros sem choque ($n = 307$), houve uma maior freqüência ($p < 0,05$) de hepatomegalia, dor abdominal superior, elevação de transaminases e hemoconcentração. Neste estudo entre as crianças com FHD, grau I, II e SCD estavam presentes em 90 (53%), 48 (28%), 32 (19%) e entre os adultos em 13 (24%), 29 (59%), 08 (16%).

Torna-se claro que as observações encontradas na literatura na tentativa de identificar marcadores de gravidade que possam revelar precocemente quais os pacientes têm o maior risco de desenvolver doença grave ainda são conflitantes e apresentam limitações nos modelos de avaliação. Diferentes variáveis parecem influenciar nos resultados obtidos com a faixa etária, intensidade de FHD dos diferentes grupos utilizados na comparação, tipo de infecção, sorotipo, etc.

Um outro fator limitante para os fatores de riscos clínicos e laboratoriais utilizados atualmente é que muitos deles ocorrem tardiamente na evolução de uma doença aguda, muito próxima ao início das formas graves (FHD/SCD).

Desenhos de pesquisas adequados, poderão estabelecer fatores de risco para diferentes formas clínicas da doença (DC E FHD), identificando pacientes com risco potencial de complicações e de desenvolver a sua forma grave, na tentativa de minimizar a morbidade e a mortalidade dos acometidos pela enfermidade, podendo direcionar estratégias de suporte terapêutico precoce e adequado. Um maior conhecimento dos aspectos relacionados à fisiopatologia da doença, possibilitará ainda novas abordagens terapêuticas.

2 JUSTIFICATIVA

A dengue, uma infecção viral, re-emergiu nas últimas décadas acometendo milhões de pessoas anualmente e se tornou uma das doenças de maior importância social em todas as regiões tropicais e subtropicais do planeta, inclusive o Brasil, onde se observa um rápido crescimento do número de casos, aliado a um aumento da frequência da forma hemorrágica da doença que está associada a uma maior morbidade e letalidade.

A dengue e FHD têm acometido predominantemente crianças no Sudeste da Ásia e Oeste do Pacífico, sendo importante causa de óbito e diferindo do padrão das Américas que atinge principalmente adultos. Há poucos estudos de coorte prospectivas nestas regiões avaliando o padrão clínico da faixa etária pediátrica e comparando com o de adultos.

A literatura tem sugerido a utilização de diferentes marcadores clínicos e laboratoriais, capazes de nortear o médico e prever quais os pacientes com risco de desenvolver as formas graves da doença. Porém, os estudos têm utilizado diferentes metodologias, tornando difícil a comparação entre os diversos resultados, alguns introduzindo diferentes vieses. Além disso, diferenças populacionais e de sorotipos do vírus não permite a extrapolação de resultados de diferentes regiões do mundo para a nossa região.

Baseado no exposto, nos parece importante avaliar na nossa região, os atuais padrões clínico-epidemiológicos e laboratoriais da dengue entre adultos e crianças bem como identificar fatores de riscos associados com a forma grave da doença, utilizando um desenho de estudo capaz de obter resultados homogêneos.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Identificar padrões clínico-epidemiológicos e laboratoriais da dengue na nossa região e os fatores de riscos associados à forma grave da doença.

3.2 Objetivos específicos

1. Identificar padrões diferenciados de evolução clínica com relação a: sexo, idade, febre, rash, cefaléia, vômitos, dor abdominal, prova do laço, hemorragias. entre pacientes com Dengue Clássica e FHD;
2. Identificar padrões diferenciados de achados laboratoriais com relação à: hemoconcentração, leucopenia, plaquetopenia, elevação de transaminases, albumina, desde o diagnóstico até a convalescença entre pacientes com Dengue Clássica e FHD;
3. Correlacionar o tipo de infecção (Primária ou secundária) com a gravidade da doença;
4. Correlacionar as alterações bioquímicas, tipo infecção, com as diferentes manifestações clínicas entre pacientes com Dengue Clássica e FHD;
5. Comparar as diferentes variáveis clínico-laboratoriais entre as faixas etárias pediátricas e adultas.

REFERÊNCIAS

ANANTAPREECHA, S. et al. Serological and virological features of dengue fever and dengue haemorrhagic fever in Thailand from 1999 to 2002. *Epidemiology and Infection*, Cambridge, v. 133, p. 503-507, 2005.

BALASUBRAMANIAN, S. et al. Cut off hematocrit for hemoconcentration in dengue hemorrhagic fever. Research letters. *Journal of Tropical Pediatrics*, London, v. 50, p. 123-124, 2004.

BALASUBRAMANIAN, S. et al. A reappraisal of criteria to the diagnose plasma leakage in dengue hemorrhagic fever. *Indian Pediatrics*, New Delhi, v. 43, p. 334-339, 2006.

BALUNA, R.; VITETTA, E. S. Vacular leak syndrome: a side effect of immunotherapy. *Immunopharmacology*, Amsterdam, v. 37, p. 117-132, 1997.

BETHELL, B. D. et al. Pathophysiologic and prognostic role of cytokines in Dengue hemorrhagic fever. *Journal of Infectious Disease*, Chicago, v. 177, p. 778-782, 1998.

BHAMARAPRAVATI, N.; TUCHIMIDA, P.; BOONYPACKNAVIK, V. Pathology of Thailand and hemorrhagic fever: a study of 100 cases autopsy. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, Liverpool, v. 61, p. 500-510, 1967.

BOONPUCKNAVIG, S. et al. Demonstration of Dengue antibody complexes on the surface of platelets from patients with Dengue Haemorrhagic Fever. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Baltimore, v. 28, p. 881-884, 1979.

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. *Dengue: diagnóstico e manejo clínico*. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. *Dengue: roteiro para capacitação de profissionais médicos no diagnóstico e tratamento de Dengue*. 2. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Informática do SUS. *Dengue - Notificações registradas no Sistema de Informação de Agravos de Notificação – Sinan*. Disponível em: <<http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/dh?sinan/dengue/bases/denguebr.def>>. Acesso em: 20 jan. 2007.

BRISEÑO-GARCÍA, B. et al. Potential risk for dengue hemorrhagic fever: the isolation of serotype Dengue-3 in Mexico. *Emerging Infectious Diseases*, Atlanta, GA, v. 2, p. 133-135, 1996.

BRITO, C.; BRITO, R. M.; GOMES, R. F. Dengue e febre hemorrágica da dengue. In: FILGUEIRA, N. A. et al. *Condutas em clínica médica*. 3. ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2004. p. 610-614.

BRITO, C. et al. Evidência de alterações de permeabilidade vascular na dengue: quando a dosagem de albumina sérica define o quadro? *Revista Brasileira de Medicina Tropical*, Brasília, v. 40, mar./abr. 2007. No prelo.

BURKE, D. S. et al. A prospective study of dengue infections in Bangkok. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Baltimore, v. 38, n. 1, p. 172-180, Jan. 1988.

BUSTOS, J. et al. Serologically proven acute rubella infection in patients with clinical diagnosis of dengue. *Epidemiology and Infection*, Cambridge, v. 104, p. 297-302, 1990.

CAM, B. V. et al. Prospective Case-Control Study of Encephalopathy in Children with Dengue Hemorrhagic Fever. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Baltimore, v. 66, n. 5, p. 848-851, 2001.

CARLOS, C. C. et al. Comparison of clinical features and hematologic abnormalities between dengue fever and dengue hemorrhagic fever among children in the Philippines. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Baltimore, v. 73, p. 435-440, 2005.

CASALI, C. G. et al. The epidemic of dengue and hemorrhagic dengue fever in the city of Rio de Janeiro, 2001/2002. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, Brasília, v. 37, p. 296-299, 2004.

CHAIRULFATAH, A. et al. Clinical Manifestations of Hemorrhagic Fever in Bandung, Indonésia. *Annales de la Societe Belge de Medecine Tropical*, Bruxelles, v. 75, p. 292-296, 1995.

CHIMELLI, L. et al. Dengue: neuropathological findings in 5 fatal cases from Brazil. *Clinical Neuropathology*, Munich, v. 9, p. 157-162, 1990.

CHYE, J. K. et al. Vertical transmission of dengue. *Clinical Infectious Diseases*, Chicago, v. 25, p. 1374-1377, 1997.

FERREIRA, L. M. B. et al. Neurological manifestation of dengue: study of 41 cases. *Arquivos de Neuro-Psiquiatria*, São Paulo, v. 63, p. 488-493, 2005.

FIGUEIREDO, L. T. M.; CARLUCCI, R. H.; DUARTE, G. Estudo prospectivo com lactentes cujas mães tiveram Dengue durante a gravidez. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, São Paulo, v. 36, p. 417-421, 1994.

FONG, M. Y.; YUSUP, R.; YUSOF, R. Neurovirulence of four encephalitogenic dengue 3 virus strains isolated in Malaysia (1992—1994) is not attributed to their envelope protein. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, London, v. 98, p. 379-381, 2004.

FONG, M. Y.; LAM, S. K. Sequence analysis of the envelope protein gene of dengue 3 viruses isolated from patients with dengue encephalitis. *Biomedical Research*, Tokyo, v. 12, p. 197-202, 2001.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (Brasil). *Dengue: diagnóstico e manejo clínico*. Brasília, 2002b

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (Brasil). *Manual de Dengue: vigilância epidemiológica e atenção ao doente*. 2. ed. Brasília, 1996.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (Brasil). *Programa nacional de controle da dengue*. Brasília, 2002a.

GREEN, S.; ROTHMAN, A. Immunopathological mechanisms in dengue hemorrhagic fever. *Current Opinion in Infectious Diseases*, London, v. 19, p. 429-436, 2006.

GREEN, S. et al. Early immune activation in acute dengue is related to development of plasma leakage and disease severity. *Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v. 179, p. 755-762, 1999.

GUBLER, D. J.; TRENT, D. W. Emergence of epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health problem in the Americas. *Infectious Agents and Disease*, New York, v. 2, p. 383-393, 1993.

GUZMAN, M. G.; KOURI, G. Dengue and dengue hemorrhagic fever in the Americas: lessons and challenges. *Journal of Clinical Virology*, Amsterdam, v. 27, p. 1-13, 2003.

GUZMAN, M. G. et al. Grupo Multidisciplinario para el Control de la Epidemia de Dengue 2001-2002. Final characterization of and lessons learned from the dengue 3 epidemic in Cuba, 2001-2002. *Revista Panamericana de Salud Publica*, Washington, v. 19, n. 4, p. 282-289, apr. 2006.

HALSTEAD, S. B. The pathogenesis of dengue. Molecular epidemiology in infectious disease. *American Journal of Epidemiology*, Baltimore, v. 114, n. 5, p. 632-648, 1981.

HALSTEAD, S. B. Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. *Science*, Washington, v. 239, p. 476-481, 1998.

HAMMOND, S. N. et al. Differences in dengue severity in infants, children, and adults in a 3-year hospital-based study in Nicaragua. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Baltimore, v. 73, n. 6, p. 1063-1070, Dec. 2005.

HARRIS, E. et al. Clinical, epidemiologic, and virologic features of dengue in the 1998 epidemic in Nicaragua. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Baltimore, v. 63, n. 1/2, p. 5-11, Jul./Aug. 2000.

HUNG, T. N. et al. Dengue hemorrhagic Fever in Infants: a study of clinical and cytokine profiles. *Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v. 189, p. 221-232, 2004.

KALAYNARROOJ, S.; VAUGHN, D. W.; NIMMANNITYA, S. Early clinical and laboratory indicators of acute dengue illness. *Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v. 176, p. 313-321, 1997.

KANKIRAWATANA, P. et al. Dengue infection presenting with central nervous system manifestation. *Journal of Child Neurology*, Littleton, v. 15, n. 8, p. 544-547, 2000.

KAO, C. L. et al. Laboratory diagnosis of dengue infection: current and future perspectives in clinical diagnosis and public health. *Journal Microbiology, Immunology, and Infection*, Taiwan, v. 38, p. 5-16, 2005.

KRISHNAMURTI, C. et al. Mechanisms of hemorrhage in dengue without circulatory collapse. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Baltimore, v. 65, p. 840-847, 2001.

KLIKS, S. C. et al. Evidence that maternal dengue antibodies are important in the development of dengue hemorrhagic fever in infants. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Baltimore, v. 38, p. 411-419, 1988.

KORAKA, P. et al. Kinetics of dengue virus-specific serum immunoglobulin classes and subclasses correlate with clinical outcome of infection. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 39, p. 4332-4338, 2001.

KUO, C-H. et al. Liver biochemical and Dengue Fever. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Baltimore, v. 47, p. 265-270, 1992.

KURANE, I. et al. Activation of the lymphocytes in dengue virus infections. High levels of soluble interleukin 2 receptor, soluble CD4, soluble CD8, interleukin 2, and interferon-gamma in sera of children with dengue. *Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v. 88, p. 1473-1448, 1991.

LaFLEUR, C. et al. HLA-DR antigen frequencies in Mexican patients with dengue virus infection: HLA-DR4 as a possible genetic resistance factor for dengue hemorrhagic fever. *Human Immunology*, New York, v. 63, n. 11, p. 1039, 2002.

LAI, P. C. et al. Characteristics of a dengue hemorrhagic fever outbreak in 2001 in Kaohsiung. *Journal Microbiology, Immunology, and Infection*, Taiwan, v. 37, n. 5, p. 266-270, Oct. 2004.

LANCIOTTI, R. S. et al. Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 30, p. 545-551, 1992.

LANCIOTTI, R. S. et al. Molecular evolution and epidemiology of dengue-3 viruses. *Journal of General Virology*, London, v. 75, p. 65-75, 1994.

LEAO, R. N. et al. Isolation of dengue 2 virus from a patient with central nervous system involvement. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, Brasília, v. 35, p. 401-404, 2002.

LEE, M. S. et al. Clinical characteristics of dengue and dengue hemorrhagic fever in a medical center of southern Taiwan during the 2002 epidemic. *Journal Microbiology, Immunology, and Infection*, Taiwan, v. 39, n. 2, p. 121-129, Apr. 2006.

LEI, H. Y. et al. Immunopathogenesis of dengue virus infection. *Journal Biomedical Science*, Basel, v. 8, n. 5, p. 377-388, 2001.

LEITMEYER, K. C. et al. Dengue virus structural differences that correlate with pathogenesis. *Journal of Virology*, Washington, v. 73, p. 4738-4747, 1999.

LIBRATY, D. H. et al. Differing influences of virus burden and immune activation on disease severity in secondary Dengue-3 virus infections. *Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v. 185, p. 1213-1221, 2002.

LIN, C. F. et al. Generation of IgM anti-platelet autoantibody in Dengue patients. *Journal of Medical Virology*, New York, v. 63, p. 143-149, 2001.

LOKE, H. et al. Strong HLA class I-restricted T cell responses in dengue hemorrhagic fever: a double-edged sword? *Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v. 184, p. 1369-1373, 2001.

LUM, L. C. et al. Dengue encephalitis: a true entity? *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Baltimore, v. 54, p. 256-259, 1996.

MALAVIGE, G. N. et al. Patterns of disease among adults hospitalized with dengue infections. *QJM*, Oxford, v. 99, p. 299-305, 2006.

MIAGOSTOVICH, M. P. et al. Retrospective study on dengue fatal cases. *Clinical Neuropathology*, Munich, v. 16, p. 204-208, 1997.

MIAGOSTOVICH, M. P. et al. Complete genetic characterization of a Brazilian dengue type 3 strain isolation from a fatal outcome. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 101, p. 307-313, 2006.

MITRAKUL, C. et al. Hemostatic and platelet kinetic studies in Dengue Haemorrhagic Fever. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Baltimore, v. 26, p. 975-984, 1977.

MONTENEGRO, D. et al. Aspectos clínicos e epidemiológicos da epidemia de dengue no Recife, PE, em 2002. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, Brasília, v. 39, p. 9-13, 2006.

MORENO-ALTAMIRANO, M. M. et al. Gene expression in human macrophages infected with Dengue Virus serotype-2. *Scandinavian Journal of Immunology*, Oslo, v. 60, p. 631-638, 2004.

MURQUE, B. et al. Dengue: an evaluation of dengue severity in French Polynesia based on analysis of 403 laboratory-confirmed cases. *Tropical Medicine and International Health*, Oxford, v. 4, n. 11, p. 765-773, 1999.

NASCIMENTO, E. et al. *Association of dengue severity with the hla-c1 allele in patient cohort in Recife-PE*. 2006. Apresentação oral no XVII National Meeting of Virology, Campos do Jordão, SP, 2006.

NIMMANNITYA, S.; THISYAKORN, U.; HEMSRICHART, V. Dengue hemorrhagic fever with unusual manifestations. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, Bangkok, v. 18, n. 3, p. 398-406, 1987.

NIMMANNITYA, S. Clinical spectrum and management of dengue hemorrhagic fever. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, Bangkok, v. 18, p. 392-397, 1987.

NOGUEIRA, R. M.; FILIPPIS, A. M.; COELHO, J. M. Dengue virus infection of the central nervous system (CNS): a case report from Brazil. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, Bangkok, v. 33, p. 68-71, 2002.

ONG, A. et al. Fatal dengue hemorrhagic fever in adults during a dengue epidemic in Singapore. *International Journal of Infectious Diseases*, Hamilton, Aug. 2006. No prelo.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. Dengue e dengue hemorrhagic fever in the Americas: an overview of the problem. *Epidemiological Bulletin*, Washington, v. 13, n. 1, p. 9-10, 1992.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. Dengue hemorrhagic fever in Venezuela. *Epidemiological Bulletin*, Washington, v. 11, n. 2, p. 7-9, 1990.

PANCHAROEN, C.; THISYAKORN, U.; NISALAK, A. A dengue shock patient with negative serology and polymerase chain reaction (PCR) tests. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, Bangkok, v. 31, p. 264-265, 2000.*

PARADOA PEREZ, M. L.; TRUJILLO, Y.; BASANTA, P. A. Association of dengue hemorrhagic fever with the HLA system. *Haematologia*, Budapest, v. 20, p. 83-87, 1987.

PHUONG, C. X. T.; NHAN, N. T.; KNEEN, R. Clinical diagnosis and assessment of severity of confirmed dengue infections in vietnamese children: Is the World Health Organization Classification System Helpful? *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Baltimore, v. 70, p. 172-179, 2004

RAHMAN, M. et al. First outbreak of dengue hemorrhagic fever, Bangladesh. *Emerging Infectious Diseases*, Atlanta, v. 8, n. 7, p. 738-740, Jul. 2002.

RIGAU-PEREZ, J. G.; BONILLA, G. L. An evaluation of modified cases definitions for the detections of dengue hemorrhagic fever. *Puerto Rico Health Sciences Journal*, San Juan, v. 18, p. 347-352, 1999.

ROSEN, L. The emperor's new clothes revisited, or reflections on the pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Baltimore, v. 26, p. 337-343, 1977.

ROTHMAN, A. L.; ENNIS, F. A. Immunopathogenesis of Dengue hemorrhagic fever. *Virology*, New York, v. 257, p. 1-6, 1999.

SANGKAWIBHA, N. et al. Risk factors in dengue hock syndrome: a prospective epidemiologic study in Rayong, Thailand. *American Journal of Epidemiology*, Baltimore, v. 120, p. 653-669, 1984.

SANTOS, N. Q.; AZOUBEL, A. C.; LOPES, A. A. Guillain-Barré syndrome In the course of dengue. Case report. *Arquivos de Neuro-psiquiatria*, São Paulo, v. 62, p. 144-146, 2004.

SENEVIRATNE, S. L.; MALAVIGE, G. N.; SILVA, H. J. Pathogenesis of liver involvement during dengue viral infections. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, London, v. 100, n. 7, p. 608-614, Jul. 2006.

SETIAWAN, M. W. et al. Dengue Hemorrhagic fever ultrasound as an aid predict the severity of the disease. *Pediatric Radiology*, Berlin, v. 28, p. 1-4, 1998.

SHAH, I.; DESHPANDE, G. C.; TARDEJA, P. N. Outbreak of dengue in Mumbai and predictive markers for dengue shock syndrome. *Journal of Tropical Pediatrics*, London, v. 50, p. 301-305, 2004.

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

SINNIAH, M.; IGARASHI, A. Dengue hemorrhagic fever. *Reviews in Medical Virology*, Chichester, v. 5, p. 193-203, 1995.

SIQUEIRA JÚNIOR, J. B. et al. Dengue and dengue hemorrhagic fever, Brazil, 1981-2002. *Emerging Infectious Diseases*, Atlanta, v. 11, p. 48-53, 2005.

SREY, V. H. et al. Etiology of encephalitis syndrome among hospitalized children and adults in Takeo, Cambodia, 1999-2000. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Baltimore, v. 66, p. 200-207, 2002.

SRICHAIKUL, T.; NIMMANNITYA, S. Haematology in dengue end dengue haemorrhagic fever. *Baillieres Clinical Haematology*, London, v. 13, n. 2, p. 261-276, 2000.

STEPHERS, H. A.; KLAYTHONG, R.; SIRIKONG, M. HLA-A and -B allele associations with secondary dengue virus infections correlate with disease severity and the infecting viral serotype in ethnic Thais. *Tissue Antigens*, Copenhagen, v. 60, p. 309-318, 2002.

TRACEY, K. J.; CERAMI, A. Tumor necrosis factor, other cytokines and disease. *Annual Review of Cell Biology*, Palo Alto, v. 9, p. 317-343, 1993.

VALDES, L. et al. Epidemiology of dengue and hemorrhagic dengue in Santiago, Cuba 1997. *Revista Panamericana de Salud Publica*, Washington, v. 6, p. 16-25, 1999.

WATTS, D. M. et al. Failure of secondary infection with American genotype 2 to cause dengue haemorrhagic fever. *Lancet*, London, v. 354, p. 1431-1434, 1999.

WICHMANN, O. et al. Risk factors and clinical features associated with severe dengue infection in adults and children during the 2001 epidemic in Chonburi, Thailand. *Tropical Medicine and International Health*, Oxford, v. 9, p. 1022-1029, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control*. 2. th. Geneva, 1997.

YAMAMOTO, Y. et al. Acute Disseminated Encephalomyelites Following Dengue Fever. *Journal of Infection and Chemotherapy*, Tokyo, v. 8, p. 175-177, 2002.

ZAGNE, S. M. et al. Dengue haemorrhagic fever in the state of Rio de Janeiro, Brazil: a study of 56 confirmed cases. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, London, v. 88, p. 677-679, 1994.

APÊNDICES

Acute disseminated encephalomyelitis in classic dengue

Encefalomielite disseminada aguda em dengue clássica

Carlos A.A. Brito^{1,2}, Silvana Sobreira³, Marli Tenório Cordeiro^{1,4} and Norma Lucena-Silva^{1,5}

ABSTRACT

Neurological manifestation is uncommon in dengue infection. The pathogenesis of central nervous system involvement is controversial. We report a rare case of acute disseminated encephalomyelitis in classic dengue, with isolation of serotype 3 in liquor. This condition was associated with significant structural damage detected by magnetic resonance.

Key-words: Acute disseminated encephalomyelitis. Dengue. Neurological symptoms.

RESUMO

Manifestação neurológica é incomum em dengue. A patogênese do acometimento do sistema nervosa central é controversa. Nós relatamos um raro caso de encefalomielite disseminada aguda em dengue clássica, com isolamento do sorotipo 3 em líquido. O quadro estava associado a significativo dano estrutural detectado pela ressonância magnética.

Palavras-chaves: Encefalite disseminada aguda. Dengue. Manifestações neurológicas.

Dengue is an infectious disease caused by a flavivirus, in which neurological signs are uncommon. Nevertheless, central nervous system (CNS) involvement has been reported with different clinical forms (meningitis or encephalitis), as well as peripheral nervous system disease with clinical signs of polyradiculoneuritis^{3,8}. The frequency of dengue etiology in patients with encephalitis, based on the presence of anti-dengue IgM in the serum, has been shown to range from 5 to 20%^{5,11}. The pathogenesis of the neurological manifestation is not clearly defined, but some reports have attributed it to the encephalopathy present in severe cases of dengue hemorrhagic fever (DHF)^{1,8}. Acute disseminated encephalomyelitis (ADEM) is a neurological manifestation rarely described in association with dengue. Four ADEM cases have been published, but only two of them showed abnormalities on nuclear magnetic resonance (NMR) imaging, which were associated with systemic vascular alterations, consumption of platelets and hepatic dysfunctions. The dengue virus was not isolated in liquor in any of these cases^{3,7,12}.

The present report details the case of a 37-year-old woman was attended at the emergency services of Memorial São José Hospital in Recife. She presented with asthenia, headache, myalgia and arthralgia, and was using dipyron as a painkiller. Five days after

her symptoms started, she had difficulty in pronouncing some words, and this evolved to progressive impairment in spontaneous speech. She presented weakness in the left hand, which was most pronounced in the first and second fingers. This made the use of tweezers difficult, thereby compromising her professional activity (dentist). She had a sensation of heaviness in her left leg, with repercussions on her gait, and this was the principal preoccupation leading to consultation with a neurologist.

The initial neurological examination showed speech disturbances characterized by phonemic paraphasia and dysnomia, with the preservation of understanding. This was associated with grade III movement deficit in the left hand, which was predominantly in the first and second fingers, and grade IV deficit in the left leg. The superficial and deep reflexes were normal, with slight hypostasis for painful tactile stimulus of the left hand. The cranial pairs were also normal.

Blood assays showed platelets and hepatic enzymes at normal levels (Table 1). NMR gave a low signal on T1 and a high signal on T2, and showed a variety of contrast impregnations (retentions) with ventricular white substance, at the callosal-septal interface, right-side centrum semiovale, corona radiata and thalamus bilaterally.

1. Aggeu Magalhães Research Center, Oswaldo Cruz Foundation, Recife, PE. 2. Departamento de Medicina Clínica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE. 3. Hospital Memorial São José, Recife, PE. 4. Dr. Milton Bezerra Laboratory, Laboratório Central, Recife, PE. 5. Instituto Materno Infantil de Pernambuco Prof. Fernando Figueira, Recife, PE.

Support: This work was supported by the PDTSF program at FIOCRUZ.

Address to: Dra. Norma Lucena-Silva. Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães/FIOCRUZ. Av. Moraes Rego, S/N, campus da UFPE, Cidade Universitária, 50670-420 Recife, PE, Brazil.

Tel: 55 81 2122-4764.

e-mail: nlucena@cpqam.fiocruz.br

Recebido para publicação em 28/9/2006

Aceito em 8/2/2007

Table 1- Laboratory record of a patient with acute disseminated encephalomyelitis due to classic dengue infection by dengue virus serotype DENV-3.

Blood analysis	Results
Hematocrit (%)	38.2
WBC count, cells/ μ l	4,100
Total neutrophil count, cells/ μ l	2,200
Total lymphocyte count, cells/ μ l	1,300
Total monocyte count, cells/ μ l	400
Total eosinophil count, cells/ μ l	100
Platelet count, $\times 10^9/\mu$ l (lowest value obtained)	328
VSM, mm (normal range: 0-20mm)	22
Aspartate aminotransferase, U/ml	18
Alanine aminotransferase, U/ml	19
Albumin, g/dl (normal range: 3.5 to 5.0g/dl)	4.2
FAN, LE cells, antibodies for anti-DNA, anti-HIV, anti-HTLV I and II, anti-HCV, anti-HVA and anti-HBSAg, anti-HBc, HBSAg, VDRL, FTA-ABS and Waaler Rose	negative

WBC= VSM= FAN= LE cells= anti-DNA= anti-HIV= anti-HTLV= anti-HVA= anti-HBSAg= anti-HBc= HBSAg= VDRL= FTA-ABS=

The dengue etiology was confirmed by isolating the virus from the liquor followed by RT-PCR and immunofluorescence for dengue serotyping. Hemagglutination inhibition (HI) assay detected seroconversion for anti-dengue specific antibodies to DEN-3, as shown in Table 2. A positive HI for other serotype indicates previous dengue infection.

Table 2- Laboratory assays for confirming the diagnosis of dengue infection.

Sample	IgM	Isolation	Hemagglutination inhibition assay			
			RT-PCR	DENV-1	DENV-2	DENV-3
LGR	-	DENV-3	DENV-3	-	-	-
May 10, 2004						
Serum 1	-	ND	ND	1:320	1:160	1:40
May 14, 2004						
Serum 2	-	ND	ND	1:320	1:160	1:320
June 28, 2004						

ND: not done

RT-PCR: reverse transcription-polymerase chain reaction

The patient underwent pulse therapy with 1g of methylprednisolone for 5 days.

A sample of liquor was sent to our laboratory for examination on the fifth day of symptoms when she was seen by the physician for the first time. It was only on the ninth day of disease, after laboratory confirmation of dengue in the liquor, that a new blood sample was collected, when virus isolation is more difficult. Anti-dengue IgM was also negative in both the serum and liquor. Negative ELISA has also been reported in 25% out of 614 cases of acute infection confirmed by hemagglutination inhibition⁴.

Neurological manifestations have not been directly attributed to the effect of the virus, but to dengue encephalopathy caused by systemic vascular alterations. Such alterations might be due to the homeostasis, vascularized endothelium or hepatic dysfunction

that is present in severe cases of dengue hemorrhagic fever (DHF)¹⁸.

The molecular pathogenesis of neurological dengue has become a subject for study because of the increasing numbers of reports of neurological symptoms among patients with mild DHF or classic dengue^{5 10}. Additionally, some necropsy studies have been suggesting that local inflammatory activity is due to the presence of the virus in the CNS^{2 6 9}.

ADEM is an uncommon neurological manifestation involving peripheral nerves that has also been associated with dengue infection. Two recently reported cases of ADEM suggested this association, but no clinical and laboratory evidence has been produced to support the hypothesis that the virus has a cytopathic effect on the CNS^{3 12}.

Out of 41 reported cases of dengue with neurological manifestations among Brazilian patients, 22 were classified as encephalitis, 16 as peripheral nervous disease, two as transversal myelitis and one as ADEM. In the ADEM case, no virus was isolated from liquor, nor were there any abnormalities on NMR. There was no information about the clinical form of the dengue, platelet counts or hepatic dysfunction to add to the discussion on the genesis of these neurological manifestations⁸.

There has been another report of ADEM, on a Japanese patient infected in Brazil, in which the NMR images of the spinal cord showed multiple high-intensity spotty lesions from Th-7 to Th-11. This case showed a notable decrease in platelet count (50,000/ μ l) and also hepatic dysfunction, thus suggesting a mechanism associated with dengue encephalopathy¹².

We have reported an ADEM case that was associated with dengue virus detected in the liquor and significant structural damage detected by NMR. This was classified as a classic dengue case without evidence of the hepatic dysfunction, circulatory collapse, hypoxia or metabolic imbalance that occur secondarily to encephalopathy. These features emphasize that a cytopathic effect was occurring due to the presence of the virus in the CNS. Future studies will be needed to clarify whether the neurological manifestations are due to neural tropism or the virulence of a variant virus of the dengue virus.

REFERENCES

1. Cam BV, Fonsmark L, Hue NB, Phuong NT, Poulsen A, Heegaard ED. Prospective case-control study of encephalopathy in children with dengue hemorrhagic fever. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 66:848-851, 2001.
2. Chimelli L, Hahn MD, Netto MB, Ramos RG, Dias M, Gray F. Dengue: neuropathological findings in 5 fatal cases from Brazil. *Clinical Neuropathology* 9:157-162, 1990.
3. Ferreira LMB, Cavalcanti CG, Coelho CA, Mesquita SD. Neurological manifestation of dengue: study of 41 cases. *Arquivos de Neuro-psiquiatria* 63:488-493, 2005.
4. Harris E, Videz E, Pérez L, Pérez L, Sandoval E, Téñez Y, Pérez MIA, Cuadra R, Rocha J, Idiaquez W, Alonso RE, Delgado MA, Campo LM, Acevedo F, Gonzales A, Amador JJ, Balmaseda A. Clinical, epidemiologic, and virologic features of dengue in the 1998 epidemic in Nicaragua. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 63:5-11, 2000.
5. Kankirawatana P, Chokephaibulkit K, Puthavathana P, Yoksan S, Apintanapong S, Pongthapisit V. Dengue infection presenting with central nervous system manifestation. *Journal of Child Neurology* 15:544-547, 2000.

6. Miagostovich MP, Ramos RG, Nicol AF, Nogueira RM, Cuzzi-Maya T, Oliveira AV, Marchevsky RS, Mesquita RP, Schitzamyr HG. Retrospective study on dengue fatal cases. *Clinical Neuropathology* 16:204-8, 1997.
7. Misra UK, Kalita J, Svan UK, Dhole TN. Neurological manifestation of dengue virus infection. *Journal of the Neurological Sciences* 244:117-122, 2006.
8. Nimmanitya S, Thisyakorn U, Hemsrichart V. Dengue haemorrhagic fever with unusual manifestations. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 8:398-406, 1987.
9. Ramos C Sánchez G, Pando RH, Baquera J, Hernández D, Mota J, Ramos J, Flores A, Klaus E. Dengue virus in the brain of fatal case of hemorrhagic dengue fever. *Journal of Neurovirology* 4:465-468, 1998.
10. Santos NQ, Azoubel AC, Lopes AA, Costa G, Bacellar A. Guillain-Barré syndrome in the course of dengue. Case report. *Arquivos de Neuro-psiquiatria* 62:144-146, 2004.
11. Pancharoen C, Thisyakorn U. Neurological manifestations in dengue patients. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* 32:341-345, 2001.
12. Yamamoto Y, Takasaki T, Yamada K, Kimura M, Washizaki K, Yoshikawa K, Hitani A, Nakamura T, Iwamoto A. Acute disseminated encephalomyelites following dengue fever. *Journal of Infection and Chemotherapy* 8:175-177, 2002.

Evidência de alterações de permeabilidade vascular na dengue: quando a dosagem de albumina sérica define o quadro?

Plasma leakage detection in severe dengue: when serum albumin quantification plays a role?

Carlos A.A. Brito^{1,2}, Maria de Fátima M.P. Albuquerque¹ e Norma Lucena-Silva^{1,3}

RESUMO

Evidência de extravasamento vascular decorrente do aumento da permeabilidade capilar caracteriza e diferencia febre hemorrágica da dengue. Este artigo avalia o valor de albumina sérica na detecção de alterações de permeabilidade vascular em casos de dengue. Quatorze pacientes diagnosticados com febre hemorrágica da dengue em dois hospitais privados em Recife, Brasil, entre janeiro e maio de 2002 foram seguidos com dosagens diárias de hematócrito e albumina sérica. Ultra-son e Raio X de tórax foram realizados. Oito (57%) casos apresentaram hemoconcentração de 20% ou mais. Hipoalbuminemia foi detectada em dez (71%) pacientes. Dosagem de albumina sérica aumentou a detecção de alterações de permeabilidade em seis (43%) casos na qual a hemoconcentração foi inferior a 20% e os sintomas foram compatíveis com um a resposta imune exacerbada. Raio-X foi normal em todos os casos. A utilização, portanto, de dosagem de albumina sérica aumenta a sensibilidade de detecção de casos de febre hemorrágica da dengue.

Palavras-chaves: Dengue. Febre hemorrágica da dengue. Classificação da Organização Mundial de Saúde.

ABSTRACT

Evidence of vascular leakage due to increased capillary permeability characterizes and differentiates dengue hemorrhagic fever. This article assesses the value of serum albumin for detecting vascular permeability abnormalities in dengue cases. Fourteen patients diagnosed with dengue hemorrhagic fever at two private hospitals in Recife, Brazil, between January and May 2002 were followed up with daily hematocrit and serum albumin assays. Ultrasound scans and chest X-rays were also performed. Eight (57%) of the cases presented hemoconcentration of 20% or more. Hypoalbuminemia was detected in ten patients (71%). Serum albumin assays increased the detection of permeability abnormalities in six cases (43%) in which the hemoconcentration was less than 20% and the symptoms were compatible with an exacerbated immune response. The X-rays were normal in all cases. Thus, the use serum albumin quantification increased the sensitivity of dengue hemorrhagic fever detection.

Key-words: Dengue. Dengue hemorrhagic Fever. World Health Organization classification.

A dengue é uma doença infecciosa, causada por um flavivirus e transmitida pelo mosquito do gênero *Aedes aegypti* que se tornou um grave problema de saúde pública em todo o mundo. Nos últimos 5 anos, o Brasil tem sido responsável por 70% dos casos relatados na região das Américas com significativo aumento das formas graves a partir de 2002⁹.

Não há exames específicos para o diagnóstico da febre hemorrágica da dengue (FHD), que tem sido definida com base

em critérios clínicos-laboratoriais¹². Têm se estabelecidos valores para níveis de plaquetas, hemoconcentração, proteína e albumina sérica para que os casos possam ser classificados em FHD¹².

Dos quatro critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS), três deles (clínica compatível com dengue, plaquetas inferior a 100.000 e alguma manifestação hemorrágica) podem estar presentes na dengue clássica. Alteração de permeabilidade capilar

1. Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Instituto Oswaldo Cruz, Recife, PE. 2. Departamento de Medicina Clínica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE. 3. Instituto Materno Infantil de Pernambuco Prof. Fernando Figueira, Recife, PE.

Endereço para correspondência: Dra. Norma Lucena-Silva. Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães/FIOCRUZ. Av. Moraes Rego, s/n, Campus da UFPE, Cidade Universitária, 50670-420 Recife, PE, Brazil.

Tel: 55 81 2122-4764.

e-mail: nlucena@cpqam.fiocruz.br

Recebido para publicação em 28/9/2006

Aceito em 8/2/2007

caracteriza e diferencia a FHD, o que expressa a fisiopatologia da resposta imune secundária exacerbada da FHD^{3,6}.

A presença de alteração de permeabilidade capilar pode ser detectada por hemoconcentração maior ou igual a 20%, derrame cavitário ou proteína baixa, mas na prática clínica apenas hemoconcentração tem sido rotineiramente utilizado. Porém, algumas observações têm levantado discussões sobre tais critérios indicando a possibilidade de redefinição de caso^{7,8}.

A proporção de casos de dengue clássica (DC) para FHD, relatada nas diferentes casuísticas da literatura, tem demonstrado resultados bastante diferentes. No Brasil, durante a epidemia de 2002 foram notificados 672.371 casos de dengue com 2.090 casos de FHD (relação FHD: DC de 1:300)⁹. A proporção de formas hemorrágicas variou entre diferentes cidades do nordeste. Em Recife ocorreram 79.821 casos de DC e 241 de FHD (relação de 1:300) enquanto em Fortaleza, ocorreram 13.788 casos, com 120 casos de FHD (relação de 1:100)¹. Estes resultados podem representar diferenças em virulência das cepas, ou dificuldade na definição de casos e preenchimento dos critérios da OMS quando se utiliza apenas hemoconcentração maior ou igual a 20% como marcador de alterações do endotélio capilar⁴.

Este artigo descreve uma série de casos diagnosticados em Recife, durante a epidemia de 2002, na qual a quantificação de albumina sérica e detecção de exudatos cavitários por método de imagem em pacientes com hemoconcentração inferior a 20%, possibilitaram redefinições de casos de FHD.

MATERIAL E MÉTODOS

No período de janeiro a maio de 2002, foram estudados 14 pacientes com diagnóstico de FHD, internados no Hospital Santa Joana e Hospital Esperança, localizados no Recife, Nordeste do Brasil. O projeto foi avaliado pelo Comitê de Ética em Pesquisa dos referidos hospitais como pré-requisito para o acesso aos prontuários.

Amostras de sangue eram coletadas na admissão e a intervalos de 24 horas para avaliação hematológica e análise bioquímica para albumina e transaminases. A hemoconcentração era calculada através da diferença entre o nível mais alto do hematócrito na fase aguda e o da convalescença. Hipoalbuminemia era definida pelo por um nível sérico abaixo do limite inferior do ensaio utilizado (Normal: 3,4 a 4,8g/dl). A detecção de IgM específica para dengue era realizado utilizando-se um kit comercial de Biomanguinhos, Rio de Janeiro, Brasil.

No segundo dia de admissão, os pacientes foram submetidos a um Rx de tórax e a um ultra-som de abdômen total e tórax utilizando um equipamento bi-dimensional com frequência de 3,5MHz no abdômen e de 4,0MHz no tórax.

Os pacientes foram classificados como FHD, após preencherem os critérios da OMS: 1) Presença de febre por 7 dias ou menos; 2) trombocitopenia $\leq 100.000/\text{mm}^3$; 3) manifestação hemorrágica; 4) extravasamento de plasma devido ao aumento da permeabilidade capilar representado por hemoconcentração $\geq 20\%$ ou presença de derrame pleural, ascite ou hipoproteinemia (hipoalbuminemia).

RESULTADOS

A idade dos 14 pacientes variou de 18 a 82 anos, com uma média de 48,7. Onze eram do sexo feminino. Sorologia anti-IgM foi positiva para todos os casos (Tabela 1).

Tabela 1 - Características clínicas de quatorze casos de febre hemorrágica do dengue atendidos em dois hospitais privados no Recife, Brasil.

Características clínicas	Número	Porcentagem
Prova do laço positiva	13	93,0
Sangramentos espontâneos*		
petéquias	5	36,0
sangramento gengival	3	21,4
epistaxe	2	14,3
metrorragia	2	14,3
equimoses	1	7,0
hematêmese	1	7,0
Sorologia para dengue (IgM +)	14	100,0
Plaquetas (x 1.000/ml/mm ³)		
mínimo	9	
máximo	86	
média	50	
Albumina (g/dl)		
mínimo	2,1	
máximo	3,2	
média	2,7	

*Dois pacientes apresentaram três destas manifestações hemorrágicas simultaneamente; dois pacientes com duas e dez com uma única manifestação hemorrágica.

Rash cutâneo esteve presente em sete (50%); pacientes náuseas e vômitos ocorreram em nove (64%). A prova do laço, foi a manifestação hemorrágica mais prevalente, detectada em 13 (93%) pacientes. Os sangramentos espontâneos encontrados nos 14 pacientes foram: micropetéquias em membros inferiores em 5 (36%); gengivorragia em 3 (21%); epistaxe em 2 (14%); metrorragia em 2 (14%); hematêmese e equimose em apenas um paciente cada. Dois pacientes apresentaram três destas manifestações hemorrágicas simultaneamente; dois pacientes com duas e dez com uma manifestação hemorrágica.

O percentual de hemoconcentração variou de 4% a 37%, com uma média de 21%. O paciente que apresentou hemoconcentração de 4% apresentou hemorragia digestiva alta e foi o único hemotransfundido. Oito (57%) pacientes apresentavam hemoconcentração maior ou igual a 20%. Cinco dos seis com hemoconcentração menor de 20% tiveram o quarto critério para FHD, baseado nos achados ultra-sonográficos e hipoalbuminemia, e o sexto baseado apenas na presença de hipoalbuminemia (Tabela 2).

Na ultra-sonografia (USG) foram detectadas as seguintes anormalidades: derrame cavitário em 9 (64%) casos; ascite em oito (57%) e derrame pleural em quatro (29%). A quantidade de líquido em cavidade abdominal e pélvica foi de pequena monta, depositado nas goteiras perihepáticas e fundo de saco posterior na pelve (Figura 1). Espessamento de parede vesicular esteve presente em sete (50%) pacientes, com espessura de 0,5 a 1cm. Derrame pleural ocorreu bilateralmente, representado por discreta

Tabela 2 - Resultados laboratoriais para detecção de permeabilidade vascular em catorze pacientes com diagnóstico de febre hemorrágica da dengue.

Hematócrito 1	Hematócrito 2	Hemoconcentração (%)	Albumina (g/dl)	Exsudato cavitário	
				ascite	pleural
39,6	33,3	18,9	3,2	presente	presente
37,4	31,0	20,6	3,0	presente	ausente
39,0	31,2	25,0	3,9	ausente	ausente
53,7	43,6	23,2	2,5	ausente	ausente
37,0	34,5	7,2	3,0	presente	presente
50,8	40,4	25,7	3,6	ausente	ausente
52,0	38,0	36,8	3,5	presente	ausente
41,3	31,1	32,8	2,4	presente	presente
42,1	36,0	16,9	2,6	presente	ausente
38,4	33,0	16,4	3,3	presente	ausente
41,0	36,0	13,9	3,3	presente	ausente
42,0	30,8	36,4	3,8	presente	presente
37,7	36,3	3,9	2,9	ausente	ausente
41,2	34,0	21,2	3,0	ausente	ausente

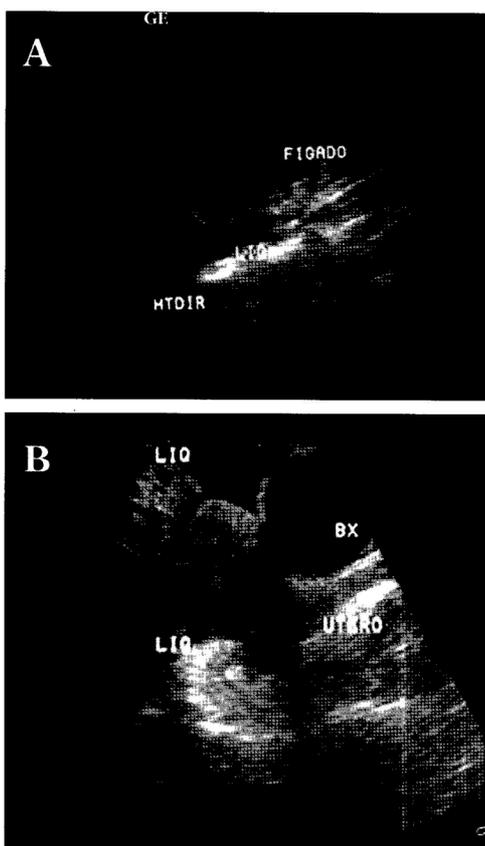


Figura 1 - Achados do ultra-som em febre hemorrágica da dengue: exsudato pleural (foto A) and ascite (foto B).

lâmina líquida. Os Rx de tórax em PA e perfil foram normais, não identificando a presença de derrame pleural.

Hipoalbuminemia foi detectada em 10 (71%) pacientes. Baixos níveis séricos de albumina levaram a detecção de alterações de permeabilidade capilar em seis casos com quadro clínico compatível com resposta imune secundária exacerbada; porém, apresentavam-se com hemoconcentração inferior a 20%. A detecção de hipoalbuminemia permitiu notificação oficial de mais seis casos de FHD.

DISCUSSÃO

No presente estudo, mostrou-se que utilizando apenas hemoconcentração maior ou igual a 20% como critério para detecção de extravasamento plasmático, seis (43%) casos da presente casuística poderiam ser erroneamente classificados como dengue clássica. Um deles apresentou hemorragia digestiva, levando a queda do hematócrito mascarando a real hemoconcentração. Cinco deles apresentaram derrames cavitários e todos apresentavam hipoalbuminemia, como sinal de alteração de permeabilidade capilar, desta forma confirmando o diagnóstico de FHD baseado nos critérios da OMS. Os resultados apresentados sugerem que a utilização exclusiva de hemoconcentração superior ou igual a 20%, pode diminuir a sensibilidade da definição de casos de FHD.

Hemoconcentração baseada no atual ponto de corte é mais sensível em graus mais intensos da doença. Porém, um estudo no Vietnã relatou que 20 (6%) de 310 casos com síndrome do choque da dengue falharam em preencher o quarto critério para classificação de FHD utilizando apenas hemoconcentração⁷.

Rigau-Perez cols⁸ investigaram uma possível modificação do ponto de corte da hemoconcentração em 915 pacientes, sendo 818 definidos como DC e 97 FHD. Considerando um ponto de corte de 10% ou mais na hemoconcentração, foi possível redefinir como FHD 192 casos, praticamente dobrando o número de casos inicial. Por outro lado, os autores não utilizaram outros métodos de diagnóstico, como ultrasonografia (USG) e a dosagem de albumina sérica capazes de confirmar alteração de permeabilidade capilar nos 95 casos novos de FHD após mudança do ponto de corte⁸. Portanto, mudanças, no ponto de corte, necessitam ser validada.

Tem sido sugerido que hemoconcentração pode não ser apropriada para definição de alterações de permeabilidade capilar. A hemoconcentração pode ocorrer devido à desidratação em consequência dos vômitos, hipertermia ou inadequada reposição de fluidos, características clínicas presentes na FHD. Neste contexto, as presenças de derrame cavitário e hipoproteinemia, poderiam apresentar uma maior especificidade para estas alterações de endotélio capilar.

É possível também que hemoconcentração maior ou igual a 20% utilizado pela OMS ocorra nos casos mais graves da doença. Todos os nossos casos correspondiam a doença leve, classificados, em grau I e II.

Kalayanarooj detectou hemoconcentração maior ou igual a 20% em apenas 12 (48%) de 25 pacientes classificados como

FHD, 78% deles classificados em grau I e II. O autor detectou nestes casos as alterações de permeabilidade capilar através da presença de derrame pleural utilizando Rx em decúbito lateral direito e ascite durante o exame físico em 84% dos casos⁵.

Raio X é menos sensível do que ultra-som para detecção de exsudato pleural. Além disto, entre os exsudatos detectados ao ultra-som, ascite é o mais freqüente e sua incidência aumenta com a intensidade da doença^{10 11}.

Setiawan cols¹⁰, em 1998, relataram a presença de derrame pleural em 30% de casos de FHD grau I e II (73/148) em crianças de 5 meses a 14 anos¹⁰ e ascite em 23%, 50%, 95% e 90% dos casos grau I, II, III e IV, respectivamente. Na série de casos mostrados aqui, ascite (57%) era mais prevalente do que exsudato pleural (29%).

Na presente casuística, o Rx foi realizado em PA e perfil, limitando a avaliação de derrame, já que são necessários pelo menos 200ml de líquido para opacificar os seios costofrênicos na incidência referida. Porém, a USG detectou a presença de líquido pleural em apenas 4 (29%) dos 14 casos e com volumes inferiores a 200ml, sugerindo que a presença de tais derrames não são freqüentes, constituindo-se em um indicador de baixa sensibilidade.

Além disso, ultra-som tem alto custo e não é disponível em regiões pobres com alta incidência de casos de dengue.

Há necessidade de buscar um marcador biológico precoce para detecção de casos com risco potencial de FHD e desta forma diferenciar os cuidados durante o seguimento dos pacientes. O uso de hemoconcentração para preencher o quarto critério no diagnóstico de FHD pode ser limitado, só definindo-se a presença da mesma com amostra de hematócrito obtido na convalescência, pois se desconhece o valor de hematócrito basal no atendimento inicial. Muitas regiões do mundo desconhecem a média de hematócrito de sua população, como é o caso do Brasil, um país com extenso território e regiões com diferentes realidades sócio-econômicas.

Uma alternativa para definir um novo ponto de corte de hemoconcentração e melhorar a detecção de casos de FHD pode ser a medida sérica de albumina. Dosagem de albumina sérica é barata, rápida e simples e pode ser utilizado em algumas unidades de saúde para definição de casos de FHD.

Uma definição apropriada de casos de FHD permitirá uma melhor avaliação da doença. Poderá também contribuir para estabelecer o real impacto desta forma da doença para a

população, permitindo um melhor planejamento de estratégias de atendimento e gestão de recursos, além de permitir a comparação, de forma fidedigna, de dados provenientes de diferentes regiões do mundo. Desenhos de pesquisas adequados poderão estabelecer fatores de risco para diferentes formas clínicas da doença (DC E FHD) identificando pacientes com risco potencial de complicações.

A série de casos, aqui relatada, representa uma pequena casuística. Estudos com maior número de casos faz-se necessário para rediscutir os critérios utilizados pela OMS; principalmente, referente ao ponto de corte utilizado para hemoconcentração que precisa ser validado com outros métodos de diagnósticos, como USG de alto custo e não invasivo, ou com dosagem sérica de albumina que é de baixo custo e simples e, assim, poderão servir como marcador mais precoce de casos de FHD.

REFERÊNCIAS

1. Fundação Nacional de Saúde. Brasil. Programa Nacional de Controle da Dengue, Brasília 01-51, 2002.
2. Gubler DJ. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. *Clinical Microbiology Reviews* 11:480-496, 1998.
3. Halstead SB. Dengue. *Current Opinion Infectious Disease* 15:471-476, 2002.
4. Halstead SB, Streit TG, Lafontant JG. Haiti: Absence of Dengue Hemorrhagic Fever Despite Hyperendemic Dengue Virus Transmission. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 65:180-183, 2001.
5. Kalaynarrooj S, Vaughn DW, Nimmannitya S. Early Clinical and Laboratory Indicators of Acute Dengue Illness. *Journal Infectious Diseases* 176:313-321, 1997.
6. Lei HY, Yeh TM, Lin HS, Lin YS. Immunopathogenesis of dengue virus infection. *Journal Biomedical Science* 8:377-388, 2001.
7. Phuong CXT, Nhan NT, Kneen R. Clinical Diagnosis and Assessment of Severity of Confirmed Dengue Infections in Vietnamese Children: Is the World Health Organization Classification System Helpful? *The American Journal of Tropical Medicine Hygiene* 70:172-179, 2004.
8. Rigau-Perez JG, Bonilla GL. An Evaluation of Modified Cases Definitions for the Detections of Dengue Hemorrhagic Fever. *Puerto Rico Health Sciences Journal* 18:347-352, 1999.
9. Siqueira JB, Martelli GMT, Coelho GE, Simplicio AR, Hatch DL. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever, Brazil, 1981-2002. *Emerging Infectious Diseases* 11:48-53, 2005.
10. Setiawan MW, Samsi TK, Wulur H. Dengue Haemorrhagic Fever ultrasound as an aid predict the severity of the disease. *Pediatric Radiology* 28:1-4, 1998.
11. Thulkar S, Sharma S, Srivastava DN. Sonographic Findings in Grade II Dengue Hemorrhagic Fever in Adults. *Journal Clinical Ultrasound* 28:34-37, 2000.
12. World Health Organization. Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2ª edição, New Delhi p. 1-75, 1997.

Carlos Brito
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – Fiocruz
Av. Moraes Rego, S/N, Campus da UFPE,
Cep.:50670-420, Recife, Pernambuco, Brasil
Tel/Fax: +55 (81) 32227305

Dengue: perfil clínico-epidemiológico, laboratorial e avaliação de fatores de risco em uma coorte prospectiva entre pacientes adultos em Recife, Nordeste do Brasil.

Dengue prospective cohort in Recife (Brazil): clinical-epidemiological pattern, laboratory abnormalities and evaluation of risk factors for severe forms of the disease.

Carlos A.A. Brito^{1,2,3}, Maria de Fátima M.P. Albuquerque^{1,2} and Norma Lucena-Silva^{1,4}.

¹Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/Fundação Instituto Oswaldo Cruz, Recife, PE.

²Departamento de Medicina Clínica/UFPE, Recife, PE. ³Laboratório de Virologia/Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães, Recife, PE. ⁴Instituto Materno Infantil de Recife, PE. Address to: Dr. Carlos Brito. Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães/FIOCRUZ. Av. Moraes Rego, S/N, campus da UFPE, Cidade Universitária, 50670-420 Recife, PE, Brazil;

e-mail: cbrito@cpqam.fiocruz.br Tel: 55 81 2122-4764.

RESUMO

O comportamento da dengue na Américas tem diferido dos da Ásia com um predomínio da doença entre adultos, incluindo as formas graves. Estudos objetivando traçar um perfil clínico-epidemiológico e para avaliar fatores de riscos para FHD, envolvendo adultos destas regiões, tem sido limitados. Entre fevereiro de 2004 e julho de 2006 nós realizamos um estudo prospectivo em dois hospitais na cidade do Recife, Pernambuco, Nordeste do Brasil para determinar o padrão clínico-epidemiológico, anormalidades laboratoriais e evolução de pacientes com dengue, bem como avaliar marcadores clínicos e laboratoriais associados às formas graves da doença. Do total de 211 pacientes adultos, 181 (86%) eram classificados como dengue clássica e 30 (14%) como FHD, sendo 21 (70%) classificados em grau I, 8 (27%) grau II, e 1 (3%) grau III. PCR ou isolamento foram positivos em 127 (60%), todo para DEN-3. Dos 30 pacientes com FHD infecção secundária esteve presente em apenas 14 (47%) dos casos, e em 62% (113/181) entre casos de dengue clássica, não estando o tipo de infecção associado a formas graves da doença ($p=0,1023$, OR: 0,53; IC 95%, 0,23-1,22). Não houve diferenças nos achados clínicos, laboratoriais, presença de comorbidade e desfecho entre DC e FHD, exceto uma maior frequência de prova do laço positiva entre pacientes com FHD presente em 85% dos casos ($p<0,0001$; OR: 24,31; IC 95%: 7,49-79,63). Hemoconcentração \geq a 20% utilizado como critério da OMS para detecção de alterações da permeabilidade capilar esteve presente em apenas 7 (23%) dos casos estando associado a alta especificidade (0,97), porém com baixa sensibilidade (0,23). Estes resultados mostram que o padrão de apresentação clínica na região difere dos da Ásia; indicam que os marcadores clínicos

laboratoriais são limitados para prever os pacientes de risco para formas graves; que em virtude alta frequência de infecção primária entre casos de FHD o tipo e infecção tem pouco impacto na evolução dos casos e que os critérios utilizados pela OMS necessitam ser rediscutidos, principalmente redefinindo o ponto de corte utilizado para hemoconcentração, validando-o com os outros métodos de diagnósticos.

Palavras-chaves: Dengue. Febre hemorrágica da dengue. Fatores de risco. Classificação da OMS.

ABSTRACT

The behavior of dengue in the Americas has differed from its presentation in Asia, with predominance of the disease among adults, including the severe forms. Studies aimed at tracing out a clinical-epidemiological profile and assessing risk factors for dengue hemorrhagic fever (DHF), involving adults in these regions, have been limited. Between February 2004 and July 2006, we carried out a prospective study in two hospitals in the city of Recife, Pernambuco, northeastern Brazil, to determine the clinical-epidemiological pattern, laboratory abnormalities and evolution of dengue patients, and also to evaluate clinical and laboratory markers that are associated with the severe forms of the disease. Out of the total of 211 adult patients, 181 (86%) were classified as classical dengue (CD) and 30 (14%) as DHF, of whom 21 (70%) were classified as grade I, eight (27%) as grade II and one (3%) as grade III. PCR or virus isolation was positive in 127 (60%) patients, all for DEN-3. Fourteen (47%) of the 30 cases of DHF were classified as secondary infection and 113 (62%) of the 181 cases of CD, and the type of infection did not present any association with severe forms of the disease ($p=0.1023$; OR: 0.53; 95% CI: 0.23-1.22). There were no differences in clinical, laboratory or comorbidity findings or in outcomes between CD and DHF, except for greater frequency of positive link test among DHF patients, which was present in 85% of the cases ($p<0.0001$; OR: 24.31; 95% CI: 7.49-79.63). Blood concentration $\geq 20\%$, which is used by WHO as a criterion for detecting abnormalities in capillary permeability, was present in only 7 (23%) of the cases and was associated with high specificity (0.97), but with low sensitivity (0.23). These results show that the clinical presentation pattern in the region of the present study differs from the pattern in Asia and indicate that the clinical and laboratory markers present limitations with regard to predicting which patients are at risk of acquiring severe forms of the disease. The results also suggest that, because of the high frequency of primary infection among the DHF cases, the type of infection had little impact on case evolution. In this light, there is a need to review the criteria used by WHO and to redefine the cutoff point used for blood concentration.

Key-words: Dengue. Dengue hemorrhagic fever. Risk factors. WHO classification.

A dengue é uma doença infecciosa, causada por um flavivirus e transmitida pelo mosquito do gênero *aedes aegypti* que se tornou um grave problema de saúde pública em todo o mundo. Estima-se que cerca de 80 milhões de pessoas adoecem anualmente, com 550 mil hospitalizações e 20 mil óbitos⁴².

A atual pandemia teve início na Ásia e regiões do Pacífico durante e após a segunda guerra mundial, com progressivo aumento de casos. Em 1953, em Manila, Filipinas, surgem

os primeiros relatos da forma hemorrágica da doença, associados a importante morbimortalidade.

Nas Américas, a partir da década de 1970 ocorre disseminação da doença, com a primeira grande epidemia de FHD ocorrendo em Cuba em 1981¹⁰. Dez anos depois o Brasil relata a primeira epidemia por FHD, pelo DEN-2, mas, foi em 1998 e 2002 que ocorreram as duas maiores epidemias, com 528.388 e 794.219 casos notificados respectivamente. Nessa última, verificou-se o aumento de casos de FHD (n=2.714). No período de 2000 a 2004, o Brasil foi responsável por 70% dos casos de dengue relatados na região das Américas³⁶. Apesar do aumento do número de casos da forma grave da doença, o comportamento clínico epidemiológico da dengue tem diferido dos da Ásia^{41 8 11}.

A resposta imune exacerbada dependente de anticorpos após infecção secundária, tem sido o mecanismo utilizado para explicar a patogênese da FHD¹². Recentemente, porém, o aumento do número de casos associados à infecção primária, em algumas regiões do mundo, sugere que outros fatores como virulência da cepa ou susceptibilidade do hospedeiro estão envolvidos no desencadeamento de formas graves da doença^{28 14 1}.

Na tentativa de ajudar os médicos a estabelecer um diagnóstico precoce em casos graves da doença, diversos “guidelines” buscam identificar marcadores clínicos e laboratoriais capazes de prever os pacientes com risco de desenvolver a forma grave da doença^{43 24}. Porém as diferenças de metodologia e de resultados utilizadas para definir tais marcadores, aliadas a importantes diferenças epidemiológicas das epidemias dificultam a extrapolação destes “guidelines” e sua utilização para as diferentes regiões do mundo. Estudos com metodologia adequada em áreas de risco para formas graves da doença, poderão particularizar e identificar fatores de riscos capazes de ajudar o urgentista na tomada de decisão.

Na grande epidemia de 2002, Pernambuco, localizado no nordeste do Brasil, foi o segundo estado com maior número de casos, com 101.871 notificações²⁵. A partir de 2003, em Recife-PE uma coorte objetivando o desenvolvimento de vacina contra dengue e a identificação de marcadores prognósticos da doença foi implantado. Neste artigo descrevemos achados clínicos, epidemiológicos e laboratoriais de 321 casos da coorte em andamento, buscando identificar diferentes fatores de risco para as formas graves da doença na nossa região.

MATERIAIS E MÉTODOS

A amostra do presente estudo é proveniente de uma coorte de doentes suspeitos de dengue acompanhados entre fevereiro de 2004 e julho de 2006, na cidade do Recife, capital do estado de Pernambuco, localizado no Nordeste do Brasil. Em Pernambuco, com cerca de 1 milhão de habitantes, a assistência à saúde oferecida à população é principalmente

pública, com cerca de 12% utilizando o sistema de saúde suplementar privado, aumentando para 34% esta cobertura na capital.

A população do estudo foi composta por voluntários maiores de 14 anos, recrutados no serviço de urgência de dois hospitais gerais privados da cidade, Hospital Santa Joana e Hospital Esperança. A escolha destes serviços deveu-se a uma melhor estrutura funcional dessas instituições, aliado aos recursos humanos qualificados e por serem locais de trabalho do investigador principal. O projeto foi aprovado pelo Conselho Nacional de Ética em pesquisa-CONEP (Registro:4909)

Foram incluídos os pacientes maiores de 14 anos considerados com quadro clínico compatível com o diagnóstico dengue – casos suspeitos - após assinar termo de consentimento livre e esclarecido.

Foram excluídos os pacientes que após a primeira coleta desistiram de participar do estudo ou não compareceram para coletas subseqüentes, ou que não tenham realizado exames laboratoriais.

O estudo desenvolvido foi analisado como um caso-controle aninhado em uma coorte prospectiva. Esse tipo de estudo permite a análise da associação entre fatores preditivos e o desenvolvimento da formas grave da doença (FHD), objeto desta investigação. A escolha do desenho deve-se ao fato da FHD ser uma manifestação relativamente rara da doença

Os médicos do plantão ao identificarem um caso suspeito seguiam o protocolo de atendimento aos pacientes com dengue do Ministério da Saúde²⁶, avaliando o paciente clínica e laboratorialmente no primeiro dia do atendimento e subseqüentemente quando necessário. Amostras de sangue eram coletadas na fase aguda da doença, na convalescença e após 6 meses.

Considerou-se caso suspeito os pacientes que apresentavam doença febril aguda com duração máxima de 7 dias, acompanhado de pelo menos dois dos seguintes sintomas: cefaléia, dor retroorbital, mialgia, artralgia, prostração, exantema. Considerou-se caso confirmado quando positivo laboratorialmente por sorologia, PCR ou isolamento viral.

Os casos com diagnóstico de febre hemorrágica da dengue (FHD) foram assim classificados seguindo os critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS): 1. Presença de febre por 7 dias ou menos; 2. Trombocitopenia $\leq 100.000/mm^3$; 3. Manifestação hemorrágica; 4. Extravasamento de plasma devido ao aumento da permeabilidade capilar representado por hemoconcentração ($\geq 20\%$) ou presença de derrame pleural, ascite ou hipoproteinemia/hipoalbuminemia.

Por não conhecermos a média de hematócrito populacional foi considerado hemoconcentração quando havia uma queda do hematócrito maior ou igual a 20% após hidratação.

Após preencherem os critérios da OMS para FHD os pacientes foram classificados de acordo com a intensidade da doença de Grau I a IV

Todo paciente com confirmação laboratorial da doença e que não preenchia os critérios para FHD foi considerado como DC.

Em uma segunda etapa da análise com o objetivo de identificar as características que diferenciam os casos de dengue clássica daqueles com doença febril aguda, conceituados no presente estudo como infecção *dengue-like*, os pacientes com o diagnóstico de dengue clássica foram considerados como **caso** e os com infecção *dengue-like* como **controle**. Infecção *dengue-like* (IDL), que correspondiam aos pacientes com suspeita de dengue, apresentando doença infecciosa aguda, auto-limitada, com regressão do quadro sem terapia específica e sem confirmação sorológica da infecção por dengue.

Diagnóstico laboratorial. *Isolamento e identificação viral*: O vírus dengue foi isolado através da inoculação de 20µl de amostra de soro de paciente na fase aguda da doença em uma monocamada de células C6/36 de mosquito *Aedes* mantidas em meio Leibovitz's L-15 (GIBCO, Invitrogen Co., Grand Island, New York) suprido com 2% de soro fetal bovino. As células foram coletadas após 10 dias de incubação a 28°C e submetidas a ensaios de imunofluorescência para detecção da partícula viral. O vírus foi identificado com anticorpo monoclonal anti-dengue sorotipo específico e anticorpo anti-camundongo conjugado com fluoresceína.

Reação em cadeia da polimerase pós-transcrição reversa (RT-PCR): O RNA viral foi extraído a partir de amostras de soro infectado usando o kit QIAquick PCR Purification (QIAGEN Inc. Valencia, CA). A RT-PCR em dois passos aninhados foi realizada em toda primeira amostra de cada paciente conforme descrito por Lanciotti et al. Em resumo, cópias de cDNA correspondente a região do capsídeo/pré-membrana do genoma viral foram produzidas e amplificadas usando dois inicializadores consenso desenhados para anelar com qualquer dos quatro sorotipos do vírus dengue. O passo seguinte da amplificação com inicializadores tipo-específico resulta na síntese de fragmentos de DNA de tamanhos diferentes, característicos de cada sorotipo que podem ser analisados diretamente em gel de agarose a 2% corados com brometo de etídeo e visualizados sob luz ultravioleta. Material genético de vírus dengue previamente purificado e quantificado foi incluído na reação como controle positivo.

Sorologia: ELISA de captura com IgM anti-dengue (Bio-Manguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Brazil) foi executado de acordo com instruções do fabricante. Os resultados foram interpretados como negativo ou positivo de acordo com o manual do usuário que acompanha o produto. ELISA indireta com IgG (PanBio, Pty., Ltd., Brisbane, Australia) foi realizada seguindo as recomendações do fornecedor. Em resumo, 100µl de soros infectados e controles diluídos 1:100 foram adicionados nos poços de uma placa contendo uma

combinação de antígenos imobilizados na sua superfície. Após a incubação a 37°C, por 30 min, a placa foi lavada com tampão PBS e 100µl de anti-IgG humana conjugada com peroxidase foi adicionada em cada poço e incubado por 30 min a 37°C. Após nova lavagem 100µl do substrato (tetramethylbenzidine/hydrogen peroxidase) foi adicionado em cada poço. Após 10 min a reação foi finalizada com a adição de 100µl por poço de 1M de ácido fosfórico e a absorbância lida no comprimento de onda de 450nm. Os resultados foram calculados e interpretados como negativo ou positivo de acordo com as instruções do fabricante. As Unidades da IgG de dengue PANBIO foram calculadas pela divisão da absorbância da amostra pelo valor de ponto de corte e então, multiplicando este valor por 10 (Unidade de referência da IgG). A classificação da resposta a infecção primária ou secundária da dengue foi baseada na cinética de IgM e IgG de acordo com o seguinte critério:

Padrão de Referência:

- Infecção Primária (P): A infecção primária da dengue foi definida pela ausência de anticorpo IgG específico anti-dengue na primeira amostra de soro do paciente durante a fase aguda, enquanto IgM, isolamento viral, e detecção de genoma viral foram detectados seguidos pela presença de IgG anti-dengue vírus na amostra de soro do referido paciente na fase de convalescença.
- Infecção Secundária (S): A infecção secundária da dengue foi definida pela detecção de anticorpo IgG específico anti-dengue na primeira amostra de soro do paciente na ausência de IgM anti-dengue, associado ao isolamento viral e/ou a detecção do genoma viral pela RT-PCR. A amostra do soro do referido paciente na fase de convalescença pode apresentar anticorpo IgM anti-dengue.

Outros exames laboratoriais: Foram ainda realizados hemograma (Sistema automático Celldyn 3.500-ABBOT, com avaliação em microscopia convencional), dosagem de proteína sérica (Biureto), e albumina (Verdebromocresou), aminotransferases (Método cinético-UV).

Foi realizada análise univariada para identificar a existência de associações entre o desenvolvimento do evento do estudo –FHD– e cada um dos fatores preditivos considerados. Calculou-se a OR e testou-se a significância das associações através do teste do qui-quadrado (χ^2). Associações com um p valor $\leq 0,20$ foram incluídas na análise de regressão logística multivariada com o objetivo de ajustar o efeito de cada um dos fatores de risco pelo efeito dos outros, selecionando-se aqueles, com efeito, independente, ou seja, com maior probabilidade de predizer o desenvolvimento das formas graves da doença. O erro máximo adotado para os testes estatísticos foi de $\alpha = 5\%$ ($p < 0,05$). Foram utilizados os programas estatísticos EPI-INFO, versão 2000 e o SPSS-PC, versão 8.0.

RESULTADOS

De fevereiro de 2004 a julho de 2006, 363 pacientes adultos atendidos com suspeita de dengue nos hospitais Santa Joana e Esperança no Recife foram recrutados e aceitaram em participar do presente estudo. Desses, 42 foram excluídos da análise por terem desistido de participar do estudo ou porque realizaram apenas uma primeira avaliação clínico-laboratorial. A população do estudo constituiu-se então de 321 pacientes.

A faixa etária dos participantes variou de 15 a 86 anos, com média de idade de 38 anos. A etiologia da dengue foi confirmada em 211 dos 321 (66%) casos suspeitos através de testes moleculares e/ou imunológicos. Dos 211 casos confirmados de dengue, 181 (86%) foram classificados como DC e 30 (14%) como FHD segundo os critérios da OMS (Tabela 1). Dos 30 casos de FHD, 21 (70%) foram classificados em grau I, 8 (27%) grau II, e 1 (3%) grau III. Não houve casos de FHD grau IV.

Dos 110 casos negativos para dengue, 17 tiveram os seguintes diagnósticos: Infecção do trato urinário sem disúria (9), hepatite A (2), Mononucleose (1), Síndrome da imunodeficiência adquirida (1), Sepsis por gram-positivos (1), Leptospirose (1), Sinusite (1), Pneumonia (1). Os 93 restantes foram considerados como infecção aguda autolimitada, Dengue-Like, sem confirmação laboratorial específica.

Dos 211 casos confirmados de dengue, 102 eram homens e 109 mulheres (0,94:1,0). Dentre os 181 pacientes com DC a proporção de mulheres acometidas foi de 49% (relação masculino: feminino de 1,0:0,95), contudo dentre os 30 pacientes com FHD, as mulheres representaram 70% dos casos (relação masculino:feminino de 0,42:1,0) apresentando uma diferença estatística ($p=0,029$; OR: 2,47; IC 95%: 1,01-6,18).

Entre os 93 casos de IDL, a média de idade foi de 38 anos com 45 pacientes do sexo masculino e 48 do sexo feminino (relação masculino:feminino de 0,94:1,0).

Diagnóstico laboratorial

Dos 211 casos confirmados de dengue o RT-PCR foi positivo em 124 (59%) e o isolamento em 60 (28%), todos do tipo dengue 3. Vinte amostras de pacientes, que foram submetidas ao RT-PCR e isolamento viral entre o sexto e o oitavo dia de doença, apresentaram resultados positivos em apenas 4 (20%) e 2 (10%) amostras respectivamente (Tabela 2).

A técnica de ELISA para IgM foi positiva em 178 pacientes (84%). A etiologia da dengue dos 33 (16%) pacientes negativos ao ELISA foi confirmada por RT-PCR ou isolamento. Quando a pesquisa de IgM específica contra a dengue foi realizada até o quinto

dia mostrou positividade de 42% (81/191) das amostras, atingindo valores superiores a 80% em amostras de 12 dias.

Tipo de infecção

A frequência de infecção secundária considerando todos os casos de dengue confirmados foi de 60% (127/211) (Tabela 1). Nos casos de FHD foi de 47% (14/30) e de DC foi de 62% (113/181), não havendo diferenças estatísticas ($p=0,1023$; OR: 0,53; IC 95%: 0,23-1,22). A presença de infecção secundária não foi fator de risco para as diferentes alterações laboratoriais hematológicas ou bioquímicas ($p<0,05$).

Manifestações clínicas

Na primeira consulta os pacientes apresentavam uma média de 4 dias de febre, Apenas 7 (4%) pacientes com dengue clássica confirmada não apresentaram febre.

A frequência de manifestações clínicas entre os 211 casos confirmados de dengue foi: febre (97%), cefaléia (92%), dor retro-orbitária (82%), mialgia (92%), astenia (99%), artralgia (77%), dor abdominal (49%), náuseas (85%), vômitos (35%), diarreia (36%), rash (72%), prurido (58%).

Não houve diferenças estatisticamente significativa da frequência de sintomas entre casos de DC e FHD (Tabela 3). Contudo, foi encontrada uma maior frequência de febre, náuseas, rash e prurido no grupo de pacientes com dengue em relação ao grupo com infecção dengue-like ($p<0,01$) (Tabela 4).

Manifestações hemorrágicas

A manifestação hemorrágica mais prevalente nos casos de dengue foi prova do laço positiva presente em 54 (27%) dos 200 pacientes testados (Tabela 5). A frequência da prova do laço positiva entre casos de FHD em adultos foi de 83% (25/30) enquanto que nos casos de DC foi de apenas 17% ($p<0,0001$; OR: 24,31; IC 95%: 7,49-79,63). A diferença da frequência de prova do laço entre os casos de DC e IDL também foi significativa ($p=0,003$; OR: 6,17; IC 95%: 1,73-26,22). A ausência de prova do laço apresentou VPN de 83% para FHD.

A manifestação hemorrágica espontânea mais prevalente nos pacientes com dengue foi a gengivorragia presente em 21 (10%) pacientes, seguida de sangramento nasal e

petéquias em 15 (7%), hemópticos em 7 (3%), enterorragia em 1 (0,5%), metrorragia em 3 (1%), hematúria em 2 (1%), melena em 2 (1%) e hematemese em 1 (0,5%). Contudo, não houve diferenças estatísticas na frequência destas manifestações entre os pacientes com FHD e DC. Por outro lado, a presença de petéquias foi a manifestação mais prevalente em DC quando comparada com o grupo IDL com uma diferença estatística ($p=0,039$; OR: 7,12; IC 95%: 0,95-148,06).

Não houve diferenças na prevalência de comorbidades entre os casos de FHD e DC ($p<0,05$). Entretanto, a HAS foi mais prevalente entre pacientes com DC quando comparado a IDL ($p=0,002$; OR: 1,52; IC 95%: 0,67-3,53) (Tabela 6).

Em uma análise multivariada prova do laço estava independentemente associada com FHD ($p <0,001$; OR: 24,02; IC 95%: 7,87-73,33).

Exames Laboratoriais

A presença de leucopenia não foi diferente entre os grupos com FHD e DC ($p>0,05$). Contudo, a presença de leucopenia foi mais prevalente no grupo de casos de DC (72%) quando comparados com os casos de IDL (43%) ($p<0,0001$; OR:3,47; IC 95%: 1,96-6,07) (Tabela 7).

Dos 211 pacientes com dengue, 158 (75%) apresentaram plaquetopenia inferior a $140 \times 10^3/\text{mm}^3$. Os pacientes com DC apresentaram uma incidência de plaquetopenia de 70% e uma diferença estatística em relação ao grupo com IDL ($p<0,0001$; OR: 4.39; IC 95%: 2,50-7.75). A frequência de pacientes com plaquetopenia menor ou igual a $100 \times 10^3/\text{mm}^3$ com DC foi de 37% e com IDL foi de 10% ($p<0,0001$, OR: 3,53; IC 95%: 1,75-7,23). Plaquetopenia inferior a $\leq 50 \times 10^3/\text{mm}^3$ ocorreu em 5 (2%), 3 (2%) e 1 (1%) dos pacientes com FHD, DC e IDL respectivamente (Tabela 7).

Dosagens sérica de transaminases foram realizadas em 201 pacientes com diagnóstico de dengue, com 179 (89%) apresentando valores de aspartato-aminotransferase (AST) acima do normal e 169 (84%) de alanina-aminotransferase (ALT). Não houve diferença estatística na frequência de elevação de aminotransferases entre os pacientes com DC e FHD (Tabela 7). Por outro lado, os níveis elevados de transaminases nos pacientes com DC apresentaram diferenças estatísticas quando comparados com os pacientes com IDL tanto para AST ($p<0,001$; OR: 11,16; IC 95% 5,67-22,16) como para ALT ($p<0,0001$; OR: 6,35; IC 95% 3,43-11,82). Foram observados níveis de AST 10 vezes acima do normal em 11(6%) de 171 pacientes testados com dengue clássica, e em três (10%) dos 30 pacientes com diagnóstico de FHD.

Os diferentes parâmetros laboratoriais foram comparados entre o grupo com DC e IDL e calculado os valores preditivos para a doença (Tabela 8). O valor preditivo positivo (VPP) e negativo (VPN) da AST >41U/mL para o diagnóstico de dengue foi de 0,80 e 0,74 respectivamente.

Em uma análise multivariada: náuseas (OR: 2,99, IC 95% 1,60-5,59, p=0,001), rash (OR: 4,62, IC 95% 2,64-8,08, p<0,001) plaquetopenia (OR: 2,83, IC 95% 1,53-5,26, p=0,001) e aspartado-aminotransferase (p=0,001; OR: 7,44; IC 95% 3,81-14,51,) estiveram independentemente associada com DC quando comparado com IDL.

Febre hemorrágica da dengue

Os pacientes com FHD apresentaram os níveis mais baixos de plaquetas entre o dia 2 e 9 de doença, com média no dia 5. Em apenas três casos o nadir ocorreu antes de 5 dias. A prova do laço foi o sangramento predominante e mesmo os sangramentos espontâneos como enterorragia e hematemesa foram de pequena monta, não sendo necessário hemotransfusão de plaquetas ou de concentrado de hemácias.

Hemoconcentração variou de 2,2 a 28,9%, com uma média de 13%. Apenas 7 (23%) pacientes com FHD apresentaram hemoconcentração maior ou igual a 20%. Dos 30 casos, 18 (60%) apresentaram hemoconcentração maior ou igual a 10%. Por outro lado, seis pacientes com DC apresentaram uma hemoconcentração maior ou igual a 20%. O atual ponto de corte de 20% para hemoconcentração apesar de ter mostrado uma alta especificidade (0,97), apresentou uma baixa sensibilidade (0,23).

A média de hematócrito na convalescência entre pacientes com dengue clássica e IDL foi de 38% e 41% para mulheres e homens respectivamente.

Hipoproteinemia e albuminemia foram detectadas em 28 casos (93%) de FHD, com valores médios de 5,6 mg/dl e 3,3mg/dl respectivamente. Entre 103 pacientes testados com dengue clássica, 13 (13%) apresentaram proteinemia e albuminemia abaixo do valor da normalidade, garantido ao teste uma sensibilidade de 0,93 e especificidade de 0,87.

DISCUSSÃO

Muitos dos estudos clínicos publicados no Brasil e no mundo têm sido realizados através de análise retrospectiva de casos de dengue atendidos em hospitais durante epidemias ou através da análise de banco de dados de sistemas oficiais de notificação de casos. Neste último tipo de estudo, apesar da existência de um instrumento padronizado para a coleta de dados nem sempre é possível garantir que os mesmos foram obtidos de

forma homogênea podendo levar a vieses de informação. Além disso, o risco de sub-notificação pode ser fonte de vieses de seleção.

As diferenças de metodologia dos estudos, aliado às características populacionais e variações de cepas causadoras da epidemia, justificam as diferenças de resultados em relação à pesquisa de sinais de alerta e dificultam a identificação de marcadores capazes de nortear e alertar o profissional de saúde sobre quais os pacientes estão em risco de evoluir para formas graves.

O presente estudo de coorte investigou as manifestações clínicas e laboratoriais em pacientes com DC e FHD de forma prospectiva, mediante entrevista para preenchimento de questionário padronizado, aliada a avaliação do médico minimizando eventuais fontes de vieses. Foram acompanhados pacientes com diferentes formas clínicas a nível ambulatorial e internados evitando comparações entre formas clássicas e FHD apenas em pacientes internados o que poderia levar a subestimar as diferenças, já que as formas de DC que necessitam internamento devem representar doentes com clínica mais intensa.

O estudo foi realizado em adultos por tratar-se da principal faixa etária acometida pela dengue em nossa região. O acometimento de dengue por faixa etária tem tido diferentes resultados dependendo da região estudada. Na Ásia predominam acometimento de faixa etária pediátrica, bem como as formas graves da doença^{35 41 7}. Em Cuba na epidemia de 1981 pelo DEN-2 observou-se maior prevalência de infecção e formas graves em crianças, com mudança de padrão na epidemia 2001-2002 pelo DEN-3 onde apenas 12% dos casos confirmados, na capital Havana, eram de pessoas com idade abaixo de 15 anos e todas as formas de FHD acometendo adultos¹¹. Resultados semelhantes de predomínio em adultos vem se repetindo em outras regiões das Américas^{14 8}. No Brasil em 1989 a entrada do DEN-2 em uma população com circulação prévia de DEN-1, diferente de Cuba, atingiu faixa etária de adultos o que pode ser justificado pela diferença das cepas circulantes nos dois países, *New Guinea* em Cuba e *Jamaica* no Brasil³¹. Entre 1986 a 2002 foram notificados 3.121.367 casos no Brasil, com aumento significativo de casos na recente epidemia de 2002 pelo DEN-3, com aproximadamente 50% de todos os casos ocorrendo em adultos de 20 a 40 anos³⁶.

Entre os casos de FHD identificamos um predomínio de doença menos intensa grau I e II (97%) e, apenas um caso foi categorizado como grau III. Nenhum caso de óbito foi observado, diferindo dos dados de notificação dos sistemas oficiais no Brasil que relatam uma letalidade para FHD em torno de 5,4% entre 1998 e 2002³⁶. Letalidade inferior a 0,02% foi relatada em Cuba na epidemia de 2001-2002 e mesmo na Ásia onde a prevalência de FHD é alta, a letalidade tem sido inferior a 1%^{41 18 32}. Estes níveis elevados de taxas de letalidade obtidos a partir dos sistemas oficiais de notificação no Brasil podem representar

víeis de seleção decorrente de uma possível subnotificação da doença no país, principalmente das formas mais leves, já que os casos mais intensos ou que evoluíram para óbito tendem a serem informados.

A baixa sensibilidade de detecção de casos através de sistema de vigilâncias oficiais tem sido relatada. Enquanto em Porto Rico, Dechant EJ obteve-se uma taxa de detecção de 42% para casos internados, o sistema de vigilância de dengue no Brasil apresentou uma sensibilidade de apenas 24,2%⁹. Esse estudo avaliou 266 prontuários de pacientes com dengue internados no Sistema Único de Saúde e comparou com o sistema oficial de notificação do Ministério da Saúde, o SINAM e encontrou uma diferença estatística ($p < 0,05$) expressa por uma sub-notificação de 37%. As chances de sub-registro foi de 2 a 4 vezes maior na ausência de sinais de alerta (OR: 2,08; IC 95%: 1,05-4,15), manifestações hemorrágicas (OR:2,8; IC 95%: 1,35-5,80), exames laboratoriais sugestivas de alteração permeabilidade capilar (OR:2,57; IC 95%: 1,24-4,10) ou ausência de registro da sorologia no prontuário (OR:4,22; 1,33-14,90), indicando que o sistema de notificação tende a registrar casos mais graves, podendo levar a superestimar a letalidade⁹. Essa sub-notificação é agravada pela dificuldade de acesso ao sistema de saúde e a pronta assistência médica.

Dos 30 pacientes adultos com FHD desta casuística, 16 (53%) apresentaram infecção primária, resultados bastante superiores aos relatados em outros países. Classicamente é aceito que mais de 90% dos casos de FHD ocorre após uma segunda infecção em consequência a resposta imune dependente de anticorpos^{5 12 16}. Foi relatada na Tailândia e em Cuba a ocorrência de infecção secundária em 100% (22/22) e 98% (201/205) dos casos de síndrome do choque da dengue (SCD)^{34 39}. Mais recentemente na Nicarágua, a infecção secundária foi um fator de risco associado a hemorragia interna (OR:2,99), contagem de plaquetas inferior a $50.000/\text{mm}^3$ (OR:2,68; IC 95%: 1,5-5,0) e a FHD/SCD (OR:2,06; IC 95%:1,1-3,9)¹³.

Casos de FHD associado a infecção primária por DEN-3 têm sido descritos e presentes em 15 a 20% dos casos^{28 14 1}. Murque B em um estudo retrospectivo detectou entre pacientes hospitalizados com FHD infecção primária em 18% (6/33) e 6% (1/16) em duas sucessivas epidemias decorrentes de dengue 3 e 2 respectivamente²⁸. Sorotipo responsável pela epidemia e variações genotípicas podem ser uma explicação para as diferenças na patogenicidade viral^{21 40 4}. Há quatro subtipos virais identificados dentro do sorogrupo DEN-3, classificados de I a IV. O vírus Taiti (1965) e Porto Rico (1963, 1977) são antigenicamente similares e classificados como subtipo IV e sempre estiveram associados a epidemias de dengue clássica. A epidemia da dengue no Taiti em 1989 foi causada pelo subtipo I (Indonésia, Malásia ou o Filipinas). Os vírus Srilanka de 1989 e 1991 foram associados a epidemias de FHD bem como o Índia 1990, classificados como subtipo III¹⁹. No

México entre 1984 a 1993 os casos de FHD eram esporadicamente relatados, com relatos de apenas 26 casos. Em 1994 foram notificados 30 casos de FHD, porém em 2005 com a entrada do DEN-3 houve um grande aumento de casos, com 358 casos de FHD notificados e uma letalidade de 7,8%⁴.

No Brasil um estudo de 37 óbitos em 2002, no estado do Rio de Janeiro, causado por DEN-3, 20 casos (54,1%) foram classificados como infecção primária, 9 (24,3%) como secundária e 8 (21,6%) como inconclusivos²⁹. A caracterização genética do vírus de um dos 37 óbitos de FHD revelou o genótipo subtipo III/Índia²³.

Na presente casuística não houve diferenças significativas na freqüência de manifestações clínicas entre pacientes com FHD e DC, portanto nenhum sintoma serviu como marcador de gravidade para FHD, independente do momento em que foi investigado, precocemente ou após 5 dias de doença. Entre os sinais de alerta associados ao maior risco de desenvolver FHD descritos nos *guidelines* estão a presença de vômitos, dor abdominal, hipotensão arterial, hepatomegalia dolorosa, presença de prova do laço positiva, hemorragias intensas^{42 24}. Porém estes resultados nem sempre tem sido reproduzidos na literatura.

Em uma casuística hospitalar em Singapura entre adultos, a presença de confusão, ausência de rash, taquicardia, anormalidades da função hepática, creatinina, albumina e tempo de protrombina foram estatisticamente mais freqüentes nos casos de óbito quando comparado com DC, após a análise multivariada, apenas taquicardia foi identificada como fator independentemente associado com mortalidade³⁰.

Em hospital da Sirilanka, Malavige GN em 2004, estudando 75 (69,4%) casos de FHD e comparando com 33 casos de DC, encontrou uma maior freqüência de hemorragias, melena, derrame cavitário, hepatomegalia, hipotensão e choque entre os pacientes com FHD ($p < 0.05$). Dos casos de FHD os graus I, II, III, IV estavam presentes em 33 (54,4%), 28 (37,4%), 10 (13,3) e 4 (5,3%) respectivamente. Observando-se portando um maior número de casos com doença mais intensa quando comparados com a nossa casuística²².

Um estudo de Casali CG em epidemia do Rio de Janeiro, Brasil, encontrou uma diferença estatisticamente significativa na incidência de mialgia (OR 1,39; IC 95% 1,03-1,87), náuseas (OR: 1,86; IC 95% 1,53-2,26), exantema (OR: 3,96; IC 95% 3,35-4,69), dor abdominal (OR: 1,59; IC 95% 1,35-1,87), petéquias (OR: 13,89; IC 95% 11,80-16,56) e epistaxe (OR: 14,89; IC 95% 12,44-17,83) entre pacientes com FHD quando comparado com DC diferindo substancialmente dos dados encontrados por nós e daqueles observados na literatura, podendo representar vieses relativos a obtenção de dados retrospectivos a partir do sistema de notificação nacional (SINAN). Um fato que sugere a presença de vieses a partir da análise deste tipo de banco de dados é que dos 54 óbitos confirmados como dengue, 23

(42%) foram classificados como DC o que provavelmente representa escassez de informações clínicas e laboratoriais dos casos, impedindo a correta classificação dos mesmos, dificultando as comparações. O estudo não classificou a FHD quanto à intensidade⁸. Toledo ALA, avaliando o Sistema de Informações de Agravos de Notificação do MS do Brasil, estudou 155.242 relatos de dengue digitados no sistema oriundos da epidemia de 2001 e 2002 no Rio de Janeiro. A proporção de casos com dados ignorados, portanto informação não disponível variou de 50% para febre a 63,5% para presença de exantema. Considerando dados laboratoriais a proporção de ignorados foi de: prova do laço (79,9%), hematócrito (83,9%), plaquetas (83,7%), sorologia (96,3%). Aproximadamente metade das 155.242 notificações compreendia diagnóstico ignorado. Dos 60 óbitos, 40% não preenchiam critérios clínicos no MS e eram na verdade inconclusivos quanto à forma clínica³⁸. Portanto reforça o fato que a qualidade de informação limita a utilidade deste sistema para análises de aspectos particularizados e principalmente comparativos entre diferentes formas clínicas.

O único fator associado a FHD na presente casuística foi uma prova do laço positiva, presente em 85% dos pacientes. Quando comparado dengue com outros quadros de IDL os resultados foram semelhantes. A ausência de prova do laço positiva foi um forte fator preditivo negativo para excluir FHD (VPN=0,97). Cao XT obteve diferentes resultados estudando especificamente a validade de prova do laço e encontrou para pacientes com dengue uma sensibilidade de 41% e especificidade de 94,4% quando comparados com casos de infecção sem dengue, com VPP e VPN de 98,3% e 17,3% respectivamente. Na comparação entre FHD e dengue clássica não houve diferenças⁶. Por outro lado, Wichmann O, entre 347 pacientes, encontrou uma maior prevalência entre FHD (76%) do que DC (58%), com uma diferença significativa ($p=0,003$)⁴¹.

A alta positividade da prova do laço entre os nossos casos de FHD, apesar de sua presença não ser específica, serve como um sinal de alerta e deve ser realizada rotineiramente como uma triagem e na presença do mesmo alertar ao médico para o risco do paciente vir a desenvolver FHD e, portanto, necessitando de um maior monitorização clínico-laboratorial.

Nesta coorte não houve diferença entre a presença de comorbidade e risco de desenvolver as formas graves. Contudo, a presença de comorbidade tem sido considerada por alguns autores como um fator de risco. Em Taiwan um estudo analisou 644 casos, com 95,5% de adultos, 412 com DC e 232 com FHD/SCD. A proporção de casos de FHD/SCD associados com DM, HAS, IR e idade acima de 65 anos foram significativamente ($p<0,05$) mais altos do que na DC 16,8% x 7,6%; 28,9% x 16,3%; 6,6 x 1,0 %; 22% x 9,5% respectivamente²⁰. Apesar de haver ainda poucos estudos tentando correlacionar presença

de co-morbidades com formas graves da dengue, o Ministério da Saúde do Brasil em seu último manual, baseado na experiência de especialistas, alerta para um grupo de pacientes com maior risco, associado à evolução desfavorável, necessitando de acompanhamento clínico diferenciado, que incluem os portadores de hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, asma brônquica, doenças hematológicas ou renais crônica, doença grave do sistema cardiovascular, doença ácido-péptica ou auto-imune²⁴.

Em nosso estudo aminotransferase estiveram freqüentemente elevadas nos casos de dengue (88%) e FHD (90%), diferindo da casuística de Kalayanaroj S que na Tailândia identificou em 60 crianças entre 6 meses a 14 anos elevação de transaminases em apenas 29% dos pacientes com dengue clássica, bem inferior aos 91% de anormalidades nos casos de FHD¹⁵. No estudo de Lee MS, os níveis de ALT (>100U/ml) foram significativamente ($p<0,05$) mais elevados nos casos de FHD/SCD (33,5%) do que nos casos de DC (16,3%), assim como a presença de dor abdominal foi maior nos casos graves (62,1) do que nos casos de DC (30,8). A baixa prevalência de elevação de aminotransferase na DC neste estudo contribui para que aminotransferases torna-se um fator de risco associado a FHD. A regressão logística múltipla mostrou que a elevação das aminotransferase (>100U/ml) era o fator independentemente ($p=0,045$; OR 2,38; IC 95%: 1,04-5,74) associado a FHD/SCD²⁰. Um estudo brasileiro envolvendo a análise de 1585 pacientes com dengue, com média de idade de 35,5 anos, identificou elevações de AST e ALT em 63,4% e 45% dos pacientes. Elevação de pelo menos uma das enzimas ocorreu em 47,2% (67/142) de casos com FHD e em 44,3% (639/1443) casos de DC³⁷. Neste estudo, apesar de uma menor incidência de anormalidades quando comparada com o nosso estudo, também não encontrou diferenças estatísticas entre os dois grupos. Na coorte apresentada, a elevação de AST foi mais freqüente a um nível médio de três vezes os valores normais. Elevações acima de 10 vezes o valor normal ocorreu em 11 (6%) dos 171 pacientes com DC, 3 (10%) deles com FHD testados para aminotransferases, padrão semelhante ao de outros estudos^{17 20}.

Há na literatura poucos estudos que buscam identificar marcadores capazes de diferenciar Dengue de outras infecções virais agudas. O percentual de confirmação de dengue na presente casuística entre casos suspeitos foi de 65%, com valores que atingiram 84% em mês de grande epidemia e de 21% apenas de positividade em mês fora de epidemia. Os sintomas não permitem diferenciar os casos de dengue de outras infecções agudas que acometem a população, e esta diferença de acertos entre diferentes meses do ano, demonstra que os dados epidemiológicos, caracterizando a circulação do vírus nestes períodos, em paciente com clínica dengue-like é que leva ao aumento das chances de acerto diagnóstico.

As diferenças relativas às manifestações clínicas foram pequenas, com apenas rash e náuseas estando mais frequentes entre adultos com DC do que com IDL com OR de 4,72 e 2,92 respectivamente. Os exames complementares mostraram-se úteis na diferenciação entre pacientes com DC e IDL; seja pelas alterações de aminotransferase (OR:11,16), de leucopenia (OR:3,53) ou plaquetopenia (OR:4,39) mais intensas entre pacientes com DC do que IDL. A presença de plaquetas menor de 100.000 é um forte fator preditivo positivo para dengue clássica (VPP = 0,84), bem como aminotrasferase acima de 100U/mL (VPP = 0,80) e leucopenia menor de 3.000 (VPP = 0,84).

Ao utilizarmos hemoconcentração, definida como um aumento de 20% no hematócrito, para caracterizar alteração de permeabilidade vascular entre os adultos obtivemos apenas 23% de positividade nos casos classificados como FHD (7/30). Estes valores mais baixos pode também ter ocorrido em virtude das formas leves da doença, com apenas 01 caso grau III. A dosagem de proteína/albumina sérica seriada desde a admissão até a convalescença, detectou queda abaixo do limite da normalidade em 28 casos (93%) com FHD caracterizando alteração de permeabilidade vascular e mostrou uma alta sensibilidade e especificidade.

A baixa positividade na detecção de hemoconcentração maior ou igual a 20%, em casos de FHD, tem sido descrito na literatura. É possível que hemoconcentração baseado no atual ponto de corte seja mais sensível em graus mais intensos da doença. Kalayanarooj detectou hemoconcentração maior ou igual a 20% em apenas 12 (48%) de 25 pacientes classificados como FHD, 78% deles classificados em grau I e II. Porém mesmo em casos graves há falhas diagnóstica, como demonstrado na análise de 54 óbitos confirmados como dengue no Rio de Janeiro, Brasil, onde 23 (42%) foram classificados como dengue clássica, reforçando a dificuldade para, mesmo em doença grave, preencher os rígidos critérios da OMS⁸. Da mesma forma, a análise dos óbitos por dengue em Recife, Nordeste do Brasil em 2002, mostrou que de 14 casos apenas 5 (36%) preencheram todos os critérios da OMS para FHD. Hemoconcentração \geq 20% acima dos valores normais para idade e sexo foi positivo em 6 de 13 pacientes que realizarão dosagem de hematócrito seriado. Contudo, os pacientes evoluíram com quadros compatíveis com FHD pois apresentaram hipotensão e choque decorrente de alterações de permeabilidade capilar, alguns com hemorragias que agravaram o quadro²⁷.

É importante considerar que os resultados dos dois estudos brasileiros podem ser decorrentes em parte da metodologia, que utilizaram uma análise retrospectiva a partir de fichas de sistemas oficiais de notificação de casos. Este tipo de análise está sujeito em nossa região a vícios de classificação, decorrente frequentemente da escassez de informações clínicas e laboratoriais nas fichas de notificação, impedindo a correta classificação dos mesmos. Além disto pode também representar a dificuldade na realização

de exames seriados em algumas unidades de saúde. Um outro fator limitante quando se utiliza a hemoconcentração além da dificuldade de se preencher um ponto de corte superior a 20%, é o desconhecimento do valor do hematócrito basal, que será definido muitas vezes no momento da alta quando superado a hemoconcentração.

Rigau-Perez JG investigou uma possível modificação do ponto de corte da hemoconcentração em 915 pacientes, sendo 818 definidos como DC e 97 FHD. Considerando um ponto de corte de 10% ou mais na hemoconcentração, foi possível redefinir como FHD 192 casos, praticamente dobrando o número de casos inicial. Por outro lado, os autores não utilizaram outros métodos de diagnóstico, como USG e a dosagem de albumina sérica capazes de confirmar alteração de permeabilidade capilar nos 95 casos novos de FHD após mudança do ponto de corte³³. Uma análise recente de 35 casos de FHD na Índia detectou hemoconcentração acima de 20% em 20 pacientes (57,14%), enquanto a presença de derrame cavitário para definir extravasamento vascular foi detectado em 32 (91,4%), sugerindo que o ponto de corte de 20% necessita ser validado³. O valor basal de hemoconcentração utilizado neste artigo foi obtido de uma mostra de pacientes submetidos a cirurgias eletivas, podendo gerar vieses de seleção e não permitindo extrapolar para a população geral².

Muitas regiões do mundo desconhecem a média de hematócrito de sua população, como é o caso do Brasil, um país com extenso território e regiões com diferentes realidades sócio-econômicas. Zagne SMO em epidemia no Rio de Janeiro considerou como critério de hemoconcentração um hematócrito acima de 45%. Neste caso o autor utilizou um mesmo hematócrito para homens e mulheres. Se utilizarmos este critério entre adultos do sexo masculino, na nossa casuística mais 21 casos classificados como FHD, poderíamos portanto superestimar os dados, aliado a queda de especificidade⁴⁴. Mas recentemente o MS do Brasil sugeriu em algoritmo de condutas que na ausência de exames seriados e do valor basal deve-se considerar aumento de 20% se o hematócrito for superior a 42%, 45% e 50% para crianças, mulheres e homens respectivamente²⁴. Se considerarmos esta última análise teríamos apenas 05 pacientes do sexo masculino adultos com HT acima de 50% e apenas quatro deles com plaquetas abaixo de 100.000 teriam o diagnóstico de FHD. Para as mulheres um HT acima de 45% ocorreu em 07 pacientes apenas 02 delas apresentavam plaquetopenia que permite-se classificá-las em FHD, portando subestimando e caindo a sensibilidade de detecção de casos de FHD.

Fato curioso é que se utilizarmos a média de hematócrito basal, dos casos desta coorte com infecção aguda (DC+IDL) de 38% e 41% respectivamente, para mulheres e homens como referência, um aumento de 20% corresponderia exatamente aos dados aleatórios utilizados pelo MS para definição de hemoconcentração. Fazendo uma outra interpretação dos resultados é que estes valores de hemoconcentração estimados para

população e utilizado pelo MS, correspondam a realidade da nossa população e sua limitação está no elevado ponto de corte de 20% sugerida pela OMS para definição de casos, levando a subestimar os resultados como demonstramos nesta casuística.

Em uma epidemia no Recife (2002) estudamos 14 casos de FHD que foram avaliados para os diferentes critérios relacionados a alteração de permeabilidade capilar. A utilização de apenas hemoconcentração identificou 64% dos casos o que poderia ter levado a subnotificação. Ao incluir dosagem sérica de albumina e realização de USG aumentou-se a sensibilidade de detecção dos casos. Hipoalbuminemia foi detectada em 10 pacientes (71%) e derrame cavitário visualizado ao USG em 9 casos (64%). Portanto, a utilização de dosagem sérica de albumina e USG sensibilizou a detecção de alterações de permeabilidade capilar, permitindo a notificação de mais 5 casos como FHD (Brito C: comunicação pessoal).

Faz-se necessário portanto estudos com maior número de casos para rediscutir os critérios utilizados pela OMS, principalmente redefinindo o ponto de corte utilizado para hemoconcentração, validando-o com os outros métodos de diagnósticos como USG de alto custo, porém não invasivo ou dosagem sérica de albumina que são fáceis de realizar, tem baixo custo e poderá servir como marcador mais precoce de casos de FHD.

REFERÊNCIAS

1. Anantapreecha S, Chanama S, A-nuegoonpipat A, Naemkhunthot S, Sa-NGasang A, Sawanpanyalert P, Kurane I. Serological and virological features of dengue fever and dengue haemorrhagic fever in Thailand from 1999 to 2002. *Epidemiol Infect* 133:503-507, 2005.
2. Balasubramanian S, Anandnathan K, Shivbalan S, Datta M, Almaraj E. Cut off hematocrit for hemoconcentration in dengue hemorrhagic fever. *Journal Tropical Pediatrics* 50:123-124, 2004.
3. Balasubramanian S, Janakiraman L, Kumar SS, Muralinath S, Shivbalan S. A reappraisal of criteria to diagnose plasma leakage in dengue hemorrhagic fever *Indian Pediatrics* 43:334-339, 2006.
4. Briseño-García B; Gómez-Dantés H, Ramírez E, Montsano R, Vázquez-Martínez AL, Ibáñez-Bernal S, Madgal-Ayala G, Ruíz-Matus C, Flisses A, Tapia-Conyer R. Potential risk for dengue hemorrhagic fever: the isolation of serotype Dengue-3 in Mexico. *Emerg Infect Dis* 2:133-135, 1996.
5. Burke DS, Nisalak A, Johnson DE, Scott RM. A prospective study of dengue infections in Bangkok. *Am Soc Trop Med Hyg* 38:172-180, 1988.

6. Cao XT, Ngo TN, Wills B, Kneen R, Nguyen TT, Ta TT, Tran TT, Doan TK, Solomon T, Simpson JA, White NJ, Farrar JJ. Evaluation of the World Health Organization standard tourniquet test and a modified tourniquet test in the diagnosis of dengue infection in Viet Nam. *Trop Med Int Health* 7(2):125-132, 2002.
7. Carlos CC, Oishi K, Cinco MT, Mapua CA, Inoue S, Cruz DJ, Pancho MA, Tanig CZ, Matias RR, Morita K, Natividad FF, Igarashi A, Nagatake T. Comparison of clinical features and hematologic abnormalities between dengue fever and dengue hemorrhagic fever among children in the Philippines. *Am J Trop Med Hyg* 73:435-440, 2005.
8. Casali CG, Pereira MR, Santos LM, Passos MN, Fortes Bde P, Ortiz Valencia LI, Alexandre Ade J, Medronho Rde A. The epidemic of dengue and hemorrhagic dengue fever in the city of Rio de Janeiro, 2001/2002. *Rev Soc Bras Med Trop* 37:296-299, 2004.
9. Duarte HHP, França EB. Qualidade dos dados da vigilância epidemiológica da dengue em Belo Horizonte, MG. *Ver Saúde Pública* 40:134-142, 2006.
10. Guzman MG, Kouri G. Dengue and dengue hemorrhagic fever in the Americas: lessons and challenges. *Journal Clinical Virology* 27:1-13, 2003.
11. Guzman MG, Pelaez O, Kouri G, Quintana I, Vazquez S, Penton M, Avila LC; Grupo Multidisciplinario para el Control de la Epidemia de Dengue 2001-2002. Final characterization of and lessons learned from the dengue 3 epidemic in Cuba, 2001-2002. *Rev Panam Salud Publica* 19:282-289, 2006.
12. Halstead LA. Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. *Science* 239:476-481, 1998.
13. Hammond SN, Balmaseda A, Perez L, Tellez Y, Saborio SI, Mercado JC, Videa E, Rodriguez Y, Perez MA, Cuadra R, Solano S, Rocha J, Idiaquez W, Gonzalez A, Harris E. Differences in dengue severity in infants, children, and adults in a 3-year hospital-based study in Nicaragua. *Am J Trop Med Hyg* 73:1063-1070, 2005.
14. Harris E, Videa E, Perez L, Sandoval E, Tellez Y, Perez ML, Cuadra R, Rocha J, Idiaquez W, Alonso RE, Delgado MA, Campo LA, Acevedo F, Gonzalez A, Amador JJ, Balmaseda A. Clinical, epidemiologic, and virologic features of dengue in the 1998 epidemic in Nicaragua. *Am J Trop Med Hyg* 63:5-11, 2000.
15. Kalaynarrooj S, Vaughn DW, Nimmannitya S. Early Clinical and Laboratory Indicators of Acute Dengue Illness. *J Infect Dis* 176:313-321, 1997.
16. Kliks SC, Nimmannitya S, Nisalak A, Burke DS. Evidence that maternal dengue antibodies are important in the development of dengue hemorrhagic fever in infants. *Am J Trop Med Hyg* 38:411-419, 1988.
17. Kuo C-H, Tai D-I, Chang-Chien C-S, Chi-Kin L, Chiou S-S, Liaw Y-F. Liver biochemical and Dengue Fever. *American journal Tropical medicine and hygiene* 47:265-270, 1992.

18. Lai PC, Lee SS, Kao CH, Chen YS, Huang CK, Lin WR, Wann SR, Lin HH, Yen MY, Liu YC. Characteristics of a dengue hemorrhagic fever outbreak in 2001 in Kaohsiung. *J Microbiol Immunol Infect* 37:266-270, 2004.
19. Lanciotti RS, Lewis, Gubler DJ, Trent DW. Molecular evolution and epidemiology of dengue-3 viruses. *Journal of General Virology* 75:65-75, 1994.
20. Lee MS, Hwang KP, Chen TC, Lu PL, Chen TP. Clinical characteristics of dengue and dengue hemorrhagic fever in a medical center of southern Taiwan during the 2002 epidemic. *J Microbiol Immunol Infect* 39:121-129, 2006.
21. Leitmeyer KC, Vaughn DW, Watts DM, Villalobos I, Ramos C, Rico-Hesse R. Dengue virus structural differences that correlate with pathogenesis. *J Virol.* 73:4738-4747, 1999.
22. Malavige GN, Velathanthiri VG, Wijewickrama ES, Fernando S, Jayaratne SD, Aaskov J, Seneviratne SL. Patterns of disease among adults hospitalized with dengue infections. *Q J Med* 99:299-305, 2006.
23. Miagostovich MP, Santos FB, Fumian TM, Guimarães FR, Costa EV, Tavares FN, Coelho JO, Nogueira RMR. Complete genetic characterization of a Brazilian dengue type 3 strain isolation from a fatal outcome. *Mem Inst Osv Cruz* 101:307-313, 2006.
24. Ministério da Saúde do Brasil. Dengue: diagnóstico e manejo clínico. 2ª edição:01-24, 2005.
25. Ministério da Saúde, DATASUS. www.datasus.gov.br. 2007
26. Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde. Dengue: diagnóstico e manejo clínico. 1ª edição:01-12, 2002.
27. Montenegro D; Lacerda HR, Lira TM, Oliveira DSC, Lima AAF, Guimarães MJB, Vasconcelos PG. Aspectos clínicos e epidemiológicos da epidemia de dengue no Recife, PE, em 2002. *Rev Soc Bras de Med Tropical* 39:9-13, 2006.
28. Murgue B, Deparis X, Chungue E, Cassar O, Roche C. Dengue: an evaluation of dengue severity in French Polynesia based on an analysis of 403 laboratory-confirmed cases. *Trop Med Int Health* 4:765-773, 1999.
29. Nogueira RM, Schatzmayr HG, Filippis AM, Santos FB, Cunha RV, Coelho JO, Souza LJ, Guimarães FR, Araújo ES, Simone TS, Baram M, Teixeira G, Miagostovich MP. Dengue virus infection type 3, Brazil, 2002. *Emerg Infect Dis*, 9:1376-1381, 2005.
30. Ong A, Sandar M, Chen MI, Sin LY Fatal dengue hemorrhagic fever in adults during a dengue epidemic in Singapore. *Int J Infect Dis*. Aug 7; [Epub ahead of print], 2006.
31. Pan American Health Organization. Dengue e dengue hemorrhagic fever in the Americas: an overview of the problem. *Epidemiol Bull* 13:1-2,1992.
32. Rahman M, Rahman K, Siddique AK, Shoma S, Kamal AH, Ali KS, Nisaluk A, Breiman RF. First outbreak of dengue hemorrhagic fever, Bangladesh. *Emerg Infect Dis* 8:738-740, 2002.

33. Rigau-Perez JG; Bonilla GL. An Evaluation of Modified Cases Definitions for the Detections of Dengue Hemorrhagic Fever. *P R Health Sci J* 18:347-52, 1999.
34. Sangkawibha N, Rojanasuphot, Ahandrik S, Viriyapongse S, Jatanasen S, Salitul V, Phanthumachinda B, Halstead SB. Risk factors in dengue hock syndrome: a prospective epidemiologic study in Rayong, Thailand. *Am J Epidem* 120:653-669, 1984.
35. Shah I, Deshpande GC, Tardeja PN. Outbreak of dengue in Mumbai and predictive markers for Dengue Shock Syndrome. *J Tropical Pediatrics* 50;301-305, 2004.
36. Siqueira JB Jr, Martelli CM, Coelho GE, Simplicio AC, Hatch DL. Dengue and Dengue hemorrhagic fever, Brazil, 1981-2002. *Emerg Infect Dis* 11:48-53, 2005.
37. Souza LJ, Alves JG, Nogueira RMR, Bastos DA, Siqueira WS, Souto JTD, Cezário TA, Soares CE, Carneiro RC. Aminotransferase changes acute hepatitis in patients with dengue fever : analysis of 1585 cases. *The Brazi J Infect Dis.* 8:156-163, 2004.
38. Toledo ALA, Escostroguy CC, Medronho RA, Andrade FC. Confiabilidade do diagnóstico final de dengue na epidemia 2001-2002 no município do Rio de Janeiro, Brasil. *Cad Saud Publ* 22:933-940, 2006.
39. Valdes L, Guzman MG, Kouri G, Delgado J, Carbonell I, Cabrera MV, Rosario D, Vazquez S. Epidemiology of dengue and hemorrhagic dengue in Santiago, Cuba 1997. *Rev Panam Salud Publica.* 6:16-25, 1999.
40. Watts DM, Porter KR, Putvatana P, Vasquez B, Calampa C, Hayes CG, Halstead SB. Failure of secondary infection with American genotype 2 to cause dengue haemorrhagic fever. *The Lancet.* 354:1431-1434, 1999.
41. Wichmann O, Hongsiriwon S, Bowonwatanuwong C, Chotivanich K, Sukthana Y, Pukrittayakamee S. Risk factors and clinical features associated with severe dengue infection in adults and children during the 2001 epidemic in Chonburi, Thailand. *Trop Med Int Health* 9:1022-1029, 2004.
42. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2ª edição:01-75, 1997.
43. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidelines for Treatment of Dengue Fever/Dengue hemorrhagic fever in small hospitals. New Delhi 01-33, 1999.
44. Zagne SM, Alves VG, Nogueira RM, Miagostovich MP, Lampe E, Tavares W. Dengue haemorrhagic fever in the state of Rio de Janeiro, Brazil: a study of 56 confirmed cases. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 88:677-679, 1994.

Tabela 1. Características clínico-epidemiológicas dos casos confirmados de dengue atendidos em dois hospitais do Recife, Brasil entre 2004 e 2006.

	FHD	DC	Total
N de pacientes suspeitos	34	287	321
Diagnóstico descartado (%)	4 (12)	106 (37)	110 (34)
Diagnóstico confirmado (%)	30 (88)	181 (63)	211 (66)
Sexo – Masculino	9	93	
Feminino	21	88	
Relação Masc/Fem	0,42:1,0	1,0:0,95	
Idade (média)	39	36	38
Infecção primária, N (%)	16 (53)	68 (38)	84
Infecção secundária, N (%)	14 (47)*	113 (62)	127

*p=0,1023, OR: 0,53, IC 95%, 0,23-1,22

Tabela 2. Positividade de diferentes métodos de diagnóstico da dengue obtidos em amostras de soro de 211 pacientes com dengue em fase aguda atendidos em dois hospitais do Recife, Brasil entre 2004 e 2006.

Método de diagnóstico	Período da coleta	N amostras testadas	Positivo (%)
RT-PCR	Total	211	124 (59)
	≤5 dias	191	120 (63)
	>5 dias	20	4 (20)
Isolamento viral	Total	211	60 (28)
	≤5 dias	191	58 (31)
	>5 dias	20	02 (10)
Sorologia (IgM)	Total	211	178 (84)

Tabela 3. Manifestações clínicas em adultos atendidos em dois hospitais do Recife (Brasil) entre 2004 e 2006, com diagnóstico de Dengue Clássica e Febre Hemorrágica do Dengue.

Sinal e sintoma N (%)	FHD 30 (100)	DC 181 (100)	OR	IC 95%	p
Febre	30 (100)	175 (97)	-	-	0,5974
Cefaléia	29 (97)	166 (92)	2,62	0,34 - 55,18	0,4790
Dor retro-ocular	27 (90)	146 (81)	2,16	0,58 - 9,48	0,2177
Mialgia	29 (97)	165 (91)	2,81	0,37 - 59,00	0,4771
Astenia	30 (100)	179 (99)	-	-	1,0000
Artralgia	25 (83)	137 (76)	1,61	0,54 - 5,11	0,3585
Dor abdominal	19 (63)	84 (46)	1,99	0,84 - 4,78	0,0858
Náuseas	29 (97)	150 (83)	5,99	0,82 - 122,56	0,0553
Vômitos	12 (40)	62 (34)	1,28	0,54 - 3,02	0,5413
Diarréia	14 (47)	61 (34)	1,72	0,74 - 4,02	0,1694
Rash	17 (57)	134 (74)	0,46	0,19 - 1,09	0,0508
Prurido	19 (63)	104 (57)	1,28	0,54 - 3,07	0,5456

Tabela 4. Manifestações clínicas em adultos atendidos em dois hospitais do Recife (Brasil) entre 2004 e 2006, com diagnóstico de Dengue Clássica e “Infecção Dengue-Like”.

Sinal e sintoma N(%)	Dengue 181(100)	IDL 93 (100)	OR	IC 95%	p
Febre	175 (97)	81 (87)	4,32	1,44 - 13,46	0,002
Cefaléia	166 (92)	83 (89)	1,33	0,53 - 3,32	0,502
Dor retro-ocular	146 (81)	69 (74)	1,45	0,77 - 2,73	0,217
Mialgia	165 (91)	83 (89)	1,24	0,50 - 3,06	0,609
Astenia	179 (99)	88 (95)	5,09	0,85 - 38,66	0,047
Artralgia	137 (76)	67 (72)	1,21	0,66 - 2,21	0,512
Dor abdominal	84 (46)	44 (47)	0,96	0,57 - 1,64	0,887
Náuseas	150 (83)	58 (62)	2,92	1,59 - 5,38	<0,001
Vômitos	62 (34)	27 (29)	1,27	0,72 - 2,27	0,382
Diarréia	61 (34)	29 (31)	1,12	0,63 - 1,99	0,674
Rash	134 (74)	35 (38)	4,72	2,68 - 8,37	<0,001
Prurido	104 (57)	34 (37)	2,34	1,36 - 4,06	0,001

Tabela 5. Manifestações hemorrágicas em adultos atendidos em dois hospitais do Recife (Brasil) entre 2004 e 2006, com diagnóstico de Febre Hemorrágica do Dengue, de Dengue Clássica e “infecção Dengue-Like”.

Manifestação hemorrágica N (%)	FHD	DC	IDL
Induzida	30	170	93
Prova do laço	25 (83) [#]	29 (17) [*]	3 (3)
Espontânea	30	181	93
Petéquias	2 (7)	13 (7)	1 (1)
Gengivorragia	5 (17)	16 (9)	4 (4)
Hemoptoicos	2 (7)	5 (3)	2 (2)
Hematemese	1 (3)	0 (0)	1 (1)
Enterorragia	1 (3)	0 (0)	1 (1)
Melena	0 (0)	2 (1)	0 (0)
Metrorragia	1 (3)	2 (1)	1 (1)
Hematúria	1 (3)	1 (1)	1 (1)
Sangramento nasal	2 (7)	13 (7)	3 (3)

[#] p<0,0001, OR: 24,31, IC 95%: 7,49-79,63 para FHD x DC;

^{*}p=0,003, OR: 6,17, IC 95%: 1,73-26,22 para DC x IDL

Tabela 6. Frequência de comorbidades em adultos atendidos em dois hospitais do Recife (Brasil) entre 2004 e 2006, com diagnóstico de Febre Hemorrágica do Dengue, de Dengue Clássica e “infecção Dengue-Like”.

Comorbidades	FHD	DC	IDL
N(%)	30 (100)	181 (100)	93 (100)
HAS	4 (13)	28 (18)*	10 (11)
Diabetes	0	3 (2)	0
Cardiopatia	3 (10)	4 (2)	3 (3)
Asma	3 (10)	6 (3)	4 (4)
Lupus	0	0 (0)	2 (2)
Câncer	0	1 (1)	2 (2)
AIDS	0	1 (1)	0
Virus B ou C	0	1 (1)	0
Transplante	0	2 (1)	2 (2)

*p=0,002, OR: 1,52, IC 95%: 0,67-3,53 entre DC x IDL

Tabela 7. Alterações laboratoriais em pacientes adultos atendidos em dois hospitais do Recife (Brasil) entre 2004 e 2006, com diagnóstico de Febre Hemorrágica do Dengue, de Dengue Clássica e “infecção Dengue-Like”.

	FHD	DC	IDL
Leucocitos (n)	30	181	93
Variação	780-8860	1200-14.240	1050 – 10.990
Média	3206	3501	4643
$\leq 4 \times 10^3$	20 (67)	131 (72)*	40 (43)
Plaquetas (n)	30	181	93
Variação x 10^3	37 - 99	30 - 138	41 - 139
Média	70.142	96.453	106.060
$<140 \times 10^3$	30 (100)	128 (70) [§]	33 (36)
$\leq 100 \times 10^3$	30 (100)	66 (37) [#]	13 (10)
Aminotransferases (n)	30	171	91
AST Média	179	135	76
Valor Máximo	870	929	775
$> 41 \text{U/mL}$ (%)	27 (90)	152 (88) ^α	38 (40)
ALT Média	194	145	92
Valor Máximo	539	919	800
$n > 41 \text{U/mL}$ (%)	26 (87)	143 (84) ^{&}	41 (39)

* $p < 0,0001$; OR:3,47, IC 95%: 1,96-6,07 x IDL; [§] $p < 0,0001$, OR: 4,39, IC 95%: 2,50-7,75) x IDL; [#] $p < 0,0001$, OR: 3,53, IC 95%: 1,75-7,23 x IDL; ^α $p < 0,0001$, OR: 11,16, IC 95% 5,67-22,16 x IDL. [&] $p < 0,0001$, OR: 6,35, IC 95%: 3,43-11,82

ALT= alanina-aminotransferase, AST= aspartato-aminotransferase

Tabela 8. Valores preditivos positivos (VPP) e negativos (VPN) de achados laboratoriais utilizados na caracterização de pacientes com dengue comparado ao grupo IDL.

Achado	VPP	VPN
Plaquetas		
plaquetopenia	0,80	0,53
plaquetopenia <100.000	0,84	0,41
Leucócitos		
<4000	0,77	0,51
<3000	0,84	0,46
Aspartato aminotransferase		
>41	0,80	0,74
>60	0,82	0,58
>100	0,80	0,44

Carlos Brito
Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – Fiocruz
Av. Moraes Rego, S/N, Campus da UFPE,
Cep.:50670-420, Recife, Pernambuco, Brasil
Fax: +55 (81) 32227305

Padrões clínicos de dengue na cidade do Recife, Brasil: uma comparação entre crianças e adultos.

Clinical profile of dengue and DHF in the city of Recife, Brazil: a comparison between children and adults.

Carlos A.A. Brito^{1,2}, Maria de Fátima M.P. Albuquerque^{1,2} and Norma Lucena-Silva^{1,3}.

¹Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/Fundação Instituto Oswaldo Cruz, Recife, PE.

²Departamento de Medicina Clínica/UFPE, Recife, PE. ³Instituto Materno Infantil Prof. Fernando Figueira, PE. Address to: Dr. Carlos Brito. Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães/FIOCRUZ. Av. Moraes Rego, S/N, campus da UFPE, Cidade Universitária, 50670-420 Recife, PE, Brazil;

e-mail: cbrito@cpqam.fiocruz.br Tel: 55 81 2122-4764.

RESUMO

A dengue (DC) e a febre hemorrágica do dengue (FHD) têm acometido predominantemente crianças no Sudeste da Ásia e Oeste do Pacífico, diferindo do padrão das Américas que atinge principalmente adulto. Há poucos estudos de coortes prospectivas nestas regiões avaliando o padrão clínico da faixa etária pediátrica e comparando com o de adultos. Entre 2004 e 2006 realizamos um estudo prospectivo em três hospitais na cidade do Recife, Nordeste do Brasil envolvendo 422 pacientes que se submeteram as avaliações clínicas e laboratoriais. Dengue foi confirmada laboratorialmente em 211 pacientes adultos e 65 crianças. FHD foi mais prevalente entre adultos (30/211) do que em crianças (1/65) (OR:10,55; p=0,005). Infecção secundária esteve presente em 43% das crianças e em 60% dos adultos (OR:2,0; p=0,015;). Comparando-se as manifestações clínicas apenas dor retro-ocular, mialgia e artralgia foram mais prevalentes entre adultos e vômitos entre crianças (p<0,05). Detectamos uma maior chance de adultos com dengue clássica desenvolver doença mais intensa do que crianças quando analisado plaquetopenia menor que 140.000/mm³ (OR:5,72; p<0,000), leucopenias inferior a 4.000 cels/μl (OR:2,31; p=0,005) e aspartato-aminotransferase elevadas (OR: 5,26; p<0,001). Estes resultados evidenciam um padrão de manifestações clínicas semelhante para dengue clássica entre as diferentes faixas etárias, porém a baixa prevalência de casos de FHD e de anormalidades laboratoriais

entre a faixa etária pediátrica quando comparada com adultos indicam um padrão de doença com caráter mais benigno entre crianças na nossa região.

Palavras-chaves: Dengue. Febre hemorrágica da dengue. Crianças. Brasil.

ABSTRACT

Dengue and dengue hemorrhagic fever (DHF) predominantly affect children in southeastern Asia and the western Pacific, among whom it is a significant cause of death. In this, their pattern differs from what is seen in the Americas, where mainly adults are affected. There are few prospective cohort studies in these regions for assessing the clinical pattern among the pediatric age group and making comparisons with adults. Between 2004 and 2006, we carried out a prospective study in three hospitals in the city of Recife, northeastern Brazil, involving 422 patients who underwent clinical and laboratory evaluations. Dengue was confirmed by laboratory tests in 211 adult patients and 65 children. DHF was more prevalent among adults (30/211) than among children (1/65) (OR: 10.55; $p=0.005$). Secondary infection was present in 43% of the children and in 60% of the adults (OR: 2.0; $p=0.015$). Comparing the clinical manifestations, only retroocular pain, muscular pain and arthralgia were more prevalent among adults and vomiting among children ($p<0.05$). Adults with classical dengue were found to have a greater chance of developing more severe disease than were children, from analysis of platelet counts lower than $140,000/\text{mm}^3$ (OR: 5.72; $p<0.000$), leukocytes lower than $4,000 \text{ cels}/\mu\text{l}$ (OR: 2.31; $p=0.005$) and aspartate-aminotransferase increased (OR: 5.26; $p<0.001$). These results show that the clinical manifestations of classical dengue have similar patterns in different age groups. However, the low prevalence of DHF cases and laboratory abnormalities among the pediatric age group, in comparison with adults, indicate that the disease pattern among children in our region has a more benign nature.

Key-words: Dengue. Dengue hemorrhagic fever. Children. Brazil.

A dengue é uma arbovirose que re-emergiu como um grave problema de saúde pública em todo o mundo, atingindo milhões de pessoas, associado a uma redução do intervalo entre as epidemias e aumento do número de casos da forma hemorrágica da doença³⁵.

Na Ásia a doença tem acometido predominantemente crianças, que apresentam as formas graves da doença^{28 34 3}. Nas Américas esse padrão clínico-epidemiológico tem tido comportamento diferente acometendo predominantemente adulto^{4 6 7}.

Os motivos para as diferenças de padrões de acometimento e gravidade, em diferentes faixas etárias, ainda não estão esclarecidos, podendo ser dependente da presença de infecções prévias, de virulência de cepas ou da resposta imune do hospedeiro.

No período de 2000 a 2004, o Brasil foi responsável por 70% dos casos de dengue relatados na região das Américas²⁹. Na grande epidemia de 2002 de um total de 688.604 casos notificados a faixa etária acima de 15 anos representou 83 % dos casos e entre os 2.715 casos de FHD, 85 % ocorreram entre adultos. Pernambuco foi o segundo estado do país com o maior número de casos (n=101.871)²¹.

Apesar do crescente número de casos nesta região não há estudos de coorte avaliando o padrão clínico da faixa etária pediátrica e comparando com o de adultos. Neste artigo descrevemos achados clínicos, epidemiológicos e laboratoriais de 422 casos de uma coorte em andamento envolvendo adultos e crianças.

MATERIAIS E MÉTODOS

Entre fevereiro de 2004 e julho de 2006, na cidade do Recife, capital do estado de Pernambuco, localizado no Nordeste do Brasil, a partir de uma coorte prospectiva foi estudada uma amostra composta por voluntários recrutados no serviço de urgência de dois hospitais gerais privados da cidade, Hospital Santa Joana e Hospital Esperança e um hospital de pediatria público, o Instituto Materno Infantil Professor Fernando Figueira (IMIP). O projeto foi aprovado pelo Conselho Nacional de Ética em pesquisa-CONEP (Registro:4909).

Foram incluídos os pacientes de qualquer idade considerados com quadro clínico compatível com o diagnóstico dengue – casos suspeitos - após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido pelo responsável legal.

Foram excluídos os pacientes que após a primeira coleta desistiram de participar do estudo ou não compareceram para coletas subseqüentes, ou que não tenham realizado exames laboratoriais.

Os pacientes foram avaliados clínica e laboratorialmente no primeiro dia do atendimento e subseqüentemente quando necessário. Amostras de sangue foram coletadas na fase aguda da doença, na convalescença e após 6 meses. Foi considerado faixa etária pediátrica os pacientes até 14 anos e adultos com 15 anos ou mais.

Considerou-se caso suspeito os pacientes que apresentavam doença febril aguda com duração máxima de 7 dias, acompanhado de pelo menos dois dos seguintes sintomas: cefaléia, dor retroorbital, mialgia, artralgia, prostração, exantema. Considerou-se caso confirmado aquele com resultado positivo por sorologia, PCR ou isolamento viral.

Os casos com diagnóstico de febre hemorrágica da dengue (FHD) foram assim classificados seguindo os critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS): 1. Presença de febre por 7 dias ou menos; 2. Trombocitopenia $\leq 100.000/mm^3$; 3. Manifestação hemorrágica; 4. Extravasamento de plasma devido ao aumento da permeabilidade capilar representado por hemoconcentração ($\geq 20\%$) ou presença de derrame pleural, ascite ou hipoproteinemia/hipoalbuminemia.

Após preencherem os critérios da OMS para FHD os pacientes foram classificados de acordo com a intensidade da doença de Grau I a IV segundo critérios da OMS.

Dengue clássica (DC) foi considerado todo paciente confirmado laboratorialmente e que não preenchia os critérios para FHD.

O estudo desenvolvido foi analisado como uma série de casos com grupos de comparação internos (adultos e crianças).

Diagnóstico laboratorial. *Isolamento e identificação viral*: O vírus dengue foi isolado através da inoculação de 20 μ l de amostra de soro de paciente na fase aguda da doença em uma monocamada de células C6/36 de mosquito *Aedes* mantidas em meio Leibovitz's L-15 (GIBCO, Invitrogen Co., Grand Island, New York) suprido com 2% de soro fetal bovino. As células foram coletadas após 10 dias de incubação a 28°C e submetidas a ensaios de imunofluorescência para detecção da partícula viral. O vírus foi identificado com anticorpo monoclonal anti-dengue sorotipo específico e anticorpo anti-camundongo conjugado com fluoresceína.

Reação em cadeia da polimerase pós-transcrição reversa (RT-PCR): O RNA viral foi extraído a partir de amostras de soro infectado usando o kit QIAquick PCR Purification (QIAGEN Inc. Valencia, CA). A RT-PCR em dois passos aninhados foi realizada em toda primeira amostra de cada paciente conforme descrito por Lanciotti et al. Em resumo, cópias de cDNA correspondente a região do capsídeo/pré-membrana do genoma viral foram

produzidas e amplificadas usando dois inicializadores consenso desenhados para anelar com qualquer dos quatro sorotipos do vírus dengue. O passo seguinte da amplificação com inicializadores tipo-específico resulta na síntese de fragmentos de DNA de tamanhos diferentes, característicos de cada sorotipo que podem ser analisados diretamente em gel de agarose a 2% corados com brometo de etídeo e visualizados sob luz ultravioleta. Material genético de vírus dengue previamente purificados e quantificados foi incluído na reação como controle positivo. A reação na ausência de amostra clínica foi usada como controle negativo.

Sorologia: Um total de 422 amostras de soro foram submetidas à detecção de anticorpos específicos IgM e IgG. ELISA de captura com IgM anti-dengue (Bio-Manguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Brazil) foi executado de acordo com instruções do fabricante. Os resultados foram interpretados como negativo ou positivo de acordo com o manual do usuário que acompanha o produto. ELISA indireta com IgG (PanBio, Pty., Ltd., Brisbane, Australia) foi realizada seguindo as recomendações do fornecedor. Em resumo, 100µl de soros infectados e controles diluídos 1:100 foram adicionados nos poços de uma placa contendo uma combinação de antígenos imobilizados na sua superfície. Após a incubação a 37°C, por 30 min, a placa foi lavada com tampão PBS e 100µl de anti-IgG humana conjugada com peroxidase foi adicionada em cada poço e incubado por 30 min a 37°C. Após nova lavagem 100µl do substrato (tetramethylbenzidine/hydrogen peroxidase) foi adicionado em cada poço. Após 10 min a reação foi finalizada com a adição de 100µl por poço de 1M de ácido fosfórico e a absorbância lida no comprimento de onda de 450nm. Os resultados foram calculados e interpretados como negativo ou positivo de acordo com as instruções do fabricante. As Unidades da IgG de dengue PANBIO foram calculadas pela divisão da absorbância da amostra pelo valor de ponto de corte e então, multiplicando este valor por 10 (Unidade de referência da IgG). A classificação da resposta a infecção primária ou secundária da dengue foi baseada na cinética de IgM e IgG de acordo com o seguinte critério:

Padrão de Referência:

Infecção Primária (P): A infecção primária da dengue foi definida pela ausência de anticorpo IgG específico anti-dengue na primeira amostra de soro do paciente durante a fase aguda, enquanto IgM, isolamento viral, e detecção de genoma viral foram detectados seguidos pela presença de IgG anti-dengue vírus na amostra de soro do referido paciente na fase de convalescença.

Infecção Secundária (S): A infecção secundária da dengue foi definida pela detecção de anticorpo IgG específico anti-dengue na primeira amostra de soro do paciente na ausência

de IgM anti-dengue, associado ao isolamento viral e/ou a detecção do genoma viral pela RT-PCR. A amostra do soro do referido paciente na fase de convalescença pode apresentar anticorpo IgM anti-dengue.

Outros exames laboratoriais: Foi ainda realizado hemograma (Sistema automático Celldyn 3.500-ABBOT, com avaliação em microscopia convencional), dosagem de proteína sérica (Biureto), albumina (Verdebromocresou), e aminotransferases (Método cinético-UV).

RESULTADOS

Entre fevereiro de 2004 e julho de 2006, 480 pacientes com suspeita de dengue foram convidados a participar desta coorte após serem atendidos nos três hospitais, e serem submetidos a exames laboratoriais. Desses, 58 foram excluídos da análise por terem desistido de participar do estudo ou porque realizaram apenas uma primeira avaliação clínico-laboratorial. A população do estudo constituiu-se então de 422 pacientes.

A faixa etária variou de 1 a 86 anos, com média de idade entre crianças de 9 anos e de 38 anos para adultos. Dos 422, 386 foram considerados casos suspeitos de Dengue Clássica e 36 suspeitos de FHD, sendo confirmados laboratorialmente 245 (64%) e 31 (86%) respectivamente para DC e FHD. Dos 276 pacientes com dengue 65 (24%) eram crianças e 211 (76%) adultos (Tabela 1).

Dos 146 casos negativos laboratorialmente para dengue, 128 foram considerados como infecção viral aguda autolimitada, sem confirmação laboratorial específica, destes 93 eram adultos e 35 crianças. Apenas uma criança apresentava febre de origem indeterminada e 17 adultos tiveram outros diagnósticos: Infecção do trato urinário sem disúria (9), Epstein Barr (1), HVA (2), HIV (1), Sepsis por gram-positivos (1), Leptospirose (1), Sinusite (1), Pneumonia (1).

Dengue clássica foi diagnosticada em 89% (245/276) dos casos e FHD em 11% (31/276). Uma (2%) entre 65 crianças e 30 (14%) entre 211 adultos evoluíram com quadro de FHD uma diferença estatisticamente significativa ($p < 0,01$; OR:10,55; IC 95%: 1,49-221,13). A criança com FHD foi classificada em grau I e dos 30 casos entre adultos, 21 (70%) eram classificados em graus I, 8 (27%) grau II e 1 (3%) grau III.

Dos 276 casos confirmados, 135 eram homens e 141 mulheres (0,96:1,0), sem diferenças significativas da razão de sexo por faixa etária (masculino:feminino=1,0:0,97 para crianças 0,94:1,0, versus para adultos, $p=0,85$).

Diagnóstico laboratorial

Dos 276 casos confirmados o RT-PCR foi positivo em 144 (52%) e o isolamento viral em 66 (24%), todos do tipo dengue 3. Trinta e cinco pacientes realizaram RT-PCR e isolamento viral entre o sexto e oitavo dia de doença, com 10 (29%) e 3 (9%) positivos respectivamente (Tabela 2).

ELISA IgM foi positivo em 238 pacientes (86%) e os 38 (14%) negativos foram confirmados por RT-PCR ou isolamento viral, destes 33 eram adultos e 5 crianças.

Tipo de infecção

Infecção secundária ocorreu em 56% (155/276) dos pacientes. Na faixa etária pediátrica e entre adultos a infecção secundária ocorreu em 43% (28/65) e 60% (127/211) respectivamente ($p=0,015$; OR:2,0; IC 95%: 1,10-3,65) (Tabela 1).

A frequência de infecção secundária nos casos de FHD foi de 48% (15/31) e nos de DC foi de 57% (140/245), não havendo diferença estatística ($p=0,3546$; OR: 0,70; IC 95%: 0,31-1,58). A presença de infecção secundária não esteve associada com nenhuma das alterações laboratoriais hematológicas ou bioquímicas ($p>0,05$).

Manifestações clínicas

Os pacientes apresentavam na primeira consulta uma média de 3,8 dias de febre, sendo de 4,5 dias para as crianças e de 4 para os adultos. Apenas 7 (3%) pacientes, todos adultos, com dengue clássica confirmada não apresentaram febre (Tabela 3).

Foram comparados os sintomas entre crianças e adultos com dengue clássica, detectando-se uma maior frequência de vômitos entre crianças (OR:2,99; IC 95%: 1,60-5,63, $p<0,001$), estando a presença dor retro-orbitária (OR: 3,24; IC 95%: 1,67-6,30, $p<0,001$), mialgia (OR:5,04; IC 95%:2,28-11,27, $p<0,001$) e artralgia (OR:1,87; IC 95%: 0,97-3,59; $p=0,04$) mais frequentes entre adultos.

Foram avaliados ainda entre as crianças a presença de irritabilidade, sonolência e choro fácil, que esteve presente em 15 (23%) casos, 33 (52%) e 15 (23%) respectivamente.

A presença de um único caso de FHD entre as crianças não permitiu comparações das formas graves da doença entre as diferentes faixas etárias. A criança com FHD, uma menina de 10 anos apresentou febre, cefaléia, mialgia, dor retro-orbitária, mialgia, astenia, náuseas, vômitos, diarreia e rash, estando ausentes artralgia, dor abdominal e prurido.

Manifestações hemorrágicas

Entre as manifestações hemorrágicas a mais prevalente foi prova do laço positiva presente em 57 (22%) dos 264 pacientes testados (Tabela 4). A prova do laço foi mais freqüente em adultos (17%) do que em crianças (5%) com DC (OR: 4,13; IC 95% 1,16-17,93; p= 0,014;). Da 64 crianças com dengue clássica, 24 (37%) apresentavam alguma manifestação hemorrágica: sangramento nasal esteve presente em 9 (14%) casos, prova do laço e gengivorragia ocorreu em 3 (5%) pacientes cada, 2 (3%) casos de petéquias espontâneas e 01 (2%) caso de hematêmese de pequena monta. Apenas hemopticos presente em 6 (9%) dos pacientes foi mais freqüente do que em adultos com dengue clássica, com uma diferença significativa (OR:3,64; IC 95%: 0,94-14,39; p=0,038).

Exames Laboratoriais

O grupo com dengue maior de 14 anos apresentava freqüência de leucopenia superior ao grupo pediátrico com um OR de 2,31 (IC 95%:1,23-4,35; p=0,005). Se considerarmos níveis mais baixos de leucopenia inferior a 3.000 cels/ μ l as diferenças se ampliam, apresentando um OR de 3,38 (IC 95%: 1,69-5,32; p=0,001). A criança com FHD apresentou 2.390 cels/ μ l, com 29% segmentados, 46% linfócitos típicos, 10% de atípicos e 14% de monócitos.

Quando analisado a freqüência de plaquetopenia $\leq 140 \times 10^3$, nos casos de dengue clássica entre adultos e crianças, houve uma incidência de 721% (128/181) e 31% (19/64) respectivamente (OR: 5,72; IC:2,94-11,23, p<0,001). Avaliando níveis mais intensos de plaquetopenia $\leq 100 \times 10^3$, 7 crianças (11%) e 66 (37%) adultos apresentavam níveis menor ou igual a 100.000/mm³ (OR:4,67; 1,91-11,93 p<0,001). A única criança com FHD apresentou plaquetopenia de 85 x10³/mm³ (Tabela 5).

Anormalidades de aspartato aminotransferase foram detectadas em 60% das 58 crianças e em 88% de 171 adultos com dengue clássica que realizaram dosagem das enzimas, uma diferença significativa (OR: 5,26; IC 95%: 2,44-11,38; p<0,001). Na análise de alanina aminotrasferases a freqüência foi de 31% (18/58) e 84% (84/143) respectivamente para adultos e crianças (OR:11,35; IC 95%: 5,42-24,05; p<0,001).

DISCUSSÃO

Este estudo de coorte investigou as manifestações clínicas e laboratoriais em pacientes com DC e FHD de forma prospectiva, mediante entrevista para preenchimento de questionário padronizado, aliada a avaliação do médico, minimizando eventuais fontes de vieses.

Nosso estudo teve uma amostra predominante de adultos. Dos 276 casos confirmados, 211 (76%) eram maiores de 15 anos e 65 (24%) eram crianças, seguindo o padrão descrito no Brasil.

O acometimento de dengue por faixa etária tem tido diferentes resultados dependendo da região estudada. Hamond SN realizou um estudo em três hospitais da Nicarágua durante um período de 3 anos, dos 1.671 casos 79% eram crianças, com a faixa etária entre 5 e 9 anos responsável por 58% de todos os casos⁹. Um outro estudo na Tailândia, realizado entre 1999 e 2002, envolvendo 2.233 pacientes, com predomínio da faixa etária entre 6-10 anos, apenas 133 eram adultos¹. Na Ásia predominam acometimento de faixa etária pediátrica, bem como as formas graves da doença^{28 9 3}.

Porém este padrão clínico-epidemiológico de dengue nas Américas tem tido comportamento diferente. Em Cuba na epidemia de 1981 pelo DEN-2 observou-se maior prevalência de infecção e formas graves em crianças, com mudança de padrão na epidemia 2001-2002 pelo DEN-3 onde apenas 12% dos casos confirmados, na capital Havana, eram de pessoas com idade abaixo de 15 anos e todas as formas de FHD acometendo adultos⁷.

Resultados semelhantes de predomínio em adultos vêm se repetindo em outras regiões das Américas¹⁰. No Brasil em 1989, a entrada do DEN-2 em uma população com circulação prévia de DEN-1, diferiu de Cuba e atingiu adultos, o que pode ser justificado pela diferença das cepas circulantes nos dois países, *New Guinea* em Cuba e *Jamaica* no Brasil²⁵. Entre 1986 a 2002 foram notificados no Brasil 3.121.367, com aproximadamente 50% de todos os casos ocorrendo na faixa etária de 20 a 40 anos²⁹.

Houve apenas um caso de FHD entre crianças na nossa casuística, predominado a forma grave entre os adultos com 30 casos ($p < 0,05$). A experiência com formas graves no Brasil tem sido obtida a partir de casos em adultos. Em 2002 por exemplo a taxa de incidência de FHD foi de 12,9/100.000 habitantes (2.714 casos), com uma média de idade entre estes casos de 33 anos²⁹.

Nossos dados diferem de casuísticas da Ásia onde as formas graves da doença têm sido freqüentemente descritas em crianças^{28 3}, mesmo em populações onde diferentes faixas etárias são acometidas^{34 18}. No estudo de Malvigie GN, em epidemia por Dengue-3, 35% (30/86) das crianças desenvolveram choque quando comparado com 19% (14/75) dos adultos ($p < 0,001$)¹⁸. Hamond SN, na Nicarágua, avaliando a prevalência de manifestações clínicas associadas a gravidade como choque, extravasamento plasmático, pronunciada

trombocitopenia e hemorragia interna, encontrou mais alta prevalência em crianças menores, estando presente um ou mais destes sintomas em 64%, 55% e 36% das lactente, crianças e adultos respectivamente. Dos 13 óbitos, 10 (77%) ocorreram entre crianças⁹.

Em nosso estudo infecção secundária esteve mais prevalente em adultos (60%) quando comparados com criança (43%) o que poderia justificar a presença de formas mais graves na faixa etária acima de 14 anos. Infecções secundárias classicamente estiveram associadas a FHD, como demonstrado por Wichman O, na Thailandia, que detectou entre 287 crianças uma maior proporção de infecção secundária entre casos de FHD quando comparado com DC (87% x 13%, $p < 0,001$), com um OR de 3,12³⁴. No estudo de Anantapreecha S, envolvendo predominantemente faixa etária pediátrica, infecção secundária esteve presente em 86% (1.256/1.446) dos casos de FHD¹.

Porém dos 31 pacientes com FHD desta casuística, 16 (52%) apresentavam infecção primária, resultados bastante superiores aos relatados em outros países. Uma resposta imune dependente de anticorpos aumentada após uma segunda infecção tem sido utilizada para explicar o surgimento das formas graves da doença na maioria dos casos de FHD independente de faixa etária^{8 12}.

Sangkawibha N na thailândia, e Valdez L em Cuba, detectaram respectivamente infecção secundária em 100% (22/22) e 98% (201/205) dos casos de síndrome do choque da dengue (SCD)^{27 32}.

Essas diferenças de resultados podem ser dependentes do sorotipo causador da epidemia. Casos de FHD associado a infecção primária por DEN-3 têm sido descritos e presentes em 15 a 21% dos casos^{23 10 1}. Murque B em um estudo retrospectivo detectou entre pacientes hospitalizados com FHD infecção primária em 18% (6/33) e 6% (1/16) em duas sucessivas epidemias decorrentes de DEN-3 e 2 respectivamente²³. Entre 1.446 casos de FHD, Anantapreecha S, detectou a presença de infecção primária em 20%, 2%, 21% e 3% dos pacientes infectados com DEN-1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4 respectivamente¹.

Variações genotípicas e diferenças estruturais podem ser uma explicação para as diferenças na patogenicidade^{17 19 33 2}. Há atualmente 4 subtipos identificados dentro do sorogrupo DEN-3 classificados de I a IV. Alguns deles como vírus Taiti (1965) e Porto Rico (1963, 1977) que são antigenicamente similares e classificados como subtipo IV sempre estiveram associados a epidemias de dengue clássica. Os vírus Sirilanka 1989 e 1991 estiveram associados a epidemias de FHD bem como o Índia 1990, classificados como subtipo III¹⁵.

No Brasil um estudo de 37 óbitos em 2002, no estado do Rio de Janeiro, causado por DEN-3, 20 casos (54,1%) foram classificados como infecção primária, 9 (24,3%) como secundária e 8 (21,6%) como inconclusivos, corroborando com os nossos resultados²⁴. Nossos resultados alerta para o fato que formas graves da doença não estão relacionadas com o tipo de infecção, portanto ocorrer em infecções primárias.

Infecções secundárias também não estiveram associadas na nossa casuística a riscos de plaquetopenias, leucopenias ou elevações de transaminases mais intensas quando comparados com os pacientes com infecção primária, reforçando na nossa região que o tipo de infecção tem pouco impacto na evolução do quadro.

Se comparado às manifestações clínicas de dengue clássica entre crianças e adultos observou-se apenas uma maior frequência de dor retroorbitária ($p=0,001$), e mialgia em adultos ($p<0,001$). Estas diferenças podem se dever ao fato de que tais queixas são difíceis de serem expressas por crianças menores. Prova do laço foi mais freqüente em adultos (OR: 4,18; IC 95%; 1,16-17,93,) e hemoptóicos em crianças (OR: 0,038; IC 95%: 0,07-1,06). Em virtude de termos tidos apenas um caso de FHD nesta faixa etária, não foi possível fazer comparações.

No Brasil não há estudos comparando os fatores de risco entre diferentes faixas etárias e são poucos os artigos na literatura internacional. Whicmann O, em 2001 na Thailandia, analisou 287 crianças e 60 adultos, sendo 170 (59%) e 49 (82%) delas com FHD respectivamente. Nenhuma diferença significativa foi observada entre os casos de FHD e DC tanto para adultos como para as crianças, exceto prova do laço positiva mais freqüente em FHD do que DC (76% x 58%, $p=0,003$). Porém quando se comparou os casos de SCD ($n=40$) com todos os outros sem choque ($n=307$), houve uma maior frequência ($p<0,05$) de hepatomegalia, dor abdominal superior, elevação de transaminases e hemoconcentração. Neste estudo entre as crianças com FHD, grau I, II e SCD estavam presentes em 90 (53%), 48 (28%), 32 (19%) e entre os adultos em 13 (24%), 29 (59%), 08 (16%)³⁴.

Comparando-se nossos resultados com um estudo Brasileiro, realizado por Rodrigues MB em hospital pediátrico de Minas Gerais, sudeste do Brasil, envolvendo 57 crianças encontramos uma maior frequência na nossa casuística com uma diferença significativa ($p<0,05$) para: cefaléia (84,4% x 62,7%; OR:3,21; IC:1,27-8,29), dor retro-orbitária (56,3% x 29,3%; OR:3,18; IC 95% 1,41-7,22); mialgia (67,2% x 39,7%; OR:3,20; IC 95%: 1,24-7,20); astenia (95,3 x 79,7%; OR: 5,19; IC 95% 1,26-24,72); artralgia (62,5% x 19%; OR:7,27; IC:2,96-18,23); dor abdominal (53,1% x 23,7%; OR:3,64; IC 95%: 1,57-8,55); exantema (65,6% x 28,8%; OR:4,72; IC 95%: 2,06-10,94). Dos casos com PCR positivo, 80% eram por DEN-2. Não há relato no estudo de casos de FHD reforçando o

padrão menos intenso da doença no país²⁶. As diferenças de manifestações clínicas podem ter sido dependentes do sorotipo ou de fatores do hospedeiro, reforçando que em um país com extensas dimensões territoriais, diferentes condições sócio-econômicas tais diferenças podem coexistir.

Não houve nenhum caso de óbito na presente casuística, sugerindo a presença de doença menos intensa no nosso meio. Contudo este fato pode ter ocorrido em virtude do número de casos reduzidos de FHD e por tratar-se de três hospitais considerados de alta complexidade e associada a um melhor padrão de assistência médica.

A letalidade entre casos de FHD tem sido bastante variável em diferentes regiões do mundo nas diferentes faixas etárias, com resultados superiores a 3%^{14 16 18 28 23} e outros menores de 1%^{3 34 7}. No Brasil um levantamento a partir dos dados de notificação dos sistemas oficiais entre 1998 e 2002 detectou letalidade de 5,4%²⁹. Na epidemia de 2002 por DEN-3, de um total de 686.305 casos, 2.727 foram classificados como FHD com letalidade de 4,5% (124/2.727). Entre adultos, estes percentuais de letalidade foram maiores quando comparados com as crianças, com valores de 5% (114/2.299) e 2,4% (10/416) respectivamente²¹.

Estes altos índices brasileiros a partir dos sistemas oficiais de notificação podem representar falhas decorrentes de vieses de seleção devido a provável sub-notificação da doença no país, principalmente das formas mais leves, já que os casos mais intensos ou que evoluíram para óbito tendem a serem informados. Estudos avaliando o sistema de notificação oficial encontraram uma baixa sensibilidade do SINAM, com uma taxa de detecção de casos de 42% e uma chance de sub-registro de 2 a 4 vezes maior para as formas leves da doença⁵.

Na nossa casuística aspartato-aminotransferase (AST) apresentou níveis elevados elevada em 60% dos casos de dengue clássica entre crianças e 88% entre adultos, e para ALT de 31 e 84% para crianças e adultos com dengue clássica respectivamente. Kalayanarooj S, na Tailândia, avaliou 60 crianças entre 6 meses a 14 anos, detectando elevação de aminotransferases em 29% dos pacientes com dengue clássica e 91% dos casos de FHD¹¹. Um outro estudo em faixa etária pediátrica, aminotransferases estiveram elevadas em 33,5% dos casos de FHD/SCD e em 16,3% dos com dengue clássica¹⁶, valores inferiores ao da nossa casuística.

Dois estudos brasileiros avaliaram a frequência de anormalidades de transaminases entre adultos. Souza LJ estudou 1.585 pacientes com dengue, com média de idade de 35,5 anos, e identificou elevações de AST e ALT em respectivamente 63,4% e 45% dos pacientes³⁰ e Uehara PM estudando 41 adultos com FHD detectou elevação de AST em 80,5% e de ALT em 61% dos pacientes³¹.

Além da baixa prevalência de casos de FHD entre crianças, detectamos uma maior chance de adultos com dengue clássica desenvolver doença mais intensa do que crianças quando analisado plaquetopenia menor que 140.000 (OR:5,72, $p<0,000$), leucopenias inferior a 4.000 (OR:2,31; $p=0,005$) e transaminases elevadas (OR:4,65), reforçando um padrão de doença menos intensa entre crianças na nossa região.

Estudos avaliando a resposta imune e de sequenciamento viral na nossa região poderam no futuro esclarecer as diferenças de resultados entre faixas etárias e entre diferentes regiões do mundo.

REFERÊNCIAS

45. Anantapreecha S, Chanama S, A-nuegoonpipat A, Naemkhunthot S, Sa-NGasang A, Sawanpanyalert P, Kurane I. Serological and virological features of dengue fever and dengue haemorrhagic fever in Thailand from 1999 to 2002. *Epidemiol Infect* 133:503-507, 2005.
46. Briseño-García B; Gómez-Dantés H, Ramírez E, Montsano R, Vázquez-Martínez AL, Ibáñez-Bernal S, Madrgal-Ayala G, Ruíz-Matus C, Flisses A, Tapia-Conyer R. Potential risk for dengue hemorrhagic fever: the isolation of serotype Dengue-3 in Mexico. *Emerging Infectious Disease* 2:133-135, 1996.
47. Carlos CC, Oishi K, Cinco MT, Mapua CA, Inoue S, Cruz DJ, Pancho MA, Tanig CZ, Matias RR, Morita K, Natividad FF, Igarashi A, Nagatake T. Comparison of clinical features and hematologic abnormalities between dengue fever and dengue hemorrhagic fever among children in the Philippines. *Am J Trop Med Hyg* 73:435-440, 2005.
48. Casali CG, Pereira MR, Santos LM, Passos MN, Fortes Bde P, Ortiz Valencia LI, Alexandre Ade J, Medronho Rde A. The epidemic of dengue and hemorrhagic dengue fever in the city of Rio de Janeiro, 2001/2002. *Rev Soc Bras Med Trop* 37:296-299, 2004.
49. Duarte HHP, França EB. Qualidade dos dados da vigilância epidemiológica da dengue em Belo Horizonte, MG. *Ver Saúde Pública* 40:134-142, 2006.
50. Guzman MG, Kouri G. Dengue and dengue hemorrhagic fever in the Americas: lessons and challenges. *Journal of Clinical Virology* 27:1-13, 2003.
51. Guzman MG, Pelaez O, Kouri G, Quintana I, Vazquez S, Penton M, Avila LC; Grupo Multidisciplinario para el Control de la Epidemia de Dengue 2001-2002. Final

- characterization of and lessons learned from the dengue 3 epidemic in Cuba, 2001-2002. *Rev Panam Salud Publica* 19:282-289, 2006.
52. Halstead. Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. *Science* 239:476-481, 1998.
 53. Hammond SN, Balmaseda A, Perez L, Tellez Y, Saborio SI, Mercado JC, Videa E, Rodriguez Y, Perez MA, Cuadra R, Solano S, Rocha J, Idiaquez W, Gonzalez A, Harris E. Differences in dengue severity in infants, children, and adults in a 3-year hospital-based study in Nicaragua. *Am J Trop Med Hyg* 73:1063-1070, 2005.
 54. Harris E, Videa E, Perez L, Sandoval E, Tellez Y, Perez ML, Cuadra R, Rocha J, Idiaquez W, Alonso RE, Delgado MA, Campo LA, Acevedo F, Gonzalez A, Amador JJ, Balmaseda A. Clinical, epidemiologic, and virologic features of dengue in the 1998 epidemic in Nicaragua. *Am J Trop Med Hyg* 63:5-11, 2000.
 55. Kalaynarooj S, Vaughn DW, Nimmannitya S. Early Clinical and Laboratory Indicators of Acute Dengue Illness. *J Infect Dis* 176:313-321, 1997.
 56. Kliks SC, Nimmannitya S, Nisalak A, Burke DS. Evidence that maternal dengue antibodies are important in the development of dengue hemorrhagic fever in infants. *Am J Trop Med Hyg* 38:411-419, 1988.
 57. Kuo C-H, Tai D-I, Chang-Chien C-S, Chi-Kin L, Chiou S-S, Liaw Y-F. Liver biochemical and Dengue Fever. *American journal Tropical medicine and hygiene* 47:265-270, 1992.
 58. Lai PC, Lee SS, Kao CH, Chen YS, Huang CK, Lin WR, Wann SR, Lin HH, Yen MY, Liu YC. Characteristics of a dengue hemorrhagic fever outbreak in 2001 in Kaohsiung. *J Microbiol Immunol Infect* 37:266-270, 2004.
 59. Lanciotti RS, Lewis, Gubler DJ, Trent DW. Molecular evolution and epidemiology of dengue-3 viruses. *Journal of General Virology* 75:65-75, 1994.
 60. Lee MS, Hwang KP, Chen TC, Lu PL, Chen TP. Clinical characteristics of dengue and dengue hemorrhagic fever in a medical center of southern Taiwan during the 2002 epidemic. *J Microbiol Immunol Infect* 39:121-129, 2006.
 61. Leitmeyer KC, Vaughn DW, Watts DM, Villalobos I, Ramos C, Rico-Hesse R. Dengue virus structural differences that correlate with pathogenesis. *J Virol* 73:4738-4747, 1999.
 62. Malavige GN, Velathanthiri VG, Wijewickrama ES, Fernando S, Jayaratne SD, Aaskov J, Seneviratne SL. Patterns of disease among adults hospitalized with dengue infections. *Q J Med* 99:299-305, 2006.
 63. Miagostovich MP, Santos FB, Fumian TM, Guimarães FR, Costa EV, Tavares FN, Coelho JO, Nogueira RMR. Complete genetic characterization of a Brazilian dengue type

- 3 strain isolation from a fatal outcome. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 101:307-313, 2006.
64. Ministério da Saúde do Brasil. Dengue: diagnóstico e manejo clínico. 2ª edição:01-24, 2005.
65. Ministério da Saúde, DATASUS. www.datasus.gov.br. 2007
66. Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde. Dengue: diagnóstico e manejo clínico. 1ª edição:01-12, 2002.
67. Murgue B, Deparis X, Chungue E, Cassar O, Roche C. Dengue: an evaluation of dengue severity in French Polynesia based on an analysis of 403 laboratory-confirmed cases. Trop Med Int Health 4:765-773, 1999.
68. Nogueira RM, Schatzmayr HG, Filippis AM, Santos FB, Cunha RV, Coelho JO, Souza LJ, Guimarães FR, Araújo ES, Simone TS, Baram M, Teixeira G, Miagostovich MP. Dengue virus infection type 3, Brazil, 2002. Emerg Infect Dis, 9:1376-1381, 2005.
69. Pan American Health Organization. Dengue e dengue hemorrhagic fever in the Americas: an overview of the problem. Epidemiol Bull 13:1-2,1992.
70. Rodrigues MBP, Freire HBM, Corrêa PRL, Mendonça ML, Silva MRIS, França EB. Is it possible to identify dengue in children on basis of Ministry of Health criteria for suspected dengue cases. Jornal de Pediatria 81:209-215, 2005.
71. Sangkawibha N, Rojanasuphot, Ahandrik S, Viriyapongse S, Jatanasen S, Salitul V, Phanthumachinda B, Halstead SB. Risk factors in dengue shock syndrome: a prospective epidemiologic study in Rayong, Thailand. American Journal of Epidemiology 120:653-669, 1984.
72. Shah I, Deshpande GC, Tardeja PN. Outbreak of dengue in Mumbai and predictive markers for Dengue Shock Syndrome. J Tropical Pediatrics 50:301-305, 2004.
73. Siqueira JB Jr, Martelli CM, Coelho GE, Simplicio AC, Hatch DL. Dengue and Dengue hemorrhagic fever, Brazil, 1981-2002. Emerg Infect Dis 11:48-53, 2005.
74. Souza LJ, Alves JG, Nogueira RMR, Bastos DA, Siqueira WS, Souto JTD, Cezário TA, Soares CE, Carneiro RC. Aminotransferase changes acute hepatitis in patients with dengue fever : analysis of 1585 cases. The Brazilian Journal of Infectious Disease. 8:156-163, 2004.
75. Uehara PM, Cunha RV, Pereira GRO, Oliveira PA. Envolvimento hepático em pacientes com dengue hemorrágico: manifestação rara?. Rev Soc Brasil Med Trop 39:544-547, 2006.

76. Valdes L, Guzman MG, Kouri G, Delgado J, Carbonell I, Cabrera MV, Rosario D, Vazquez S. Epidemiology of dengue and hemorrhagic dengue in Santiago, Cuba 1997. *Rev Panam Salud Publica*. 6:16-25, 1999.
77. Watts DM, Porter KR, Putvatana P, Vasquez B, Calampa C, Hayes CG, Halstead SB. Failure of secondary infection with American genotype 2 to cause dengue hemorrhagic fever. *The Lancet*. 354:1431-1434, 1999.
78. Wichmann O, Hongsiriwon S, Bowonwatanuwong C, Chotivanich K, Sukthana Y, Pukrittayakamee S. Risk factors and clinical features associated with severe dengue infection in adults and children during the 2001 epidemic in Chonburi, Thailand. *Trop Med Int Health* 9:1022-1029, 2004.
79. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Dengue hemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2ª edição:01-75, 1997.

Tabela 1. Características clínico-epidemiológicas dos casos confirmados de dengue entre adultos e crianças atendidos em três hospitais do Recife, Brasil entre 2004 e 2006.

	Adultos	Crianças	Total
Confirmado	211 (76%)	65 (24%)	276 (100%)
Sexo			
Masculino	102	33	134
Feminino	109	32	142
Relação	0,93:1,0	1,1:0,97	0.96:1.0
Idade, média	38	9	31
Infecção primária, N (%)	84 (40)	37 (57)	121 (44)
Infecção secundaria	127 (60)*	28 (43)	155 (56)
Dengue clássica	181 (86) [#]	64 (99)	245 (89)

*($p=0,015$; OR:2,0; IC 95%: 1,10-3,65) x Crianças; [#]($p<0,004$; OR: 10,55 IC 95%: 1,49-221,13) x Crianças.

Tabela 2. Positividade de diferentes métodos de diagnóstico da dengue obtidos em amostras de soro de 276 pacientes com dengue entre adultos e crianças em três hospitais do Recife, Brasil entre 2004 e 2006.

Método de diagnóstico	Período da coleta	n amostras testadas	Positivo (%)
RT-PCR	Total	276	144 (52)
	≤5 dias	241	134 (56)
	>5 dias	35	10 (29)
Isolamento viral	Total	276	66 (24)
	≤5 dias	241	63 (26)
	>5 dias	35	03 (9)
Sorologia (IgM)	Total	276	238 (86)

Tabela 3. Manifestações clínicas em adultos e crianças atendidos em três hospitais do Recife (Brasil) entre 2004 e 2006, com diagnóstico de Dengue Clássica.

Sinal e sintoma	Adultos (DC) 181 (%)	Crianças (DC) 64 (%)	OR	IC 95 %	p
Febre	175 (97)	64 (100)	0,00	0,00 – 2,65	0,344
Cefaléia	166 (92)	54 (84)	2,05	0,80 – 5,20	0,096
Dor retro-ocular	146 (81)	36 (56)	3,24	1,67 – 6,30	<0,001
Mialgia	165 (91)	43 (67)	5,04	2,28 – 11,27	<0,001
Astenia	179 (99)	61 (95)	4,40	0,58 – 38,67	0,114
Artralgia	137 (76)	40 (63)	1,87	0,97 – 3,59	0,043
Dor abdominal	84 (46)	34 (53)	0,76	0,41 – 1,41	0,355
Náuseas	150 (83)	51 (80)	1,23	0,56 – 2,68	0,568
Vômitos	62 (34)	39 (61)	0,33	0,18 – 0,63	<0,001
Diarréia	61 (34)	15 (23)	1,66	0,83 – 3,38	0,127
Rash	134 (74)	42 (66)	1,49	0,77 – 2,88	0,199
Prurido	104 (57)	31 (48)	1,44	0,78 – 2,65	0,212

Tabela 4. Manifestações hemorrágicas em adultos e crianças atendidos em três hospitais do Recife (Brasil) entre 2004 e 2006, com diagnóstico de Febre Hemorrágica do Dengue e de Dengue Clássica.

Manifestação hemorrágica	Adultos (DC)	Adultos (FHD)	Crianças (DC)
	n (%)	n (%)	n (%)
Induzida	170	30	64
Prova do laço	29 (17)#	25 (83)	3 (5)
Espontânea	181	30	64
Petéquias	13 (7)	2 (7)	2 (3)
Gengivorragia	16 (9)	5 (17)	3 (5)
Hemoptoicos	5 (3)	2 (7)	6 (9)*
Hematemese	0 (0)	1 (3)	1 (2)
Enterorragia	0 (0)	1 (3)	0
Melena	2 (1)	0 (0)	0
Metrorragia	2 (1)	1 (3)	0
Hematúria	1 (1)	1 (3)	0
Sangramento nasal	13 (7)	2 (7)	9 (14)

p=0,0141; OR: 4,18, IC 95%: 1,16-17,93 x DC em crianças

* p=0,038; OR: 0,27, IC 95%: 0,07-1,06 x DC em adultos.

Tabela 5. Anormalidades laboratoriais em adultos e crianças atendidos em três hospitais do Recife (Brasil) entre 2004 e 2006, com diagnóstico de Dengue Clássica.

	Adultos DC	Crianças DC
Leucocitos (n)	181	64
Variação	1200-14.240	1.550-15.500
Média	3501	4424
$\leq 4 \times 10^3$	131 (72)*	34 (53)
Plaquetas (n)	181	64
Variação $\times 10^3$	30 - 138	43 - 138
Média	96.453	103.700
$<140 \times 10^3$	128 (71) [§]	19 (30)
$\leq 100 \times 10^3$	66 (37) [#]	7 (11)
Aminotransferases (n)	171	58
AST Média	135	72
Valor Máximo	929	358
$> 41\text{U/mL}$ (%)	152 (89) ^α	35 (60)
ALT Média	145	44
Valor Máximo	919	398
$> 41\text{U/mL}$ (%)	143 (84) ^{&}	18 (31)

Adultos DC x crianças DC: *p=0,005 (OR: 2,31; IC 95% 1,23-4,35); [§]p<0,0001 x DC (OR:5,72; IC 95%: 2,94-11,23); [#]p=0,0001 (OR:4,67. IC 95%: 1,91-11,93); ^αp<0,0001 (OR: 5,26, IC 95%: 2,44-11,38); [&]p<0,0001 (OR: 11,35, IC 95%: 5.42-24.05).

ALT= alanina-aminotransferase, AST= aspartato-aminotransferase

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A dengue é considerada um grave problema de saúde pública em todo mundo, estando associada a diferentes manifestações clínicas, que variam desde infecções assintomáticas ou oligossintomáticas às formas severas e que podem evoluir para o choque e a morte. O crescimento populacional, as condições socioeconômicas precárias, aliados à falta de iniciativas eficientes no controle do vetor e da melhoria das condições de vida da população, desenham um cenário desanimador. A busca da comunidade científica para entender e identificar novas alternativas terapêuticas para a doença, tem sido um importante contra ponto na tentativa de transformar ou pelo menos, reduzir o seu impacto social.

Muitos estudos têm traçado o perfil clínico e epidemiológico da dengue durante epidemias em diferentes regiões do mundo. Porém, a virulência de diferentes cepas e os fatores ligados aos hospedeiros, tornam a doença dinâmica, com padrões de acometimento e gravidade variáveis. No Sudeste da Ásia a doença predomina em crianças e está habitualmente associada às formas graves da doença, diferindo do padrão das Américas, que atinge principalmente os adultos. O Brasil, tem sido vitimado por grandes epidemias com curto intervalo de tempo entre as mesmas, associado ao surgimento das formas graves da doença, resultando em elevada letalidade.

Com o objetivo de reduzir estes índices, importantes “*guidelines*” como os da Organização Mundial de Saúde e do Ministério da Saúde do Brasil, têm sido desenvolvidos na tentativa de identificar fatores de riscos associados a FHD e auxiliar na terapêutica, porém, muitas das decisões, são baseadas principalmente na experiência dos especialistas, ou a partir de série de casos. Muitos estudos utilizam diferentes metodologias que aliadas a peculiaridades regionais, características do vírus e do hospedeiro, não permitem a extrapolação para diferentes regiões do mundo. No Brasil devido à limitação de recursos, muitas das informações têm sido obtidas a partir dos bancos de dados dos sistemas oficiais de notificação, que permitem gerar importante informações, porém perde em qualidade, devido a existência de sub-notificação, registros sobretudo das formas mais graves e escassez de informações nas notificações, podendo levar a vieses quando se deseja detalhar aspectos particularizados da doença.

O estudo de coorte prospectivo realizado nos três hospitais do Recife, identificou o padrão clínico, epidemiológico e laboratorial dessa população e permitiu comparar com outros resultados do mundo e do Brasil. Um artigo envolvendo

adultos, obtido a partir da coorte identificou: 1. Um padrão de apresentação clínica diferente daquele observado na Ásia, com predomínio da doença entre adultos; 2. As manifestações clínicas e laboratoriais entre adultos com FHD e DC são semelhantes, não sendo útil a utilização de marcadores clínico-laboratoriais para prever os pacientes de riscos para as formas graves; 3. Diferente dos resultados da literatura internacional, infecção primária esteve presente na maioria dos pacientes, indicando que o tipo da infecção tem pouco impacto na evolução dos casos.

O resultado deste estudo mostrou uma baixa sensibilidade para detectar alteração de permeabilidade vascular em FHD quando se utiliza apenas hemoconcentração maior ou igual a 20%. Um estudo de série de casos retrospectivo, realizado em dois hospitais da coorte reforçam os achados, sugerindo a necessidade de novos estudos na tentativa de validar os critérios utilizados pela OMS, principalmente redefinindo o ponto de corte utilizado para hemoconcentração, validando-o com os outros métodos de diagnósticos.

A comparação entre as diferentes faixas etárias, no outro artigo, evidenciou um padrão de manifestações clínicas semelhante para dengue clássica entre adultos e crianças, porém, a baixa prevalência de casos de FHD e de anormalidades laboratoriais na faixa etária pediátrica, quando comparada com adultos, indicam um padrão de doença com caráter mais benigno entre crianças na nossa região.

Durante a coorte tivemos a oportunidade de acompanhar um caso raro de encefalomielite disseminada aguda em dengue clássica. Há controversa a respeito dos mecanismos envolvidos, e muitos autores atribuem as alterações a uma “encefalopatia” decorrente de alterações sistêmicas e não do efeito direto do vírus. A presença do vírus no LCR aliado a danos estruturais detectados na RNM, reforçam o efeito citopático direto do vírus sobre o SNC e alerta os médicos para as formas atípicas de manifestação da dengue, que vem aumentando em algumas regiões do mundo, a exemplo do Brasil.

Aos estudos clínico-epidemiológicos se faz necessário introduzirmos outros elementos como dosagem de citocinas, expressão gênica, HLA, que permitam definir e classificar adequadamente pacientes com FHD, comparar diferentes formas clínicas e desta feita estabelecer o real impacto da doença.

Finalmente, o melhor entendimento da doença permitirá o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas e principalmente identificar precocemente os

pacientes com risco potencial de desenvolver a forma grave da doença, bem como suas complicações, possibilitando criar estratégias diferenciadas de suporte terapêutico para beneficiar tais pacientes e permitindo um melhor planejamento de estratégias de atendimento e gestão de recursos.