



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
CENTRO DE PESQUISAS AGGEU MAGALHÃES

Marli Tenório Cordeiro

**EVOLUÇÃO DA DENGUE NO ESTADO DE
PERNAMBUCO, 1987-2006:
EPIDEMIOLOGIA E
CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DOS
SOROTIPOS CIRCULANTES.**

RECIFE
2008

MARLI TENÓRIO CORDEIRO

**EVOLUÇÃO DA DENGUE NO ESTADO DE PERNAMBUCO,
1987-2006:
EPIDEMIOLOGIA E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DOS
SOROTIPOS CIRCULANTES.**

**Tese apresentada ao Curso de Doutorado
em Saúde Pública do Centro de Pesquisas
Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz
para a obtenção do grau de Doutor em
Ciências.**

Orientadores:

Dr. Eduardo Maia Freese de Carvalho

Dr. Hermann Gonçalves Schatzmayr

Dra. Rita Maria Ribeiro Nogueira

RECIFE

2008

MARLI TENÓRIO CORDEIRO

**EVOLUÇÃO DA DENGUE NO ESTADO DE PERNAMBUCO 1987-2006:
EPIDEMIOLOGIA E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR
DOS SOROTIPOS CIRCULANTES.**

**Tese apresentada ao Curso de Doutorado
em Saúde Pública do Centro de Pesquisas
Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz
para a obtenção do grau de Doutor em
Ciências.**

Aprovado em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

**Prof. Dr. Rivaldo Venâncio da Cunha
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul**

**Profa. Dra. Maria Rosângela Cunha Duarte Coelho
Universidade Federal de Pernambuco**

**Profa. Dra. Ana Maria Brito
CPqAM/FIOCRUZ**

**Prof. Dr. Carlos Eduardo Calzavara Silva
CPqAM/FIOCRUZ**

**Prof. Dr. Eduardo Maia Freese de Carvalho
CPqAM/FIOCRUZ**

Este trabalho é dedicado
A José Carlos, meu esposo,
À Aline e Adriana, minhas filhas,
Com amor.

"Há aqueles que lutam um dia e por isso são bons;
Há aqueles que lutam muitos dias e por isso são muito bons;
Há aqueles que lutam anos e são melhores ainda;
Porém há aqueles que lutam toda a vida; esses são os imprescindíveis."

Bertolt Brecht

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Eduardo Freese, do CPqAM, pelo aprendizado e pelo profissionalismo na orientação desta tese.

Ao Dr. Hermann Schatzmayr, do Instituto Oswaldo Cruz, pela orientação e por seu apoio à execução deste trabalho, por sua amizade e pelo exemplo de dedicação à pesquisa.

À Dra. Rita Nogueira, do Instituto Oswaldo Cruz, por sua amizade e confiança no meu trabalho, pela orientação e incentivo durante a realização deste trabalho.

Aos doutores Rivaldo Venâncio, Rosângela Coelho, Ana Brito e Carlos Calzavara, por aceitarem participar da banca examinadora, e pela contribuição dada ao nosso trabalho.

Ao Dr. Rômulo Maciel, ex-diretor do CPqAM e à Dra. Silvia Montenegro, pelo apoio institucional à realização deste trabalho.

À Dra. Terezinha Tabosa, diretora do Laboratório Central de Saúde Pública Dr. Milton Bezerra Sobral da SES-PE e aos ex-diretores, Dra. Ana Lima e Dr. José Luiz Magalhães pela compreensão e por seu apoio durante a realização do doutorado.

Ao Dr. Ernesto Marques, por seu apoio ao meu trabalho durante todo o curso, pelo aprendizado e pela oportunidade de me integrar ao seleto grupo de pesquisadores do LaViTE.

Aos professores do Doutorado, pelo empenho em nos proporcionar os melhores ensinamentos durante o curso.

Ao Prof. Dr. Wayner Souza, do CPqAM, pela orientação prestimosa com relação ao tratamento estatístico dos dados.

À Dra. Flavia dos Santos e ao doutorando Josélio Galvão, queridos amigos do Instituto Oswaldo Cruz, com quem aprendi a caracterizar molecularmente “os meus vírus”, pela generosidade em me auxiliar com os seqüenciamentos e com as análises moleculares.

À Dra. Laura Gil, do LaViTE, pela amizade e por sua colaboração durante a realização dos estudos moleculares.

Aos colegas do LaViTE, pela amizade e companheirismo no decorrer desses quatro anos.

Aos funcionários da Secretaria Acadêmica da Pós-Graduação do CPqAM, pelo profissionalismo sempre presente em suas atividades.

Aos funcionários da biblioteca do CPqAM, em particular à Mégine por sua maneira gentil e disponibilidade em ajudar na adequação do nosso trabalho às normas da ABNT.

Aos colegas do doutorado, Alice, Janaína, Geysler, Isabel, Cheila, Fernando, Sheila, Joselma, Claudia, Vera, Jorge, Crespo, Dione e Paula, pelo agradável convívio durante esses anos.

Aos amigos do Departamento de Entomologia/CPqAM, em particular ao Dr. André Furtado, pelo apoio ao meu projeto, à Constância, pela gentil acolhida em sua sala e aos amigos Marcelo e Duschinka, que me ensinaram a lidar com os programas de bioinformática.

Aos colegas e amigos da Virologia do LACEN, em particular à Maria José, Valdete, Ana e Mabel, pela amizade, solidariedade e companheirismo. Um agradecimento especial aos colegas do diagnóstico de dengue, Jaime, Vasti, Risalva, João Carlos e demais colegas que nos socorriam durante as epidemias. Também a Salatiel, José e João que muito nos ajudaram. A dedicação e profissionalismo de todos viabilizaram a realização deste trabalho.

Aos colegas da Vigilância Epidemiológica da SES-PE, em particular a Wellington Melo, pela ajuda com os dados do SINAN. A todos os colegas que estiveram à frente do programa de dengue e que contribuíram, de alguma forma, para a realização deste trabalho.

À equipe da Vigilância Epidemiológica, da Secretaria de Saúde da Prefeitura do Recife, pela colaboração no fornecimento de dados.

Ao técnico do LAMEPE/ITEP, Ricardo Irmão, pelo fornecimento dos dados pluviométricos.

A todos aqueles, que de alguma forma, contribuíram para a realização desse trabalho.

A minha família, à Aline, Adriana e Roberto pelo apoio e incentivo, em especial a José Carlos, meu esposo, que esteve ao meu lado durante estes longos quatro anos de trabalho, apoiando-me de forma incansável em todos os momentos.

A Deus, que me deu forças para chegar até aqui.

CORDEIRO, Marli Tenório. **Evolução da dengue no estado de Pernambuco, 1987-2006: epidemiologia e caracterização molecular dos sorotipos circulantes**. 2008. Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2008.

RESUMO

Em Pernambuco, o primeiro surto de dengue ocorreu em 1987, pelo sorotipo 1. Em 1995, após sete anos sem notificação da doença, ocorreu nova epidemia causada pelo sorotipo 2. Em 2002, após a introdução do sorotipo 3, circularam simultaneamente os três sorotipos. Nesta tese são apresentados aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais das epidemias de dengue ocorridas no período de 1987 a 2006. Procedeu-se a caracterização molecular dos vírus dengue pelo seqüenciamento da junção dos genes E/NS1 para os sorotipos 1 e 2 e prM/M/E para o sorotipo 3. Análises filogenéticas realizadas identificaram os genótipos América/África, Sudeste Asiático e Índia Subcontinental para os sorotipos 1, 2 e 3, respectivamente. De 1987 a 2006 foram notificados 380.492 casos, com 612 casos confirmados de dengue hemorrágica e 33 óbitos. A taxa de incidência de casos aumentou de 134/100.000 para 1.438/100.000 habitantes, em 1995 e 2002, respectivamente. Adultos, entre 20 e 49 anos foram os mais atingidos inclusive pela dengue hemorrágica; a partir de 2003 aumentaram os casos entre menores de 15 anos. A razão entre casos do sexo masculino e feminino se manteve constante em 1:1,5. Dos casos notificados, 40,7% eram do sexo masculino e 59,3% do feminino ($p < 0,0001$). Casos de dengue hemorrágica foram registrados a partir de 1996. A razão entre dengue hemorrágica e dengue clássica foi 1:618 e a taxa de mortalidade de 5,4% (1996 a 2006). Entre 225 casos de dengue hemorrágica analisados foram identificados 96/225 (42,7%) casos de infecções primárias e 129/225 (57,3%) de secundária ($p < 0,05$). A Região Metropolitana do Recife e o Agreste apresentaram as maiores taxas de incidência de casos de dengue. A análise laboratorial de 91.480 casos suspeitos confirmou 48.300 casos (52,8%), por pelo menos um dos testes: isolamento de vírus, detecção do RNA viral, presença de anticorpos IgM e/ou aumento de quatro vezes no título de anticorpos inibidores da hemaglutinação. Os principais sinais e sintomas referidos pelos 48.300 casos confirmados foram: febre, cefaléia, dor retro-orbitária, mialgia e artralgia. As manifestações hemorrágicas mais freqüentes na forma grave da doença foram petéquias, metrorragia, sangramento gengival, epistaxe, melena e hematêmese. Trinta e dois pacientes apresentaram manifestações neurológicas sob a forma de encefalite, meningoencefalite e Guillian Barré. Formas graves e casos fatais foram observados pelos sorotipos 1, 2 e 3 e ocorreram tanto em casos de infecção primária como em secundária. Foi identificado apenas um genótipo para cada um dos três sorotipos que circularam no estado no período estudado.

Palavras-chaves: Dengue. Febre hemorrágica da dengue. Epidemiologia. Genótipos. Manifestação neurológica. Pernambuco. Brasil

CORDEIRO, Marli Tenório. **Development of dengue in the state of Pernambuco, Brazil, 1987-2006**: epidemiology and molecular characterization of circulating serotypes. 2008. Thesis (Doctor of Public Health) - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2008.

ABSTRACT

In Pernambuco, the first dengue outbreak occurred in 1987 was caused by serotype 1. In 1995, after a 7-year interval without autochthons cases, an epidemic caused by serotype 2 was detected. In 2002, after serotype 3 introduction co-circulated the three serotypes. In this thesis are presented relevant aspects of dengue epidemics for the period of 1987-2006, using epidemiologic, clinical and laboratory data. Molecular characterization of isolates was performed by genomic sequencing corresponding to the serotypes 1, 2 E/NS1 gene regions and serotype 3 prM/M/E gene region. Phylogenetic analysis of isolates has been performed and the genotypes found corresponded to genotypes America/Africa, South-East Asia and India Subcontinental for serotypes 1, 2 and 3, respectively. From 1987 to 2006, 380,492 cases were reported and 612 dengue hemorrhagic fever cases confirmed with 33 deaths. Annual incidence rate increased from 134/100,000 to 1,438/100,000 inhabitants, in 1995 and 2002, respectively. Dengue and dengue hemorrhagic fever affected mainly adults (20–49 years) and from 2003 the number of cases increased in people below 15 years old. The male to female ratio was constant at 1:1.5. It was reported 40.7% cases in male and 59.3% in female patients. Female individuals were the most affected ($p < 0.0001$). The ratio of dengue hemorrhagic fever to dengue fever cases was 1:618 and average mortality rate was 5.4% (1996 to 2006). Among 225 dengue hemorrhagic fever cases studied, it was identified 96/225 (42.7%) primary and 129/225 (57.3%) secondary infections ($p < 0.05$). In this period, the Metropolitan Region of Recife and the Agreste region presented the higher incidence rate of cases. Laboratory analysis conducted on 91,480 suspected cases confirmed 48,300 (52.8%) cases, by at least one of the following tests: virus isolation, RNA viral detection, a positive anti-dengue IgM ELISA or a four fold rise in hemagglutination inhibition titer. The main signs and symptoms observed among the 48,300 laboratory positive cases were fever, headache, retroorbital pain, myalgia and arthralgia. The most common hemorrhagic manifestations observed in severe cases were petechiae, metrorrhagia, bleeding gums, epistaxes, melena and hematemesis. Neurological manifestations were reported in 32 patients on the form of encephalitis, meningoencephalitis and Guillian Barré. Severe disease form, including fatal dengue cases were observed in infections caused by serotypes 1, 2 and 3, occurring in both, primary and secondary dengue infections. It was identified only one genotype, for each one of the three-dengue virus serotypes circulating in the State during the studied period.

Keywords: Dengue. Dengue hemorrhagic fever. Epidemiology. Genotypes. Neurologic manifestation. Pernambuco. Brazil.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
C	Proteína estrutural do capsídeo do vírus
CI	Coefficiente de Incidência
DC	Dengue clássica
DENV	Vírus dengue
DENV-1	Sorotipo 1 do virus dengue
DENV-2	Sorotipo 2 do virus dengue
DENV-3	Sorotipo 3 do virus dengue
DENV-4	Sorotipo 4 do virus dengue
E	Proteína Estrutural do Envelope
E/NS1	Proteína estrutural do Envelope/Proteína não estrutural 1
ELISA	Ensaio imunoenzimático
FEM	Feminino
FHD	Febre hemorrágica da dengue
FSESP	Fundação de Serviços de Saúde Pública
FUNASA	Fundação Nacional de Saúde
GERES	Gerência Regional de Saúde
GGVS	Gerência Geral de Vigilância em Saúde
HI	Inibição da hemaglutinação
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
ITEP	Instituto de Tecnologia de Pernambuco
kb	kilobase
LACEN-PE	Laboratório Central de Saúde Pública de Pernambuco
LAMEPE	Laboratório de Meteorologia de Pernambuco
LCR	Líquido céfalo-raquidiano
M	Proteína estrutural da Membrana
MAC-ELISA	Ensaio imunoenzimático para detecção de anticorpos IgM
MASC	Masculino

MGE	Meningoencefalite
NCBI	National Center for Biotechnology Information
nm	Nanômetro
NS	Proteína Não estrutural do vírus
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPS	Organização Panamericana da Saúde
ORF	<i>Open reading frame</i>
pb	Pares de bases
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PNCD	Programa Nacional de Controle da Dengue
PrM/M	Proteínas estruturais Pré-membrana/Membrana
PRNA	Polirradiculoneurite aguda
RNA	Ácido ribonucléico
RT-PCR	Transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase
S	Proteína estrutural do vírus
SCD	Síndrome de choque da dengue
SE	Semana epidemiológica
SES-PE	Secretaria de Saúde do Estado de Pernambuco
SINAN	Sistema de Informações de Agravos de Notificação
SNC	Sistema nervoso central
SUCAM	Superintendência de Campanhas de Saúde Pública

SUMÁRIO

PARTE 1	14
1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVOS	20
2.1 Objetivo geral	20
2.2 Objetivos específicos	20
3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS	21
3.1 Local de estudo	21
3.2 População de estudo	21
3.3 Definição de caso de dengue confirmado por laboratório	22
3.4 Tipo de estudo	22
3.5 Fontes de dados	23
3.6 Espécimes biológicos para diagnóstico laboratorial	24
3.7 Diagnóstico sorológico	24
3.7.1 Caracterização da resposta imune	25
3.8 Diagnóstico virológico	26
3.9 Diagnóstico molecular: Transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR)	26
3.10 Seqüenciamento das amostras de DENV-1, DENV-2 e DENV-3	27
<i>3.10.1 Amplificação por RT-PCR para seqüenciamento</i>	29
<i>3.10.2 Quantificação do DNA</i>	29
<i>3.10.3 Seqüenciamento dos produtos de PCR</i>	30
<i>3.10.4 Análise das seqüências e filogenia</i>	30
3.11 Tratamento e análise de dados	31
3.12 Considerações éticas	32
REFERÊNCIAS	33

PARTE 2	36
1 DENGUE: ESTADO DA ARTE	38
1.1 Aspectos epidemiológicos	38
1.2 Patogenia e aspectos clínicos	44
1.3 Vírus dengue	50
1.4 Diagnóstico laboratorial	55
1.5 O desenvolvimento de vacinas: estado atual	57
REFERÊNCIAS	59
2 ORIGEM E EVOLUÇÃO DA DENGUE EM PERNAMBUCO, 1987-1994	68
2.1 Implantação da vigilância laboratorial e os primeiros casos diagnosticados	68
2.2 Primeiro surto de dengue no estado de Pernambuco: 1987	72
2.3 Dengue em Pernambuco, um período de silêncio epidemiológico: 1988-1994	73
REFERÊNCIAS	78
3 A DENGUE EM PERNAMBUCO, 1995-2006	80
3.1 A epidemia de 1995: um novo sorotipo, DENV-2	80
3.2 Uma visão epidemiológica do período 1995-2006: explosiva epidemia por DENV-3 em 2002	81
3.3 Distribuição dos casos de dengue por Gerência Regional de Saúde, 1995 -2006	91
REFERÊNCIAS	95
4 A DENGUE NOS MUNICÍPIOS E MESORREGIÕES DE PERNAMBUCO, 1995 -2006	98
4.1 Distribuição dos casos por municípios e os sorotipos isolados de 1995 a 2006	98
4.2 Distribuição dos casos de dengue de 1995 a 2006 de acordo com as Mesorregiões	107
4.3 Distribuição do <i>Aedes aegypti</i> nos municípios de Pernambuco, 1995-2006	116
REFERÊNCIAS	119

5 DISTRIBUIÇÃO DE CASOS POR IDADE E SEXO, 1995-2006.	122
5.1 Distribuição dos casos de dengue de acordo com a faixa etária	122
5.2 Distribuição dos casos de dengue de acordo com o sexo	129
REFERÊNCIAS	127
6 ASPECTOS CLÍNICOS DA DENGUE EM PERNAMBUCO.	135
6.1 Manifestações clínicas observadas nos casos confirmados por laboratório	136
6.2 Febre hemorrágica da dengue em Pernambuco, 1995-2006.	142
<i>6.2.1 Letalidade</i>	149
<i>6.2.2 Infecção secundária como fator de risco na febre hemorrágica da dengue</i>	150
<i>6.2.3 Vigilância da febre hemorrágica da dengue</i>	152
6.3 Dengue clássica com manifestações neurológicas	154
REFERÊNCIAS	159
7 EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DE DENV-1, DENV-2 E DENV-3 ISOLADOS EM PERNAMBUCO	166
7.1 Caracterização molecular do DENV-1	167
7.2 Caracterização molecular do DENV-2	177
7.3 Caracterização molecular do DENV-3	187
REFERÊNCIAS	196
8 VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA DA DENGUE	201
REFERÊNCIAS	211
9 CONCLUSÕES	215
RECOMENDAÇÕES	217
ANEXOS	218
Anexo A – Parecer do CEP/CPqAM	219
Anexo B - Diretorias Regionais de Saúde do estado de Pernambuco	220
Anexo C - Mesorregiões do estado de Pernambuco	224

PARTE 1

INTRODUÇÃO

OBJETIVOS

PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

1 INTRODUÇÃO

A luta contra o avanço e o controle das doenças infecciosas endemo-epidêmicas, transmitidas por vetores como a dengue, exigem políticas de saúde específicas e estratégias de atuação complexas e intersetoriais. Conseqüentemente, necessitam de investimentos de grande porte, e nem sempre, nas primeiras etapas do processo de controle obtêm o sucesso desejado. Somente a vigilância epidemiológica permanente, com estratégias e ações eficazes de curto, médio e longo prazo, e o emprego de novas tecnologias podem garantir o controle efetivo da dengue.

Nas últimas décadas, a dengue tornou-se um grave problema, não apenas de saúde pública, mas também econômico e social para os países localizados nas regiões tropicais e subtropicais que abrigam o vetor. Muito comum nos países asiáticos, na década de oitenta a dengue se expandiu pelo continente Americano. No Brasil, a introdução do vírus dengue (DENV) se deu em 1982 em Roraima, quando foram isolados os sorotipos 1 (DENV-1) e 4 (DENV-4) (OSANAI et al. 1983).

A presença do *Aedes aegypti* no Brasil e, em particular na Região Nordeste, foi alvo de grande preocupação no passado devido aos episódios de febre amarela urbana. Foi desencadeada uma intensa campanha para erradicação do vetor, de modo que o país em 1956 foi declarado livre do *Aedes aegypti*. Entretanto, em 1967, o *Aedes aegypti* foi reintroduzido no Brasil, na Região Norte, sendo mais uma vez controlado/erradicado em 1969-1970 (SUPERINTENDÊNCIA DE CAMPANHAS DE SAÚDE PÚBLICA, 1988).

Em decorrência da desativação do sistema de vigilância anti-*Aedes aegypti*, em 1976 o país foi surpreendido novamente com a reinfestação de Salvador (BA), em 1978, do Rio de Janeiro e em 1979, de Natal (RN), tendo sido controlada em 1981 (SUPERINTENDÊNCIA DE CAMPANHAS DE SAÚDE PÚBLICA, 1988).

O surto ocorrido em Boa Vista (Roraima) em 1981 e 1982, não trouxe maiores conseqüências para as distintas regiões brasileiras, em virtude de ter ficado restrito à região norte do país e ter sido aparentemente controlada. Diferentemente do ocorrido cinco anos após em 1986, quando se deu a reintrodução do DENV-1 no país, mais precisamente pelo Rio de Janeiro (SCHATZMAYR; NOGUEIRA; TRAVASSOS DA ROSA, 1986).

Encontrando um ambiente favorável, uma população humana susceptível ao vírus dengue e uma importante densidade populacional do principal transmissor da doença, o

mosquito *Aedes aegypti*, o que se viu foi o estabelecimento definitivo do vírus dengue no país mudando radicalmente o perfil epidemiológico da doença no território brasileiro, principalmente após a introdução dos sorotipos 2 (DENV-2) e 3 (DENV-3) no país.

Com a disseminação do vírus dengue no país tornou-se imperativo, além do controle do vetor, a implantação de uma vigilância epidemiológica da dengue respaldada por uma vigilância laboratorial, que além da confirmação dos casos suspeitos também faça o monitoramento dos sorotipos e genótipos circulantes.

Em Pernambuco, os primeiros casos autóctones de dengue ocorreram em 1987, com confirmação laboratorial e o isolamento do DENV-1. A transmissão persistiu até novembro do mesmo ano e a interrupção da epidemia se deu com as extensas atividades de combate ao *Aedes aegypt* (CORDEIRO et al., 1987). Dessa forma, o estado se manteve livre da doença até o ano de 1994 (CORDEIRO et al., 1996a).

Em 1995 ocorreu nova epidemia tendo como responsável o DENV-2. Desde então, ocorreram no estado importantes epidemias, e com a circulação dos dois sorotipos verificou-se, nos anos seguintes, um aumento significativo no número de casos, inclusive da febre hemorrágica da dengue.

No período de 1995 a 2001 foram notificados cerca de 170.000 casos de dengue, enquanto que apenas no ano 2002, quando se deu a introdução do sorotipo 3 no estado, foram notificados 116.245 casos de dengue, com confirmação de 340 casos da febre hemorrágica da dengue e 20 óbitos. Nos anos posteriores, 2003 a 2006, um período de menor ocorrência de casos, foram notificados 64.005 casos.

A vigilância laboratorial da dengue em Pernambuco, desde 1986, é realizada pelo Laboratório Central de Saúde Pública Dr. Milton Bezerra Sobral (LACEN-PE), da Secretaria de Saúde do Estado, que criou em 1974 um laboratório de virologia com a função de investigar doenças de etiologia viral de interesse em saúde pública. Assim sendo, com a introdução do vírus dengue em Pernambuco em 1987 este serviço passou a diagnosticar os casos suspeitos, nas suas formas leves e graves, bem como a monitorar a circulação viral nos diversos municípios do Estado.

Em 1987 foram investigados 2.118 casos suspeitos de dengue (CORDEIRO et al., 1996) e de 1995 a 2006 foram analisados no LACEN-PE 99.677 casos (CORDEIRO et al., 2007). A partir de 1995, os dados clínicos, epidemiológicos e os resultados dos testes laboratoriais, desses casos, foram armazenados, em um banco de dados informatizado criado no LACEN-PE especificamente para esta enfermidade endemo-epidêmica, de forma a

preservar as informações e permitir o estudo de sua evolução. Criou-se também o banco de vírus dengue e o de amostras biológicas dos casos investigados (CORDEIRO et al., 1996b).

Sabe-se que a apresentação clínica da dengue pode variar com o lugar, o tempo, a idade do indivíduo e o genótipo do vírus. Assim sendo, a análise epidemiológica desses casos, poderá ajudar a esclarecer e também conhecer, aspectos importantes relacionados com as epidemias ocorridas no estado.

Por outro lado, nas áreas onde a atividade do vírus dengue é crítica, a identificação dos genótipos circulantes é extremamente importante uma vez que determinados genótipos parecem estar associados a diferentes níveis de gravidade da doença (RICO-HESSE, 2003).

A atualidade e importância epidemiológica da dengue no Brasil, e em particular no estado de Pernambuco, motivaram o presente estudo que tem como objetivos apresentar uma análise descritiva da evolução da dengue nos últimos vinte anos no estado de Pernambuco, desde a introdução do vírus em 1987 até o ano de 2006, ressaltando-se os aspectos epidemiológico, clínico e virológico, bem como a caracterização molecular dos sorotipos 1, 2 e 3 isolados no estado, em anos epidêmicos e endêmicos.

A identificação dos genótipos de cada um dos três sorotipos isolados em Pernambuco, ao longo desses anos, tem grande relevância epidemiológica, pois além do conhecimento dos genótipos circulantes, há também a possibilidade de se conhecer o potencial epidêmico de cada um desses genótipos e sua associação com as formas graves da doença.

Especial ênfase foi dada aos aspectos laboratoriais, tanto pela relevância dos dados que foram analisados, como também pela participação direta da autora no tema estudado. Espera-se que as informações contidas neste trabalho possam ajudar a esclarecer aspectos importantes da doença e sua evolução no estado, assim como contribuir para um melhor conhecimento da epidemiologia molecular dos vírus dengue em circulação em Pernambuco.

Espera-se que este trabalho possa também contribuir para o planejamento das ações de vigilância epidemiológica, visando o controle desta complexa enfermidade transmissível, no contexto de um heterogêneo perfil epidemiológico, brasileiro e regional.

Optou-se por apresentar os resultados desta tese em formato de livro, o qual abordará aspectos históricos, epidemiológicos e laboratoriais de um período de vinte anos, de 1987 a 2006. Está apresentada em duas partes.

A primeira parte (Parte 1) é constituída por três seções: Introdução, contendo uma breve introdução do tema, justificativa e relevância do estudo; Objetivos do estudo e Procedimentos metodológicos.

A Parte 2 compreende o referencial teórico, os resultados, as discussões e as conclusões pertinentes, que são apresentados em capítulos. Desta forma, a segunda parte inclui:

1. Dengue: Estado da arte.
2. Origem e evolução da dengue em Pernambuco, 1987-1994.
3. A dengue em Pernambuco, 1995-2006.
4. A dengue nos municípios e mesorregiões de Pernambuco, 1995-2006.
5. Distribuição de casos por idade e sexo, 1995-2006.
6. Aspectos clínicos da dengue em Pernambuco.
7. Epidemiologia molecular de DENV-1, DENV-2 e DENV-3 isolados em Pernambuco.
8. Vigilância epidemiológica da dengue.

As conclusões finais do estudo são apresentadas no capítulo 9.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Analisar as características epidemiológicas, clínicas e virológicas das epidemias de dengue ocorridas em Pernambuco de 1987 a 2006; identificar os genótipos dos vírus dengue isolados nos diferentes municípios do estado ao longo dos anos.

2.2 Objetivos específicos

- Estudar epidemiologicamente os casos de dengue registrados em Pernambuco no período de 1987 a 1994.
- Realizar a distribuição temporal e espacial dos casos de dengue notificados e dos casos analisados laboratorialmente, identificando as epidemias ocorridas em Pernambuco no período de 1995 a 2006.
- Analisar os casos de dengue com relação às variáveis de tempo e pessoa em anos epidêmicos em Pernambuco, no período de 1995 a 2006.
- Estudar o papel da infecção seqüencial nas formas graves, pela caracterização da resposta imunológica.
- Realizar a caracterização molecular de amostras de DENV-1, DENV-2 e DENV-3 isoladas no estado de Pernambuco.
- Estudar a relação entre os genótipos virais identificados e as formas graves da doença no período considerado no estudo.

3 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

3.1 Local de estudo

O presente estudo foi realizado no Estado de Pernambuco, localizado na região Nordeste do Brasil, com uma área de 98.938 km² e uma população estimada para 2006 de 8.457.267 habitantes e uma densidade demográfica de 80,3 habitantes por km².

O estado possui atualmente 185 municípios, incluindo o território de Fernando de Noronha. Geograficamente, está dividido em cinco Mesorregiões: Metropolitana, Zona da Mata, Agreste, Sertão, São Francisco.

Possui clima tropical atlântico (litoral) e semi-árido (agreste e sertão), com algumas variações nas diferentes regiões. Possui temperaturas elevadas, com pequenas variações. O período e o índice pluviométrico variam de acordo com a região geográfica. Onde o clima é quente e úmido, as chuvas geralmente ocorrem nos meses de março a agosto e nas regiões com clima tropical semi-árido, acontecem em períodos curtos, entre janeiro e abril (PERNAMBUCO, 2005a; 2005b).

3.2 População de estudo

Foram incluídos no estudo casos suspeitos de dengue que atendiam os critérios do Ministério da Saúde, notificados à Secretaria de Saúde do Estado no período de 1987 a 2006, no total de 380.492 casos. Assim como 101.231 casos suspeitos analisados no LACEN-PE, de 1987 a 2006. Os pacientes incluídos neste estudo apresentavam doença febril aguda, com duração máxima de sete dias, acompanhada de pelo menos dois dos seguintes sintomas: cefaléia, dor retroorbital, mialgia, artralgia, prostração, exantema. Além dos casos com manifestações hemorrágicas e atípicas.

3.3 Definição de caso de dengue confirmado por laboratório

Dengue clássica ou febre da dengue era definida como uma doença clinicamente diagnosticada como dengue e confirmada laboratorialmente por pelo menos um dos seguintes testes: sorologia (detecção de IgM), isolamento de vírus e/ou por detecção do RNA viral. A Febre hemorrágica da dengue foi definida como um caso agudo de dengue, confirmado laboratorialmente e com evidência de manifestações hemorrágicas, incluindo a prova do laço positiva, plaquetopenia ($<100.000\text{mm}^3$), hemoconcentração (elevação do hematócrito maior do que 20% do valor basal) ou outro sinal de extravasamento de plasma, de acordo com os critérios estabelecidos pela Organização Mundial de Saúde (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 1987; ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE, 1995). Dengue clássica com complicação era definido como um caso agudo de dengue confirmado laboratorialmente e com contagem de plaquetas abaixo de 100.000mm^3 , mas que não atendia os critérios da OMS para febre hemorrágica da dengue, seguindo orientação e critérios do Ministério da Saúde (BRASIL, 2007a).

3.4 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo epidemiológico transversal articulado com a clínica e de base laboratorial. A pesquisa realizada compreende dois componentes associados, considerando as diferentes epidemias de dengue ocorridas no estado de Pernambuco. O primeiro corresponde ao componente epidemiológico. Este assume características descritivas ao realizar a distribuição temporal (anual e mensal) dos casos notificados; a distribuição espacial dos casos estudados laboratorialmente por municípios e ao analisar as variáveis relacionadas à pessoa, tempo e manifestações clínicas, visando identificar as principais características das epidemias ocorridas de 1987 a 2006, nos diferentes municípios de Pernambuco, identificadas numa série temporal.

O segundo componente do estudo é de natureza laboratorial e se refere à epidemiologia molecular do vírus dengue, sendo realizada a caracterização genotípica dos

sorotipos isolados durante estas epidemias. Foram realizadas análises dos genomas virais utilizando-se reações de seqüenciamento de amostras de vírus provenientes do banco de vírus dengue do Laboratório Central de Saúde Pública da Secretaria Estadual de Saúde de Pernambuco. As principais variáveis selecionadas para este componente do estudo foram: local de origem dos casos, data do início dos sintomas, diagnóstico confirmatório, sexo, faixa etária, sorotipos circulantes, manifestações clínicas, formas da doença (dengue clássica, febre hemorrágica da dengue e manifestações clínicas atípicas) e tipos de resposta imunológica (primária e secundária). Foram realizadas séries temporais (anual, mensal) dos casos notificados (1995-2006) bem como de casos analisados laboratorialmente, nos períodos de 1987 a 1994, de 1995 a 2003 e de 2004 a 2006.

3.5 Fontes de dados

Como fonte para a informação utilizou-se o Banco de dados de dengue do LACEN-PE, o qual reúne 101.231 casos analisados no período de 1987 a 2006. Amostras de sangue e/ou soro de pacientes com suspeita clínica de infecção pelo vírus dengue atendidos pela rede pública de saúde e/ou privada eram enviadas ao LACEN-PE para a realização de testes laboratoriais específicos para dengue. A Ficha de investigação epidemiológica de dengue do caso acompanhava a amostra e as informações nela contida eram digitalizadas no Banco de dados do LACEN-PE (LABORATÓRIO CENTRAL DE PERNAMBUCO, 2006).

Dados referentes aos casos notificados no período estudado, no total de 378.374 foram obtidos na Gerência Geral de Vigilância em Saúde da Secretaria de Saúde do Estado de Pernambuco e através do Sistema Nacional de Agravos de Notificação (SINAN) do Ministério da Saúde. Consultas em relatórios internos, documentos oficiais e boletins epidemiológicos de circulação interna. Utilizaram-se dados da Fundação Nacional da Saúde (FUNASA) e do Ministério da Saúde contidos em Planilhas de casos de dengue notificados por Unidade da Federação e Regiões, disponíveis em <<http://www.funasa.gov.br>> e/ou <<http://portal.saude.gov.br/portal/svs/>>. (BRASIL, 2007b)

Dados referentes à população do Estado e dos municípios, distribuição por sexo e idade, foram obtidos através do Ministério da Saúde-Datasus, disponível em

<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?ibge/cnv/poppe.def>>. (SECRETARIA EXECUTIVA, 2007).

Dados sobre as regiões geográficas do estado foram obtidos em documentos oficiais e através de órgãos do Governo Estadual disponibilizados em <<http://www.sectma.pe.gov.br>>. (PERNAMBUCO, 2005a; 2005,b).

Os dados referentes aos níveis de precipitações pluviométricas foram obtidos no Laboratório de Meteorologia de Pernambuco, do Instituto de Tecnologia de Pernambuco (LAMEPE/ITEP), por solicitação direta, enquanto os dados dos anos 2003 a 2006 foram coletados no *site* do Órgão disponibilizado em <<http://www.itep.br/LAMEPE.asp>>. (INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE PERNAMBUCO, 2007).

3.6 Espécimes biológicos para diagnóstico laboratorial

As amostras de sangue da fase aguda da doença, coletadas até o 5º dia após o início dos sintomas, foram utilizadas para o isolamento de vírus e/ou para a técnica da transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) e também para realização dos testes sorológicos, enquanto as amostras coletadas na fase convalescente foram destinadas à sorologia. As amostras biológicas foram preservadas sob congelamento (-20°C e/ou -70°C) até a realização dos testes e após os experimentos eram estocadas no banco de amostras biológicas do LACEN-PE sob a guarda do Laboratório de Virologia.

3.7 Diagnóstico sorológico

Para a detecção de anticorpos da classe IgM específicos para os vírus dengue utilizou-se a técnica imunoenzimática de captura de IgM (MAC-ELISA), desenvolvida por Kuno et al. (1987). Também foi utilizado o kit comercial imunoenzimático (ELISA) de captura de IgM anti-dengue PANBIO (PanBio, Pty., Ltd., Brisbane, Australia) e o kit ELISA - IgM anti-dengue (BioManguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, MS). Para detecção de IgG anti-dengue amostras de soro foram submetidas ao kit ELISA IgG anti-dengue PANBIO (PanBio, Pty.,

Ltd., Brisbane, Australia) e os ensaios realizados de acordo com o protocolo recomendado pelos fabricantes. Para a quantificação de anticorpos inibidores da hemaglutinação (anticorpos totais) empregou-se a técnica de Inibição da Hemaglutinação (HI) em microtécnica adaptada de Clarke e Casals (1958).

A caracterização do tipo de resposta imune do paciente à infecção pelo vírus dengue, em primária e secundária, foi feita baseada na cinética dos anticorpos das classes IgM e IgG e também foram adotados os critérios da OMS (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 1987), tendo como parâmetros os resultados obtidos no teste de inibição da hemaglutinação.

3.7.1 Caracterização da Resposta imune

A caracterização foi feita de acordo com os seguintes critérios:

1) Infecção Primária foi definida pela ausência de anticorpos IgG anti-dengue na amostra de soro coletada durante a fase aguda da doença, enquanto IgM estava presente; e/ou isolamento de vírus e/ou RT-PCR positivos. Na segunda amostra coletada na fase convalescente, anticorpos IgG anti-dengue eram detectados, sendo observada conversão sorológica. Com base no teste de inibição da hemaglutinação, a infecção era caracterizada como primária, quando havia ausência de anticorpos inibidores da hemaglutinação ($<1:20$) na amostra de soro de fase aguda, coletada antes do quarto dia de doença e presença de anticorpos na amostra de soro da fase convalescente com título $<1:1280$.

2) Infecção secundária foi definida pela detecção de anticorpos IgG anti-dengue na amostra de soro coletada na fase aguda da doença e ausência de IgM anti-dengue, associada (ou não) com isolamento de vírus e/ou RT-PCR positivos, em alguns casos. Na amostra de soro coletada na fase convalescente, eram detectados anticorpos IgM específicos. Com base no teste de inibição da hemaglutinação a infecção era caracterizada como secundária (seqüencial) quando havia presença de anticorpos inibidores da hemaglutinação ($>1:20$) na amostra de soro de fase aguda, coletada antes do quarto dia de doença e detecção de anticorpos com títulos $\geq 1:2.560$ na amostra de soro da fase convalescente; com aumento de, no mínimo, quatro vezes no título de anticorpos inibidores da hemaglutinação.

3.8 Diagnóstico virológico

Para o isolamento dos vírus foi utilizada a linhagem celular de mosquito *Aedes albopictus*, clone C6/36 (IGARASHI, 1978), utilizando-se o meio Leibovitz L15 (GIBCO, Invitrogen Co., Grand Island, New York) suplementado com 10% de soro fetal bovino para o meio de crescimento e com 2% para o meio de manutenção das células.

Os vírus isolados eram identificados através da técnica de imunofluorescência indireta (HENCHAL et al., 1982), utilizando-se anticorpos monoclonais de DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4 distribuídos aos Laboratórios da Rede Nacional de Laboratórios de Saúde Pública no Brasil pelo Instituto Evandro Chagas-MS, Belém (PA). Após o isolamento e identificação, as suspensões virais eram estocadas a -70°C . As amostras virais isoladas constituem a Coleção de vírus dengue do LACEN-PE e foram utilizadas nos estudos moleculares.

3.9 Diagnóstico Molecular - Transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR)

A extração do RNA viral das amostras de soro e de outros espécimes foi feita através do uso de sílica, utilizando-se o protocolo descrito por Boom et al. (1990).

Para a detecção do RNA viral e identificação do vírus através da técnica da RT-PCR foi utilizado o protocolo descrito por Lanciotti et al. (1992). Nesta técnica são utilizados iniciadores (*primers*) universais do vírus dengue, localizados nos genes C e prM que possuem boa sensibilidade e especificidade. Este fragmento está flanqueado por uma seqüência conservada entre todos os sorotipos do vírus dengue permitindo a amplificação genômica. O sorotipo é então identificado mediante o uso de *primers* sorotipo-específico em um semi-nested PCR em uma segunda amplificação.

Os produtos da RT-PCR (cDNA) foram visualizados através da eletroforese em gel de agarose a 1% e fotografados por máquina tipo polaróide ou digitalizados, conforme ilustrado na Figura 1.

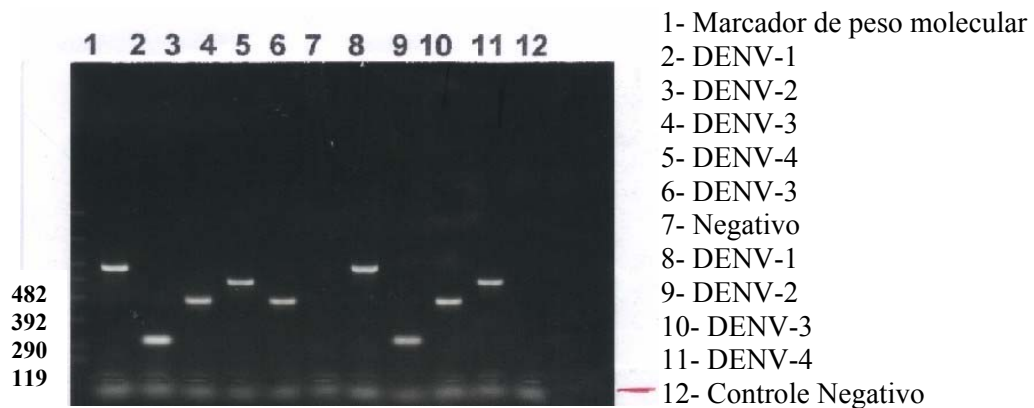


Figura 1 - RT-PCR: visualização do gel de agarose com os fragmentos dos vírus dengue e controles de peso molecular e amostra negativa.

Fonte: do autor.

3.10 Seqüenciamento das amostras de DENV-1, DENV-2 e DENV-3

Foram selecionadas da coleção de vírus do LACEN-PE, 50 amostras de DENV-1, 40 amostras de DENV-2 e quatro amostras de DENV-3 isoladas de casos de dengue oriundos de vários municípios do Estado, em diferentes anos endemo-epidêmicos. As amostras virais analisadas consistiam de suspensões de células C6/36 infectadas, na primeira passagem. As amostras selecionadas foram passadas apenas uma vez em células C6/36, com o objetivo de se obter um volume adequado para o seqüenciamento e também confirmar a sua viabilidade.

Os seqüenciamentos (parcial) dos genomas virais das amostras de DENV-1, DENV-2 e DENV-3 foram realizados em seqüenciador automático da Applied Biosystem, ABI PRISM 3100 Genetic Analyser.

A extração do RNA viral para o seqüenciamento foi realizada a partir do sobrenadante da suspensão de células C6/36 infectadas com os vírus dengue isolados dos pacientes, utilizando-se o QIAmp Viral Mini Kit (QIAGEN, Inc., Valencia, CA, EUA), seguindo o protocolo recomendado pelo fabricante.

Na reação de seqüenciamento dos sorotipos DENV-1 e DENV-2 foram utilizados iniciadores (*primers*) direcionados para a junção dos genes E/NS1, correspondendo a 461 e 408 pares de bases (pb), respectivamente, sendo analisada uma região de 240pb. iniciadores (*primers*) utilizados para o seqüenciamento de DENV-1 e DENV-2 estão relacionados na

Tabela 1. Segundo Rico-Hesse (1990) estes iniciadores fornecem informações suficientes para estimar a relação entre as cepas isoladas nas diferentes epidemias.

Tabela 1 - Iniciadores utilizados para amplificação e seqüenciamento dos produtos da RT-PCR das regiões E/NS1 das amostras de DENV-1 e DENV-2

Primer D1 - 2162	5'- GGAGTTTTGTTTCAGCGGTGTT - 3'
Primer D1 – 2623	5'- CCACATGATGTTCTCGAGACGA - 3'
Primer D2- 2170	5'- ATGGCCATTTTAGGTGACACAGCCTGGGA- 3'
Primer D2- 2578	5'- TTACTGAGCGGATTCCACAGATGCC- 3'

Fonte: RICO-HESSE (1990); RICO-HESSE et al.(1998)

No seqüenciamento das amostras de DENV-3 foram utilizados iniciadores desenhados para amplificar fragmentos sobrepostos de aproximadamente 500 pb ao longo da seqüência dos genes que codificam as proteínas prM, M e E (LANCIOTTI et al. 1994), posição 437 a 2413 do genoma (MIAGOSTOVICH et al, 2006). As seqüências dos iniciadores utilizados para a reação em cadeia da polimerase precedida da transcrição reversa e seqüenciamento dos genes que codificam as proteínas prM, M e E do DENV-3 estão apresentadas no quadro abaixo.

Tabela 2 - Iniciadores utilizados para amplificação e seqüenciamento dos produtos da RT-PCR das regiões prM, M e E das amostras de DENV-3.

Iniciadores (<i>primers</i>)		TM (°C)	Posição no genoma (de acordo com AF317645)
Nome	Seqüência (5' – 3')		
D3-1	GTTGTTAGTCTACGTGGACCGA	60	2-23
D3-2	GTTGATTCCAGAGGCTGTCTTA		511-532
D3-3	GCCTCTGGAATCAACATGTGCA	60	518-539
D3-4	CTTAGCCATGGTAGTCACACA		1022-1042
D3-5	GTGACTACCATGGCTAAGAACA	60	1025-1046
D3-6	GAACCATTGTCTATGTACCATCCA		1544-1567
D3-7	CGGACAGGTTTGGATTTC	54	1490-1508
D3-8	CAGTTGATTTTCAGGGCTT		2082-2100
D3-9	CAACTGGTACAGGAAGGGAA	57	2095-2114
D3-10	CTAATTCCGCACACTCCA		2569-2587

Fonte: MIAGOSTOVICH et al (2006).

3.10.1 Amplificação por RT-PCR para seqüenciamento

A mistura para a realização da RT-PCR para seqüenciamento consistiu de 12,5µl de PCR Master Mix 2X (Promega Co, Madison, WI), 1,5 µL de ditiotreitol a 100mM, cada iniciador a uma concentração final de 10 µM e 1µL de AMV-RT (5U) (Invitrogen, Carlsbad, CA). Cinco microlitros do RNA extraído foram reversamente transcritos a 42°C por 60 min, diretamente seguidos de 40 ciclos de amplificação a 94°C por 30 seg, 54-61°C (dependendo do par de iniciadores utilizados) por 1 minuto e 72°C por 2 minutos, com uma extensão final a 72°C por 10 minutos.

A amplificação foi realizada utilizando termociclador. Após o término da reação, os produtos amplificados foram analisados por eletroforese em gel de agarose (Sigma Chemical Co, St Louis) a 1% em TBE 1X, por 45 minutos a 100 Volts.

Quando o produto amplificado consistia de um único amplicon foi realizada a purificação do produto amplificado utilizando o kit comercial “PCR Purification” (Qiagen, Inc., Valencia, CA) de acordo com o protocolo descrito pelo fabricante. Quando observado a presença de múltiplos amplicons todo o produto da RT-PCR para seqüenciamento foi aplicado em um gel de agarose (Sigma Chemical Co, St Louis) a 0,7% a fim de isolar o amplicon desejado para posterior realização do procedimento de purificação. O gel foi analisado em transiluminador na presença de luz UV, o amplicon desejado foi cortado e transferido para um tubo tipo eppendorf® de 1,5ml e realizado a purificação do produto amplificado utilizando kit comercial “Gel Extraction” (Qiagen, inc., Valencia, CA) conforme protocolo descrito pelo manual do fabricante.

3.10.2 Quantificação do DNA

A concentração de cDNA utilizada na reação de sequenciamento é crucial para o sucesso da reação, desta forma é imprescindível que o DNA seja quantificado antes de se iniciar o “*cycle sequence*”. Para a quantificação do DNA purificado (resultante da purificação

do produto de RT-PCR), foi realizada eletroforese em gel de agarose a 2% em TBE 1X por 40 minutos a 100 V, aplicando 4µL do peso molecular “*low mass DNA*” (Invitrogen, Carlsbad, CA) no primeiro orifício e 4µl do DNA a ser quantificado nos demais orifícios do Gel. A concentração foi estimada de acordo com os parâmetros de comparação entre o DNA a ser quantificado e o “*low mass DNA*”, conforme instruções do fabricante.

Para a quantificação do DNA purificado também foi utilizado o fotômetro “Eppendorf BioPhotometer”, de acordo com os procedimentos indicado no manual do equipamento. A concentração de DNA a ser utilizada na reação de seqüenciamento ou “*cycle sequence*” foi ajustada de acordo com o tamanho do amplicon a ser seqüenciado, conforme recomendado pelo seqüenciador.

3.10.3 Seqüenciamento dos produtos de PCR

Os fragmentos de cDNA amplificados por PCR foram diretamente seqüenciados em ambos os sentidos, utilizando o *kit* BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction (Applied Biosystems, Foster City, CA) versão 3.1. A preparação do Mix para a reação de “*cycle sequence*” foi a indicada pelo fabricante.

Após purificação do cDNA utilizando colunas *Centri-Sep*[®] (Princeton Separations, Inc, Adelphia, NJ) ou Dye Ex 2.0 Spin Kit QIAGEN (QIAGEN, Inc., Valencia, CA, EUA), o DNA foi suspenso em 15 µl de Formamida Hi-Di (Applied Biosystems, Foster City, CA) e aplicado em placa de 96 orifícios para que seja levado ao seqüenciador Applied Biosystems ABI Prism 3100 *Genetic Analyzer* (Applied Biosystems, Foster City, CA).

3.10.4 Análise das seqüências e filogenia.

A análise dos produtos da reação de “*cycle sequence*” submetidos ao seqüenciamento foi realizada utilizando o Programa Chromas[®] versão 1.45 (<http://www.technelysium.com.au/chromas14x.html>), a identidade dos nucleotídeos e dos aminoácidos foi determinada pelo uso do BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez>) e do DNAsis versão 2.6 (Hitachi Software

Co, San Francisco, CA). O alinhamento das seqüências obtidas a partir do eletroferograma foi realizado utilizando-se o software CLUSTAL W (<http://www.ebi.ac.uk/clustalw/>).

Seqüências representativas de DENV-1, DENV-2, DENV--3 e DENV -4 foram utilizadas como grupo externo.

As seqüências nucleotídicas geradas foram depositadas no GenBank, do National Center for Biotechnology Information (NCBI), disponível em: (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), e de onde também foram obtidas, as seqüências nucleotídicas dos vírus dengue, utilizados para comparação com as amostras de Pernambuco e para construção das árvores filogenéticas.

A árvore filogenética foi construída com o Programa MEGA 3.1 (KUMAR; TAMURA, NEI, 2004). O cálculo da distância p, a média do conteúdo de G/C e o cálculo da taxa de transcrição e transversão foram analisados para a aplicação do método mais adequado à análise filogenética. Após ser estabelecido o método a ser utilizado para análise filogenética foi estipulado “bootstrap” de 1000 pseudoréplicas (KUMAR; TAMURA, NEI, 2004). Foi utilizado o método “Neighbor-joining”, modelo Tajima Nei, para os três sorotipos.

3.11 Tratamento e análise de dados

Os dados foram descritos, utilizando-se distribuições de freqüência e testados as possíveis diferenças entre as variáveis estudadas. Calculou-se a *odds ratio* (OR) e testou-se a significância das associações através do teste Qui-quadrado, para diferentes proporções, com um nível de significância de 5%.

Para uniformizar as informações sobre coeficiente de incidência de casos por municípios e por Mesorregião foram usados os quintis da distribuição dos casos notificados por municípios, em cada ano. Foram também calculados os coeficientes de incidência de casos de acordo com o sexo e a faixa etária para por município e para cada ano estudado, utilizando os dados populacionais do Datasus/IBGE (SECRETARIA EXECUTIVA, 2007).

Como suporte para o tratamento estatístico foi utilizado o programa Stat Pac Inc. para Windows (versão 10.2; Bloomington, MN, USA) disponível em <<http://www.statpac.com>> e o programa Microsoft Office Excel versão 3.0 (Microsoft USA).

O programa TabWin do Ministério da Saúde-Datasus, disponível em <<http://portal.saude.gov.br>>. foi utilizado para a construção dos mapas. Após a análise e tratamento estatístico dos dados os mesmos foram dispostos em tabelas, gráficos e mapas.

3.12 Considerações éticas

Este estudo utilizou dados secundários obtidos a partir dos resultados dos testes diagnósticos para dengue e das respectivas fichas de investigação epidemiológica, onde as informações são referentes aos conhecimentos indispensáveis para a análise de cada caso e para a realização dos testes laboratoriais. As amostras de soro e vírus isolados provêm da demanda espontânea do LACEN-PE que foram estocadas após os testes diagnósticos. Utilizou também a base de dados de dengue do SINAN, autorizado pela SES-PE.

O estudo teve a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães/FIOCRUZ, em 5/12/2005, Registro 62/05, CAEE 0759.0.095.000-05, de acordo com a Resolução CNS 196/96 (Anexo A).

REFERÊNCIAS

- BOOM, R. et al. Rapid and single method for purification of nucleic acids. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 28, p. 495-503, 1990.
- BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de Vigilância Epidemiológica – Dengue**, p. 231-253. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/svs/>> Acesso em: 15 mar 2007, 2007a.
- BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde – **Dengue**. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/svs/>> Acesso em: 15 mar 2007, 2007b
- CLARKE, D. H.; CASALS, J. Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod-borne viruses. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 7, p. 561-73, 1958.
- CORDEIRO, M. T. et al. Dengue and dengue hemorrhagic fever in the state of Pernambuco, Brazil, 1995 – 2006. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 40, n. 6, P. 605-611, 2007.
- CORDEIRO, M. T.; OLIVEIRA, M. J. C.; CAVALCANTI, A. M. S.; DANTAS, M. C. S.; MELO, M. M. M.; FERREIRA, M. V.; TRAVASSOS, R. C.; MORAIS, J. G. M. Dengue Epidemic in the State of Pernambuco, Brazil, 1995-1996. In: **VIII Encontro Nacional de Virologia**, São Lourenço, Minas Gerais, 1996a.
- CORDEIRO, M. T. et al. Dengue activity in the State of Pernambuco, Brazil, 1986-1996. In: INTERNATIONAL SEMINAR ON DENGUE, 6 a 9 de outubro de 1996, Rio de Janeiro. **Anais**. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Virologia, 1996. p. 36, 1996b.
- CORDEIRO, M. T.; OLIVEIRA, M. J. C.; DANTAS, M. C. S.; CAVALCANTI, A. M. S. Situação do Dengue no Estado de Pernambuco, In: **ENCONTRO REGIONAL NORDESTE DE VIROLOGISTAS**, Maceió, Alagoas, 1987.
- HENCHAL, E. A. et al. Dengue virus-specific and flavivirus group determinants identified with monoclonal antibodies by indirect immunofluorescence. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 31, p. 830-6, 1982.
- IGARASHI, A. Isolation of a Singh's *Aedes albopictus* cell clone sensitive to dengue and chikungunya viruses. **The Journal of General Virology**, London, v. 40, p. 531-544, 1978.
- INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE PERNAMBUCO. Laboratório de Meteorologia de Pernambuco. **Índices pluviométricos**. Disponível em < <http://www.itep.br/LAMEPE.asp>>. Acesso em 18/05/2007.

KUMAR, S.; TAMURA, K.; NEI, M. MEGA 3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. **Briefings in Bioinformatics**, Tempe, v. 5, p. 150-163, 2004.

KUNO, G.; GÓMEZ, I.; GUBLER, D. J. Detecting artificial anti-dengue IgM immunocomplexes using an enzyme-linked immunosorbent assay. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 36, p. 153-9, 1987.

LABORATÓRIO CENTRAL DE PERNAMBUCO. **Banco de dados de dengue**. Recife, 2006.

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

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, n. 3, p. 545-551, 1992.

MIAGOSTOVICH, M. P. et al. Complete genetic characterization of a Brazilian dengue virus type 3 strain isolated from a fatal outcome. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 3, p. 307-313, 2006.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Dengue hemorrágico: diagnóstico, tratamento e controle**. Genebra, 1987.

ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE . Dengue y Dengue hemorrágico en las Américas: guías para su prevención y control. **Publicación Científica n.548**, Washington, D.C. 1995.

OSANAI, C.H. et al. Surto de Dengue em Boa Vista, Roraima. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 25, p.53-54, 1983.

PERNAMBUCO. Portal dos Municípios. **Regiões Geográficas de Pernambuco**. Disponível em <http://www.municipios.pe.gov.br/municipio/index.asp>>. Acesso em 14/11/2005, 2005a.

PERNAMBUCO. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente. **Geografia Econômica**. Disponível em <<http://www.sectma.pe.gov.br/notitia/administracao/espacociencia/geo/conteudo/geconomica.htm>>. Acesso em 14/11/2005, 2005b

RICO-HESSE, R. Microevolution and virulence of dengue viruses. **Advances in virus Research**, New York, v. 59, p. 315-341, 2003.

RICO-HESSE, R. et al. Molecular evolution of dengue type 2 virus in Thailand. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 58, p. 96-101, 1998.

RICO-HESSE, R. Molecular evolution and distribution of dengue viruses type 1 and 2 in nature. **Virology**, New York, v. 74, p. 1-15, 1990.

SCHATZMAYR, H.G.; NOGUEIRA, R.M.R.; TRAVASSOS DA ROSA, A.P.A. An Outbreak of Dengue virus at Rio de Janeiro-1986. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 81, n.2, p.245-246, 1986.

SECRETARIA EXECUTIVA. Departamento de Informática do SUS. **Censos demográficos e contagem populacional**: para os anos intercensitários, estimativas preliminares dos totais populacionais, estratificadas por idade e sexo. Disponível em:
<<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?ibge/cnv/poppe.def>> Acesso em: 5 fev 2007, 2007.

SUPERINTENDÊNCIA DE CAMPANHAS DE SAÚDE PÚBLICA (Brasil). **Relatório** do Seminário sobre Dengue e *Aedes aegypti* - Região Nordeste, 06 a 10 de junho de 1988, Recife, PE.

PARTE 2

DENGUE: ESTADO DA ARTE

1 DENGUE: ESTADO DA ARTE

1.1 Aspectos epidemiológicos

A dengue é uma doença febril aguda causada pelos vírus Dengue (DENV), um arbovírus pertencente à família *Flaviviridae*, gênero *Flavivirus*, com quatro sorotipos antigenicamente distintos, DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4. Estes vírus são transmitidos ao homem por mosquitos do gênero *Aedes* (subgênero *Stegomyia*), tendo como principal vetor o *Aedes aegypti*. A transmissão do vírus, em sua forma simples, envolve a ingestão pelo mosquito, de sangue contendo o vírus, e a sua passagem para um segundo hospedeiro humano susceptível (ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE, 1995; GUBLER; CLARK, 1995).

A palavra *dengue* foi adotada mundialmente, tanto para designar a doença, como os vírus que a causam. Entretanto, a doença recebeu no passado diferentes denominações nos países onde foi identificada. A expressão *dengue* é de origem hispano-caribenha e tem sido usada, desde 1827, para identificar síndromes febris epidêmicas (GUBLER, 1997).

A forma clássica da doença é conhecida há mais de um século nas áreas tropicais das Regiões do Sudeste Asiático e do Pacífico Ocidental (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1987). Os primeiros relatos de uma doença com sintomatologia compatível com dengue datam de 1779-1780. Em 1779 houve epidemias no Cairo e na Indonésia e, em 1780, na Filadélfia (GUBLER, 1997).

Entretanto, a forma hemorrágica foi inicialmente identificada como uma doença nova nas Filipinas, em 1953 (febre hemorrágica das Filipinas), e na Tailândia, em 1958 (febre hemorrágica tailandesa). O mistério do agente causal da nova enfermidade foi resolvido com o isolamento dos sorotipos 2, 3 e 4 nas Filipinas, em 1956, e do sorotipo 1 na Tailândia em 1958. Entre 1953 e 1964, a febre hemorrágica da dengue (FHD) foi descrita na Índia, Malásia, Filipinas, Singapura, Tailândia e Vietnam (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 1987; GUBLER, 1997).

Até os anos 1939-1945 as pandemias de dengue ocorriam a cada 10 a 30 anos, e não era comum a ocorrência de epidemias em uma mesma localidade. A partir da Segunda Guerra mundial foi observada uma mudança nesse cenário, com o Sudeste Asiático vivenciando um

aumento significativo na atividade epidêmica da doença. Após esse período, várias epidemias de dengue foram registradas, particularmente da febre hemorrágica da dengue (RIGAU-PÉREZ et al., 1997). Durante os anos 80 verificou-se a expansão geográfica das epidemias de dengue envolvendo a região das Américas (Sul, Norte e Central), bem como a África, China e a Austrália, tendo como principais fatores responsáveis pelo aumento da incidência e da sua distribuição mundial, as mudanças ocorridas no ambiente e no comportamento da população humana (MONATH, 1994).

Nas Américas, as epidemias de dengue foram relatadas desde o século XIX, coincidindo com a intensificação do transporte comercial entre os portos da região do Caribe e do sul dos Estados Unidos com outras partes do mundo (MONATH, 1994). Os sorotipos 1 e 2 do vírus estão circulando nas Américas há vários anos e, em 1994, depois de uma ausência de 17 anos, se deu a re-introdução do sorotipo 3 na Nicarágua, tendo sido isolado nos anos seguintes em todos os países da América Central (GUZMÁN et al., 1996). Em 1998, o DENV-3 foi detectado em Porto Rico, seguido pelo isolamento do sorotipo 4 (RIGAU-PÉREZ et al., 2002). Atualmente, ocorre a circulação dos quatro sorotipos do vírus dengue em vários países da América do Sul e Central (GUZMÁN; KOURI, 2002a).

No Brasil, as primeiras referências sobre a dengue datam de 1846, em São Paulo, Rio de Janeiro, Salvador e outras cidades, sendo conhecida como “polca” e “patuléia”. Há registro de uma epidemia em São Paulo, entre os anos 1851 e 1853 e outra em 1916, conhecida pelo nome “urucubaca” (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 1996). Em 1923, observações clínicas do Dr. Antonio Pedro, comprovaram a doença em Niterói, estado do Rio de Janeiro (PEDRO, 1923). Os primeiros casos de dengue, confirmados laboratorialmente, ocorreram em Boa Vista, Roraima, em 1981, com o isolamento dos sorotipos 1 e 4, ficando porém naquela ocasião restritos a essa região (OSANAI et al., 1983).

Graças aos esforços da campanha de combate à febre amarela urbana durante a primeira metade do século 20, as áreas urbanas do Brasil se mantiveram livres do *Aedes aegypti* até o ano de 1976. Contudo, o rápido e desorganizado crescimento urbano, associado à falta de manutenção do programa de combate à febre amarela, facilitaram a reintrodução e o estabelecimento do *Aedes aegypti* (transmissor da febre amarela urbana), em áreas urbanas de vários estados brasileiros (SIQUEIRA Jr. et al., 2005).

A introdução do DENV-1 no Estado do Rio de Janeiro, em 1986 (SCHATZMAYR; NOGUEIRA; TRAVASSOS DA ROSA, 1986), aliada às dificuldades de combate ao vetor, resultou em uma rápida dispersão do vírus pelo país e, conseqüentemente, na ocorrência de

epidemias nos diversos estados da federação. Em 1990, a situação da dengue foi agravada pela introdução do DENV-2 no estado do Rio de Janeiro e pelo aparecimento dos primeiros casos da febre hemorrágica da dengue, associados à infecção secundária ou seqüencial (NOGUEIRA et al., 1990; 1991; 1993). Nos anos seguintes, esses sorotipos estiveram presentes na maior parte do país causando importantes epidemias (VASCONCELOS et al., 1995; TRAVASSOS DA ROSA et al., 2000; SIQUEIRA Jr. et al., 2005).

A introdução do DENV-3 no Brasil ocorreu no final do ano 2000, mais uma vez pelo estado do Rio de Janeiro (NOGUEIRA et al., 2001), ocasionando epidemias de grande magnitude no Rio de Janeiro e em outros estados brasileiros, em 2002, quando foram notificados 776.000 casos em todo o país (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2007; SIQUEIRA Jr. et al., 2005). Os casos de dengue notificados no Brasil de 1982 a 2006, por Região (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2007), estão sumarizados na Tabela 1.

Atualmente, existe o risco da introdução do sorotipo 4 do vírus no país, principalmente nas áreas densamente povoadas e de maior circulação do vetor, como as regiões metropolitanas das principais capitais brasileiras. A existência do DENV-4 em países da América do Sul, como a Venezuela e a Colômbia (GUZMÁN; KOURI, 2002a) aumenta a chance de uma iminente entrada desse sorotipo no país.

A dengue é uma doença de acometimento predominantemente urbano e os seus pilares de manutenção, segundo Gubler (1997), são a urbanização desordenada, a alta densidade demográfica e as condições climáticas favoráveis ao estabelecimento do vetor. Entretanto, a doença pode ocorrer em qualquer localidade onde o vírus esteja presente e haja indivíduos suscetíveis. A via de disseminação dos vírus entre os países segue a rota dos transportes, aparecendo primeiro nas cidades portuárias (GUBLER, 1997, 2002).

O impacto econômico causado por uma epidemia de dengue em uma região é difícil de ser mensurado. Para se ter uma idéia da magnitude do problema, o custo estimado da epidemia de dengue ocorrida em Cuba, em 1981, foi de US\$103 milhões, ressaltando-se que quase metade desse valor foi empregada no combate ao vetor (GUZMAN et al., 1992).

Atualmente, cerca de três bilhões de pessoas vivem em áreas onde ocorrem casos de dengue. Na pandemia de 1998, 56 países localizados na Ásia e nas Américas notificaram à Organização Mundial de Saúde (OMS) 1,2 milhões de casos de dengue. Estima-se que anualmente ocorra mais de 50 milhões de infecções, com pelo menos 500 mil casos de febre

hemorrágica da dengue e/ou síndrome de choque da dengue, e cerca de dois mil óbitos, principalmente em crianças (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 2002).

Tabela 1 - Distribuição anual do número de casos notificados de dengue no Brasil por Região, número de casos de febre hemorrágica da dengue, óbitos e taxa de letalidade, 1982-2006.

Anos	REGIÕES					BRASIL			
	Norte	Nordeste	Sudeste	Sul	Centro-Oeste	Nº casos	FHD	Óbitos	TL (%)
1982	11.000	-	-	-	-	11.000	-	-	-
1986	-	13.802	32.507	-	-	46.309	-	-	-
1987	-	28.479	59.928	-	-	88.407	-	-	-
1988	-	120	1.450	-	-	1.570	-	-	-
1989	-	4.213	1.144	-	-	5.357	-	-	-
1990	-	15.950	22.723	-	1.606	40.279	274	8	2,9
1991	2.194	8.020	89.839	-	4.346	104.399	188	-	-
1992	-	-	1.696	-	-	1.696	-	-	-
1993	-	788	5.124	-	1.462	7.374	-	-	-
1994	18	49.828	968	-	5.877	56.691	25	11	44,0
1995	3.221	59.192	46.845	3.116	24.934	137.308	114	2	1,7
1996	2.695	125.799	34.294	5.213	15.781	183.762	69	1	1,4
1997	22.174	190.746	22.633	721	12.965	249.239	46	9	19,6
1998	27.018	227.566	229.630	2.949	20.552	507.715	102	10	9,8
1999	15.118	112.265	41.111	1.455	14.115	184.064	67	2	3,0
2000	30.848	121.495	53.657	4.760	17.197	227.957	56	2	3,6
2001	54.046	167.831	170.090	4.105	32.043	428.115	658	28	4,3
2002	28.816	301.375	384.132	7.665	69.257	791.245	2.714	150	5,5
2003	41.982	172.308	87.325	9.999	34.524	346.138	727	38	5,2
2004	32.878	37142	31.309	419	15.771	117.519	103	8	7,8
2005	43.220	127.057	35.218	5.146	37.548	248.189	463	45	9,7
2006	33.348	105.017	141.864	5.604	60.089	345.922	628	71	11,1
Total	348.576	1.869.011	1.493.487	51.152	368.067	4.130.293	6.234	385	6,2

Legenda: FHD: febre hemorrágica do dengue; TL: taxa de letalidade.

Fonte: (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 2007).

Quando uma epidemia de dengue ocorre em uma região onde o vírus é introduzido pela primeira vez, a taxa de ataque da doença é semelhante em todos os grupos etários (BARNES; ROSEN, 1974). Todos os grupos, independentemente de sexo e idade, são vulneráveis à doença e atingidos igualmente, ressalvando-se situações especiais em que um grupo se exponha mais ao vetor. Segundo a Organização Panamericana de Saúde (OPS) (1995), as mulheres e as crianças constituem os grupos mais expostos. Portanto, o estado de imunidade da população à dengue, determinará a incidência e a distribuição da infecção nas diferentes faixas de idade (BARNES; ROSEN, 1974).

As epidemias de dengue geralmente ocorrem de forma explosiva, em localidades onde a população é susceptível ao vírus circulante. Durante essas epidemias, são observadas variações na taxa de transmissão viral, no percentual da população envolvida e na gravidade da doença. A taxa de ataque pode ser alta, de 80 a 90%, porém geralmente atinge 40 a 50% da população (HALSTEAD, 1997). No Brasil, o número de indivíduos acometidos pela dengue aumenta com a idade e varia de acordo com a região. Estudos de soroprevalência realizados no país têm encontrado uma prevalência para dengue em cerca de 70% da população urbana estudada (SIQUEIRA Jr. et al., 2005).

Nos países asiáticos, a dengue hemorrágica acomete preferencialmente crianças e adolescentes menores de 15 anos de idade (WICHMANN et al., 2004). A maioria dos casos de dengue hemorrágica, no Brasil, ocorreu em maiores de 15 anos de idade (SIQUEIRA Jr. et al, 2005). Apenas recentemente há registro de aumento do número de casos de dengue hemorrágica em crianças da região norte do país (SIQUEIRA Jr. et al, 2005), o que pode sugerir uma mudança no padrão de ocorrência das formas graves, dos adultos para a faixa etária de menores de 15 anos.

Com relação à dengue, existem ainda questões que precisam ser esclarecidas, como o fato de determinados grupos raciais apresentarem aparentemente, menor suscetibilidade à doença (GUZMÁN et al., 1990). Sugere-se, a existência de um gene humano de resistência, que moderaria a expressão clínica da doença, em indivíduos de origem africana, a partir de observações feitas no Haiti, onde não havia registros de casos de FHD apesar da circulação simultânea de três sorotipos e de estar circulando o genótipo Asiático do DENV-2 que foi associado à febre hemorrágica da dengue, em casos do Sudeste Asiático e nas Américas (Halstead et al. 2001).

Esses dados foram corroborados por estudos realizados no México, demonstrando a alta frequência na população de um importante alelo de resistência à febre hemorrágica da

dengue (LA FLEUR et al., 2002). Estudos realizados em Cuba encontraram, também, evidências de que os indivíduos de origem africana são menos susceptíveis à febre hemorrágica da dengue (SIERRA; KOURI; GUZMÁN, 2007).

Sabe-se, igualmente, que a dengue não é um importante problema de saúde pública na África, ao contrário do que ocorre com a febre amarela, em relação às Américas. Questiona-se, ainda, a existência de algum fator genético de proteção envolvendo a população das Américas, em virtude da diferença no comportamento da dengue em relação aos países asiáticos (HALSTEAD, 2006).

Geralmente é observado um padrão sazonal de incidência da dengue, coincidente com o verão, em virtude da maior ocorrência de chuvas e o aumento da temperatura nessa estação, fatores que favorecem o aumento dos índices de infestação e da densidade vetorial (ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DE SAÚDE, 1995). Apesar disso, surtos de dengue também podem ocorrer durante o período seco, e podem estar relacionados ou não, com a elevação da população do vetor (GUBLER, 1997; HALSTEAD, 1997).

Desse modo, a umidade e a temperatura do ambiente têm efeito sobre a transmissão do vírus. Durante a estação chuvosa, devido à alta umidade, a sobrevivência do mosquito é mais longa. Apesar de que, em algumas ocasiões, os mosquitos serão mais abundantes na estação seca quando ocorrem chuvas rápidas e esparsas. A formação de pequenas coleções de água favorece a eclosão dos ovos dessecados e o rápido aumento da forma adulta do mosquito (RODHAIN; ROSEN, 1997).

O vírus dengue é mantido em um ciclo de transmissão urbana: “Homem – mosquito – Homem”, principalmente através do mosquito *Aedes aegypti*. Depois de infectada, e após 8 a 12 dias de incubação do vírus, a fêmea do mosquito, que é hematófaga, passa a transmitir o vírus, ao picar o ser humano para se alimentar. A manutenção do vírus na natureza também se dá através da transmissão transovariana, assim como pela transmissão sexual (RODHAIN; ROSEN, 1997).

O tempo necessário para que o vírus ingerido alcance a glândula salivar do mosquito, varia com a temperatura, e é uma importante variável no desencadeamento da transmissão epidêmica. A temperatura alta encurta o período de incubação do vírus no mosquito, que em geral, é de 8 a 12 dias. A temperatura pode também afetar a maturação dos mosquitos; altas temperaturas produzem fêmeas menores que são forçadas a se alimentar um maior número de vezes para ingerir um volume de sangue para obter a proteína necessária para a maturação dos

ovos. Isto tem efeito no aumento do número de indivíduos infectados por uma única fêmea e também na capacidade vetorial do mosquito (KUNO, 1997).

1.2 Patogenia e Aspectos clínicos

A infecção pelos vírus dengue ocorre na maioria das vezes de forma assintomática e oligossintomática, uma doença febril indiferenciada. A dengue em sua forma branda é uma doença febril, não fatal, com duração de cinco a sete dias. O período de incubação do vírus no homem pode variar de 3 a 15 dias, mas usualmente é de cinco a sete dias (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1987).

Os principais sinais e sintomas são: febre súbita, dor retroorbitária, associada com o movimento dos olhos, congestão conjuntival, cefaléia, artralgia, mialgia, prostração, exantema máculo-papular generalizado, prurido, astenia, náuseas, vômitos, dor abdominal, sabor metálico nos alimentos, mudança no estado psicológico, podendo ocorrer depressão pós-doença. Em alguns casos, ocorre um segundo pico de febre, com duração de dois a três dias, desaparecendo em seguida (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1987; DIETZ et al., 1990).

Manifestações clínicas atípicas, também têm sido relatadas, entre estas, merecem destaque, as alterações hepáticas (SENEVIRATNE; MALAVIGE; SILVA, 2006; UEHARA et al, 2006), e as manifestações neurológicas associadas ao dengue (GUBLER et al., 1983; CHIMELLI et al., 1990; NOGUEIRA et al., 2002; PATEY et al., 1993; SOLOMON et al., 2000).

Os quatro sorotipos do vírus dengue podem causar, desde a enfermidade febril indiferenciada, até as formas mais graves, todas elas conferindo ao indivíduo, imunidade permanente ao sorotipo responsável pela infecção (ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE, 1995). Contudo, a infecção não confere imunidade cruzada, de modo que as pessoas que vivem em áreas endêmicas, onde circulam todos os sorotipos, poderão, potencialmente, ter as quatro infecções durante sua vida (GUBLER; CLARK, 1995; ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE, 1995). A proteção cruzada aos demais sorotipos é fugaz e, segundo experimentos realizados por Sabin (1952), não duram mais de 12 semanas (SABIN, 1952).

Várias doenças apresentam sintomas semelhantes aos da dengue e, por essa razão, de acordo com a região, devem ser consideradas no diagnóstico diferencial. Levando-se também em conta que a apresentação clínica da dengue varia, com o lugar, o tempo, a idade do paciente e o genótipo do vírus, um diagnóstico preciso da doença baseado apenas em critérios clínicos é quase sempre muito difícil, de modo que é imprescindível um sistema de vigilância baseado na confirmação laboratorial, principalmente nos períodos interepidêmicos e endêmicos (DIETZ et al., 1990).

Achados laboratoriais associados à dengue são neutropenia, com subsequente linfocitose, acompanhada por atipia linfocitária. A leucopenia é encontrada em 50 a 90% dos casos, e a plaquetopenia, em 35 a 50% dos casos confirmados. Na fase aguda da doença, a medula óssea apresenta uma hipocelularidade que se normaliza durante a fase convalescente (GEORGE; LUM, 1997).

Na dengue clássica, também podem ocorrer manifestações hemorrágicas, como epistaxes, petéquias, gengivorragia e metrorragia, em consequência da queda do número de plaquetas ($<100.000\text{mm}^3$), geralmente do quinto ao oitavo dia de doença. A hematúria e o sangramento gastrointestinal também estão associados à dengue clássica em cerca de 5 a 30% dos casos (GEORGE; LUM, 1997). Conseqüentemente, é extremamente importante saber distinguir os casos de dengue clássica com manifestações hemorrágicas, dos casos de febre hemorrágica da dengue.

O vírus dengue é predominantemente um agente linfotrópico e as principais células alvo para a replicação viral, parecem ser os fagócitos mononucleares, um fato que assume uma grande relevância na patogênese da febre hemorrágica da dengue (HALSTEAD, 1997). Ainda não estão totalmente esclarecidos, quais os fatores determinantes para a ocorrência da febre hemorrágica da dengue. Vários estudos vêm sendo desenvolvidos, na tentativa de elucidar os mecanismos imunopatogênicos determinantes da forma grave da doença. Algumas consagradas teorias procuram explicar esse fenômeno, com base em observações e estudos realizados no passado (HALSTEAD, 1970; ROSEN, 1977).

A teoria da infecção seqüencial (HALSTEAD, 1970), sugere que os principais fatores de risco associado à ocorrência da dengue hemorrágica estão relacionados com o estado de imunidade do indivíduo aos vírus dengue. A probabilidade de ocorrência da febre hemorrágica da dengue/síndrome do choque da dengue em um indivíduo que sofre uma infecção primária por dengue é significativamente menor do que no indivíduo que sofre uma infecção secundária (seqüencial) por um sorotipo diferente.

Segundo Halstead (1970), a presença de anticorpos heterólogos em concentrações subneutralizantes pode mediar a entrada dos vírus nas células. Este mecanismo de entrada dos vírus é denominado imunoamplificação da infecção dependente de anticorpos pré-existentes ou *ADE* (*antibody dependent enhancement*) e segundo esse autor, pode ter papel importante no desenvolvimento da febre hemorrágica da dengue, em indivíduos infectados secundariamente por um diferente sorotipo.

O fenômeno, de modo simplificado, pode ser explicado da seguinte forma: em uma infecção subsequente com um sorotipo diferente, os anticorpos pré-existentes ligam-se ao vírus, mas além de não o neutralizar, ainda facilitam a infecção dos monócitos. A porção Fc da molécula de imunoglobulina ligada ao vírus, adere a receptores Fc nos monócitos e a penetração nas células, por esta via, aumenta a eficiência da infecção. Um maior número de monócitos infectados resultará em maior liberação de citocinas na circulação, ocasionando dano vascular, choque e hemorragia, especialmente no trato gastrointestinal e na pele. Esses anticorpos “de favorecimento” exercem uma função patogênica na dengue hemorrágica (HALSTEAD, 1970).

Segundo ROSEN (1977), os fatores de risco para a febre hemorrágica da dengue estariam mais relacionados com os genótipos e os sorotipos do vírus envolvidos na infecção. Com base em outros estudos, esses fatores estariam associados a uma maior virulência de determinados genótipos do vírus (HOLMES; BURCH, 2000), com a idade e a predisposição genética do indivíduo (GUBLER; CLARK, 1995; HALSTEAD, 1997; GUZMÁN, 2002b) e com doenças crônicas pré-existentes, tais como asma brônquica, diabetes mellitus, anemia falciforme (BRAVO et al., 1987). Provavelmente, vários desses fatores ou a combinação deles estão envolvidos nesse processo.

Na febre hemorrágica da dengue e na síndrome do choque da dengue, ocorrem duas mudanças fisiopatológicas principais que determinam a gravidade da doença e, distingue a forma hemorrágica da dengue clássica. A primeira é a permeabilidade vascular aumentada, que leva à perda de plasma do compartimento vascular. Isso resulta em hemoconcentração, na baixa pressão sanguínea e outros sinais de choque, quando a perda de plasma se torna crítica. (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1987). O choque hipovolêmico pode ocorrer como consequência de uma perda acentuada no volume do plasma, seletivamente, para os espaços serosos (cavidades pleural e peritoneal) (HALSTEAD, 1997).

A segunda mudança é o distúrbio da hemostase, que envolve os três principais fatores: mudanças vasculares, trombocitopenia e coagulopatia. Um achado constante na febre

hemorrágica da dengue é a ativação do sistema de complemento, com profunda depressão dos níveis de C3 e C5 (ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE, 1995).

Estudos clínicos respaldam a hipótese de que a ativação de linfócitos T e a produção de citocinas são importantes na patogênese da febre hemorrágica da dengue (ROTHMAN; ENNIS, 1999). As células dendríticas e as células de Langerhans são os alvos primários principais na infecção natural pelos vírus dengue. Conseqüentemente são as principais células iniciadoras da resposta imune antiviral na infecção pelo vírus dengue. As células dendríticas são ativadas na infecção adquirindo a capacidade de promover a imunidade mediada por células (ROTHMAN; ENNIS, 1999).

Durante a fase febril aguda, a febre hemorrágica da dengue assemelha-se, em muitos aspectos, à forma clássica da doença (HALSTEAD, 1997). Manifestações hemorrágicas leves estão quase sempre presentes na febre hemorrágica da dengue. No início da fase febril, a prova do laço pode ser positiva. O estágio crítico da doença se dá no final da fase febril, quando ocorrem distúrbios circulatórios, acompanhando a queda rápida da temperatura, ou logo após. O paciente apresenta sudorese intensa, agitação e extremidades frias, pele fria e pegajosa. Nos casos leves, as alterações nos sinais vitais são mínimas e passageiras, e o paciente recupera-se espontaneamente (HALSTEAD, 1997).

Nos casos graves, a doença progride rapidamente para um estágio de choque. O início do choque é agudo e geralmente ocorre no momento da remissão da febre. Os pacientes com dengue hemorrágica reclamam de dor abdominal intensa e aguda (HALSTEAD, 1997). Além dos sinais e sintomas descritos, podem ocorrer, nos casos graves, sangramentos maiores como hematêmese, melena ou hematúria (GUBLER, 1998; ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE, 1995).

Para a confirmação dos casos de FHD/SCD são adotados internacionalmente os critérios da Organização Mundial de Saúde. Ou seja, a febre hemorrágica da dengue é uma doença febril aguda, com plaquetopenia ($\leq 100.000\text{mm}^3$) e elevação do hematócrito ($\geq 20\%$ acima do valor normal) ou outra evidência objetiva do aumento da permeabilidade vascular; a síndrome do choque da dengue, além do descrito para a febre hemorrágica da dengue, ocorre uma redução da pressão de pulso (≤ 20 mmHg) ou hipotensão (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1987; ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE, 1995). Plaquetopenia e hemoconcentração representam as duas principais alterações fisiopatológicas, ao lado da hemostase anormal e extravasamento de plasma (ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE, 1995).

A Organização Mundial de Saúde (1987) definiu um critério para classificar a dengue hemorrágica em quatro categorias, que leva em conta o nível de gravidade da doença. Após preencher os critérios de FHD, o caso pode ser classificado em quatro graus:

Grau I – A prova do laço positiva é a única manifestação hemorrágica;

Grau II – Além das manifestações do Grau I, ocorrem hemorragias espontâneas leves;

Grau III – Insuficiência circulatória manifestada por pulso rápido e fraco, redução da pressão de pulso ($\leq 20\text{mmHg}$) ou hipotensão, com a pele pegajosa e fria e inquietação;

Grau IV - Choque profundo, com pressão sanguínea e pulso não detectáveis.

Os graus III e IV são classificados como Síndrome do choque da dengue. As formas de apresentação mais comuns na febre hemorrágica da dengue são os graus I e II da doença. Na epidemia de Cuba em 1981 apenas 3% dos casos de dengue hemorrágica correspondiam aos os graus III e IV (GUZMÁN; KOURI, 2003).

Vários estudos sugerem que seja realizada uma reavaliação dos critérios adotados pela OMS para confirmação de casos de dengue hemorrágica. São propostas mudanças, principalmente com relação à hemoconcentração (RIGAU-PÉREZ, 2006; RIGAU-PÉREZ et al.1999; MARZOCHI, 1991). A letalidade esperada nos casos da febre hemorrágica da dengue é inferior a 1% (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1987). Na epidemia de Cuba, em 1981, a taxa de letalidade foi de 0,046% e na Venezuela, de 0,99%. A taxa de letalidade registrada no Brasil, no período de 1998 a 2002, foi de 5,4% e 6,2%, de 1990 a 2006, um índice muito elevado (SIQUEIRA Jr. et al, 2005).

Dano hepático é uma complicação freqüente na infecção pelos vírus dengue, e a determinação dos níveis das aminotransferases constitui um importante marcador de avaliação da gravidade de casos (SOUZA et al., 2007). Há registro de caso de hepatite fulminante causada pelo vírus dengue (LING; WILDER-SMITH; LEO, 2007).

Na infecção pelos vírus dengue, as aminotransferases podem estar elevadas, em 30 a 90% dos casos de dengue hemorrágica e também nos de dengue clássica. O nível da aspartato aminotransferase (AST) é mais elevado do que o da alanina aminotransferase (ALT), diferentemente do que é visto nas hepatites virais, em que os níveis da ALT são mais elevados do que os da AST (KUO et al., 1992). O padrão das aminotransferases observado na dengue é semelhante ao encontrado na hepatite alcoólica (SENEVIRATNE; MALAVIGE; SILVA, 2006). Não se sabe ao certo porque o nível da AST é maior do que o da ALT. Estudos sugerem que seja consequência do excesso de AST liberada pelos miócitos danificados durante a infecção pelo vírus dengue (KUO et al, 1992).

Foram observadas em estudos realizados no Rio de Janeiro, alterações nos níveis das aminotransferases em 60 a 65% dos casos analisados, chegando a atingir níveis superiores a 30 vezes os de referência (SOUZA et al, 2004; 2007). Níveis elevados da fosfatase alcalina e bilirrubina foram também observados, geralmente o nível máximo dessas enzimas é atingido nove dias depois do início dos sintomas, normalizando dentro de duas semanas (KUO et al., 1992). Níveis elevados da AST retornam ao normal mais rapidamente do que os da ALT, provavelmente porque a AST tem um tempo de vida mais curto (12.5 – 22h) do que a ALT (32-43 h) (SENEVIRATNE; MALAVIGE; SILVA, 2006).

As complicações neurológicas associadas ao dengue são conhecidas desde o início do século passado (GUBLER et al. 1983), entretanto com o aumento da ocorrência dos casos de dengue hemorrágica, maior ênfase foi dada a esta forma clínica da doença. As complicações neurológicas podem ocorrer tanto nos casos de dengue clássica como nos de dengue hemorrágica e não estão relacionadas com um sorotipo em particular (SOLOMON et al, 2000; GUBLER et al, 1983). Apesar disso, os sorotipos 2 e 3 têm sido frequentemente associados à etiologia de doenças neurológicas graves em países asiáticos (GEORGE; LUM, 1997).

Um aspecto relevante, na grande maioria dos pacientes com encefalopatia por dengue, é a falta de resposta inflamatória no líquido céfalo-raquidiano (LCR) que é usualmente normal para células brancas, proteína e glicose. A detecção de anticorpos IgM específicos pode ser feito no LCR, embora se apresente em níveis mais baixos do que no soro e podem não ser mais detectados após 30 dias de doença (GEORGE; LUM, 1997; GUBLER et al., 1983).

Com relação a outros aspectos clínicos, como a infecção congênita, não há evidências de que o vírus dengue possa causar má-formação congênita, aborto ou retardo do crescimento do feto durante a gravidez (GEORGE; LUM, 1997). No Brasil, em dez gestantes que contraíram dengue durante a gravidez, não foi detectado qualquer tipo de anomalia nos recém-nascidos (FIGUEIREDO; CARLUCCI; DUARTE, 1994).

Por outro lado, é sabido que se os neonatos ao contraírem a doença durante os primeiros nove meses de vida, os anticorpos maternos pré-existentes poderão predispor a criança ao processo de imunoamplificação, aumentando o risco de desenvolver a forma mais grave da doença, como se a criança estivesse experimentando uma infecção secundária (HALSTEAD, 1997).

1.3 Vírus dengue

Nos anos 40, durante a Segunda Guerra Mundial, a dengue era a causa de alta morbidade entre os soldados, por essa razão cientistas americanos e japoneses de forma independente, se empenharam em descobrir o agente etiológico da doença, que se sabia tratar-se de um vírus (GUBLER, 1997). Os pesquisadores japoneses Hotta e Kimura foram os primeiros a isolar o vírus dengue em 1943. Entretanto o anúncio da descoberta passou despercebido da comunidade científica mundial em virtude de ter sido publicada em um jornal japonês, pouco conhecido (GUBLER, 1997).

Em 1944, o grupo coordenado por Sabin também isolou o vírus de soldados americanos que contraíram a infecção no Havaí. Esse vírus foi denominado dengue 1 e a cepa originária do Havaí é o protótipo do sorotipo 1 (Hawai-DENV-1). Em seguida foi isolado outro vírus, antigenicamente distinto do dengue 1, a partir de amostras de sangue de soldados americanos provenientes da Nova Guiné, tendo sido denominado dengue 2, e tem como protótipo a cepa Nova Guiné C (NG”C”-DENV-2) (GUBLER, 1997; SABIN, 1952). Posteriormente, constatou-se que a cepa do vírus dengue 1 isolada pelos pesquisadores japoneses era idêntica à isolada pelo grupo americano (GUBLER, 1997).

Importantes experimentos foram realizados, pelo grupo de SABIN, com esses vírus (SABIN, 1952), servindo de base para estudos posteriores, inclusive relacionados com o vetor. Os vírus DENV-3 (protótipo H87) e o DENV-4 (protótipo H241) foram isolados em 1956, durante uma epidemia de febre hemorrágica da dengue ocorrida em Manila, Filipinas, por Hammon e colaboradores (GUBLER, 1997).

A classificação dos vírus dengue em sorotipos é tradicionalmente baseada em suas características antigênicas, analisadas por neutralização viral, por imunofluorescência em cultura de células e por fixação de complemento (DEUBEL, 1997).

O vírus dengue é esférico, envelopado, o seu genoma é constituído por um ácido ribonucléico (RNA) de fita simples, de polaridade positiva e não segmentado, com cerca de 11 kilobase (kb) (aproximadamente 10.200 nucleotídeos). O RNA viral é envolto por um nucleocapsídeo icosaédrico com 30 nanômetros (nm) de diâmetro, coberto por um envelope lipídico que confere ao virion, um tamanho final de 50 a 60nm de diâmetro (HENCHAL; PUTNAK 1990).

O nucleocapsídeo é composto por uma proteína denominada C, circundada por uma camada lipídica associada às proteínas de membrana (M) e envelope (E). A proteína E forma projeções de 5 a 10 nm de comprimento, com terminações arredondadas de cerca de 2 nm de diâmetro, ao longo da superfície externa do vírus (HENCHAL; PUTNAK 1990). O genoma dos *Flavivírus* possui apenas uma única fase aberta de leitura (*open reading frame-ORF*), codificando proteínas estruturais (S) e não estruturais (NS) e é flanqueada por duas regiões não codificantes (5' e 3') (CHANG, 1997).

A ORF dos vírus dengue possui 10.188, 10.173, 10.170 e 10.158 nucleotídeos de comprimento no DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4 e o RNA genômico codifica uma poliproteína precursora de 3.396, 3.391, 3.390 e 3.386 aminoácidos no DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4, respectivamente. Os genes que codificam as proteínas estruturais C, prM/M e E estão localizados na região 5' do genoma viral e ocupam cerca de 1/4 da capacidade de codificação do mesmo. A partir dessa região, no sentido 3', estão localizados os genes que codificam as sete proteínas não estruturais, NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5. As regiões 5' e 3', não codificantes, são importantes para a regulação da replicação viral (CHANG, 1997).

As proteínas que constituem a ORF dos vírus dengue se apresentam na seguinte ordem: **Cap5'-C-prM-E-NS1-NS2A-NS2B-NS3-NS4A-NS4B-NS5-3'** (CHANG, 1997).

O ciclo de replicação viral tem início após a entrada dos vírus na célula por endocitose, através da proteína viral do envelope (E) com receptores da membrana plasmática. A síntese de proteínas virais específicas está associada ao retículo endoplasmático rugoso e a replicação do RNA está localizada na região perinuclear (HENCHAL; PUTNAK 1990). Seguindo a síntese de uma poliproteína de cerca de 3.300 aminoácidos residuais, as proteínas virais são individualizadas após clivagem por proteases específicas e as primeiras proteínas liberadas são as estruturais: C, prM/M e E, seguidas pelas não estruturais: NS1, NS3 e NS5. A fase inicial de latência do ciclo de replicação leva aproximadamente 12 horas, após as quais a progênie do vírus começa a ser liberada (CHANG, 1997).

A proteína C, a primeira a ser sintetizada, é capaz de interagir com o ssRNA viral. É uma proteína de carga positiva que constitui o componente estrutural do nucleocapsídeo e está envolvida na montagem da partícula viral (CHANG, 1997).

Uma clivagem proteolítica na precursora prM durante a maturação viral dá origem à proteína M. Este processo de clivagem da prM em M precede a extrusão viral da célula

hospedeira, sendo essencial para a organização da estrutura superficial e infectividade do vírus. A presença de prM parece ser necessária para o correto dobramento da proteína E (LORENZ et al. 2002).

A proteína E é a principal proteína estrutural do vírus e é responsável por atividades biológicas do ciclo viral tais como montagem da partícula viral, interação com receptores celulares e fusão de membrana, além de ser o principal alvo para anticorpos neutralizantes e possuir atividade hemaglutinante (CHANG, 1997).

As proteínas não estruturais NS1, NS3 e NS5 possuem maior peso molecular e são as mais conservadas entre os *Flavivírus*. A proteína NS1 parece estar envolvida na morfogênese da partícula viral e tem importância imunológica, uma vez que a sua presença nas membranas celulares, determina a citólise das células infectadas, mediada pelo complemento (CHANG, 1997). A proteína NS3 possui atividade de protease e, possivelmente, de helicase. A proteína NS5 é a RNA polimerase viral, sendo a maior e a mais conservada dentre as proteínas dos *Flavivirus* (CHANG, 1997).

A proteína NS2A é a primeira das quatro proteínas pequenas (NS2A, NS2B, NS4A e NS4B) a ser sintetizada e está implicada no processamento da NS1. Por sua vez, as proteínas NS2B, NS4A e NS4B são pouco conservadas entre os *Flavivirus* e podem formar os componentes de membrana de complexos de replicação viral (HENCHAL, PUTNAK 1990; CHANG, 1997).

Os sítios de replicação destes vírus no homem parecem estar restritos às células da linhagem fagocítica mononuclear. As células alvo de infecções pelos vírus dengue in vivo incluem macrófagos, fibroblastos, hepatócitos e linfócitos (KING et al., 1999). A replicação desses vírus também foi demonstrada em células de Langerhans, células dérmicas e dendríticas intersticiais (WU et al. 2000).

Estudos têm demonstrado a presença de antígenos virais em células mononucleares fagocitárias do fígado, pulmão e baço. A presença de antígeno viral no hepatócito sugere a replicação destes vírus no fígado e a detecção de infiltrado de macrófagos CD68+ no cérebro indica que esta pode ser uma das vias de entrada dos vírus no cérebro (MIAGOSTOVICH et al., 1997).

A variação intratípica entre esses vírus foi demonstrada inicialmente, por meio de técnicas sorológicas, que constataram diferenças antigênicas e biológicas entre amostras de um mesmo sorotipo. Entretanto, as técnicas sorológicas não são satisfatórias para distinguir entre cepas, subtipos ou genótipos (DEUBEL, 1997).

A variabilidade antigênica e a genética entre o vírus dengue, também foi demonstrada por várias metodologias, tais como a análise antigênica através de painel de anticorpos monoclonais (MONATH et al., 1986), hibridização de cDNA-RNA (BLOK, 1985), hibridização utilizando peptídeos sintéticos, análise com endonucleases de restrição de produtos de RT-PCR (VORNDAM; KUNO; ROSADO, 1994) e a análise baseada em T₁ *fingerprints*, que agrupou o DENV-4 em 5 topotipos (TRENT et al., 1990).

Contudo a técnica de seqüenciamento possibilitou uma melhor análise das relações genéticas entre as amostras virais. Investigações realizadas na década de 90 sobre a evolução filogenética dos diversos sorotipos do vírus dengue identificaram subtipos e genótipos, por meio de seqüenciamento de fragmentos do RNA viral, podendo assim ser demonstrada a evolução molecular ocorrida dentro de um mesmo sorotipo de dengue. Todas essas técnicas dividem os sorotipos em “clusters” chamados topotipos, genótipos ou subtipos, dependendo do autor e do método de análise utilizado (DEUBEL, 1997).

A similaridade na seqüência nucleotídica entre os flavivírus de diferentes subgrupos, pode variar de 40 a 70% e pode ser inferior a 40%. A seqüência de aminoácidos entre as várias proteínas é altamente conservada no gênero *Flavivírus* e essas regiões podem corresponder aos domínios envolvidos em funções biológicas determinantes para o ciclo de vida do vírus. Em contraste, outras regiões são altamente variáveis, possivelmente refletindo uma rápida evolução, forte seleção imune de epitopos ou mesmo restrições na estrutura secundária do RNA (DEUBEL, 1997).

Com base na análise do genoma viral, os quatro sorotipos do vírus dengue podem ser agrupados em genótipos. Entretanto, não existe ainda uma uniformidade na classificação dos genótipos para cada um destes sorotipos. A caracterização genética depende da região do genoma viral estudada, do método e da análise adotados no estudo. A classificação dos genótipos leva em conta a distribuição geográfica das amostras do vírus analisadas. Esse assunto será mais bem discutido no capítulo 7 deste estudo.

De acordo com a classificação de Rico-Hesse (2003), que leva em conta a origem geográfica dos isolamentos primários das amostras virais analisadas, os quatro sorotipos do vírus dengue possuem os seguintes genótipos:

Genótipos do DENV-1: Tailândia; Ásia; Pacífico Sul; Américas/África; Malásia (Silvestre).

Genótipos do DENV-2: Malásia /Índia Subcontinental; Sudeste da Ásia; Américas; Oeste da África.

Genótipos do DENV-3: Sudeste da Ásia/Pacífico Sul; Tailândia; Índia Subcontinental; Américas.

Genótipos do DENV-4: Indonésia; Sudeste da Ásia; Malásia.

A classificação dos vírus dengue em genótipos tem grande importância no estudo da distribuição mundial e circulação destes vírus. Os genótipos podem ser classificados, epidemiologicamente, em baixo, médio ou alto impacto e algumas cepas do vírus podem permanecer num ciclo silvestre de pequena ou baixa transmissibilidade para o ser humano (RICO-HESSE, 2003). Análises filogenéticas e epidemiológicas têm sugerido que os genótipos mais virulentos estão substituindo aqueles de menor impacto epidemiológico, demonstrando que existem genótipos mais associados às formas graves da doença enquanto outros parecem causar apenas a forma clássica da doença (LEITMEYER et al., 1999; RICO-HESSE, 2003).

A falta de um modelo animal que reproduza a doença humana causada pelos vírus dengue tem dificultado a confirmação da virulência de determinadas cepas, apesar de geneticamente haver evidências de que existem cepas mais virulentas do que outras. Apesar disso a caracterização molecular das amostras virais associadas às epidemias, bem como a determinação da variabilidade genética e padrões de transmissão destas cepas são fundamentais para o desenvolvimento de estratégias efetivas no controle da doença (LANCIOTTI et al., 1994; LEITMEYER et al., 1999; RICO-HESSE, 1990; RICO-HESSE et al., 1997; 1998; RICO-HESSE, 2003).

Alguns genótipos dos vírus dengue possuem uma ampla distribuição geográfica, por isso mesmo são considerados cosmopolitas, enquanto que outros ficam restritos a uma determinada região. A maior diversidade genética dos vírus dengue é encontrada no Sudeste Asiático, um forte indicativo de que essa região é a fonte da origem da maioria dos vírus responsáveis por muitos surtos de dengue, particularmente dos registrados nas Américas nos últimos anos (ZHANG et al, 2005).

1.4 Diagnóstico laboratorial

Segundo Gubler (1989), a vigilância epidemiológica efetiva para a dengue deve incluir a capacidade de confirmação laboratorial de rotina e o monitoramento dos sorotipos

circulantes. A vigilância laboratorial é essencial para que se possa fazer o diagnóstico diferencial entre a dengue e outras doenças febris agudas devido às semelhanças clínicas encontradas.

Outra importante razão para a existência de uma vigilância laboratorial é que a gravidade da doença em alguns indivíduos, bem como o risco de grandes epidemias, pode depender do sorotipo e do genótipo do vírus dengue em circulação em uma região (GUBLER et al., 1981).

Para viabilizar as ações de vigilância epidemiológica da dengue é importante contar com uma rede organizada de Laboratórios de Saúde Pública atuando em conjunto com os demais serviços. O laboratório de saúde pública é um sistema de vigilância passiva, usualmente detecta uma proporção menor de casos do que uma vigilância epidemiológica ativa, porém constitui ainda uma importante fonte de notificação de casos. Durante uma epidemia, quando a incidência da doença aumenta, o sistema de vigilância laboratorial deve ser orientado para documentar a disseminação geográfica do vírus e os grupos populacionais afetados (RIGAU-PÉREZ; GUBLER, 1997).

De uma forma geral, o diagnóstico laboratorial da dengue tem como finalidade: 1) a confirmação laboratorial, sorológica ou virológica da doença; 2) a identificação dos sorotipos circulantes; 3) a confirmação laboratorial de todos os casos graves e fatais; 4) apoio aos inquéritos soro-epidemiológicos, para determinação dos níveis de transmissão da doença, e 5) a realização de estudos moleculares de forma a identificar os genótipos existentes na região (ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE, 1995; VORNDAM; KUNO, 1997).

Os critérios laboratoriais para confirmação de casos de dengue são os seguintes: 1) isolamento e identificação do vírus dengue em amostra de sangue (ou soro) ou em fragmentos de tecidos, amostras de necropsia; 2) detecção do ácido nucléico viral (RNA) pela técnica da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR); 3) demonstração de um aumento de quatro vezes ou mais nos títulos de anticorpos IgG ou IgM em amostras de soros pareados coletados na fase aguda da doença e na convalescença, para um ou mais antígenos do vírus dengue; 4) demonstração do antígeno em tecidos de necropsias por imunohistoquímica; e 6) detecção de IgM específica para dengue em amostra única de soro (ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE, 1995; VORNDAM; KUNO, 1997).

Os Laboratórios Centrais de Saúde Pública dos Estados estão capacitados a realizar grande parte desses testes diagnósticos. Para os testes que requerem técnicas mais complexas é possível contar com a colaboração dos Laboratórios de Referência Nacional e Regionais. As

técnicas de isolamento de vírus, os testes sorológicos e as técnicas moleculares serão apresentados ao longo do trabalho. Convém salientar que se trata de técnicas já padronizadas e adotadas mundialmente.

Entretanto, para que o diagnóstico laboratorial seja eficiente, será necessário levar em consideração alguns importantes aspectos, como por exemplo, o momento adequado para se coletar a amostra de sangue no paciente e para qual tipo de exame ela se destinará. Essa informação também tem importância na interpretação dos resultados.

Para o isolamento de vírus a coleta de sangue deve ser realizada na primeira semana da doença durante a fase aguda, quando há vírus na corrente sanguínea. Essa amostra também é utilizada para a detecção do RNA viral na reação em cadeia da polimerase (RT-PCR). O vírus também pode ser isolado a partir de mosquitos *Aedes aegypti* capturados nas residências dos pacientes (VORNDAM, KUNO, 1997).

O diagnóstico sorológico detecta anticorpos específicos para o vírus dengue e complementa o diagnóstico virológico ou, quando este não é possível, serve como meio alternativo de diagnóstico. Os anticorpos IgM específicos para os vírus dengue são produzidos temporariamente tanto durante a infecção primária quanto na secundária. A IgM anti-dengue pode ser detectada, geralmente a partir do quinto dia da doença e pode persistir por 60 a 90 dias após o início da doença. Portanto sua detecção em qualquer amostra de soro indica uma infecção ativa ou recente, ocorrida nos últimos dois a três meses.

Entretanto, durante uma infecção secundária, alguns pacientes não apresentam IgM anti-dengue em níveis detectáveis, sendo necessário realizar outros testes sorológicos, como os testes de neutralização e inibição da hemaglutinação, para confirmação do caso (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 1987; VORNDAM; KUNO, 1997). Os anticorpos IgG específicos para dengue também são produzidos durante as infecções primárias e secundárias, mas o nível de IgG anti-dengue produzida nas infecções secundárias é muito maior do que nas infecções primárias (VORNDAM; KUNO, 1997).

Após a infecção primária, durante o início da convalescença, são detectados anticorpos neutralizantes relativamente monotípicos. Após infecções secundárias são produzidos altos títulos de anticorpos neutralizantes para dois ou mais dos quatro sorotipos de dengue. Em algumas combinações de infecções sequenciais, o título mais alto de anticorpos neutralizantes no soro do paciente convalescente é dirigido contra o vírus que infectou o paciente anteriormente (não o vírus da atual infecção), o chamado fenômeno do “pecado original

antigênico” (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 1987), o que pode dificultar a interpretação do teste.

1.5 O desenvolvimento de vacinas: estado atual

Apesar de ainda não haver uma vacina disponível que possa prevenir contra a dengue, já existem várias vacinas candidatas em diferentes estágios de desenvolvimento. São produtos que utilizam tanto a tecnologia convencional das vacinas com vírus atenuados, como as novas tecnologias de manipulação genética (JACOBS; YOUNG, 2003; KONISHI, E.; KOSUGI, S.; IMOTO, 2006).

Atualmente, duas vacinas tetravalentes, usando vírus atenuado por passagens sucessivas em cultura de células, já foram patenteadas e os testes clínicos encontram-se na fase 2, capturado em: 9/10/2007 (<<http://www.pdvi.org/vaccines/vaccine.htm>>). Uma vacina desenvolvida na Universidade Mahidol em Bangkok (Tailândia) foi licenciada pelo laboratório Aventis Pasteur (Lyon, França) e outra, desenvolvida pelo Walter Reed Army Institute for Research (Silver Spring, Estados Unidos), licenciada pela Glaxo Smith Kline (Rixensart, Bélgica). Os primeiros testes clínicos, com essas duas vacinas-candidatas, demonstraram que elas são capazes de induzir uma resposta imune para os quatro sorotipos do vírus (STEPHENSON, 2005; ALMOND et al., 2002), embora reações colaterais importantes, nos voluntários vacinados, foram observadas com a aplicação da primeira vacina.

Técnicas de manipulação genética, que levam à produção de clones infecciosos de vírus, constituem a base de novas vacinas potenciais. Para a produção desses clones infecciosos é utilizada a estrutura (esqueleto) de vírus atenuados, como por exemplo, as cepas 17D ou a 17DD do vírus da Febre Amarela, nas quais são inseridos genes selecionados de sorotipos do vírus dengue. Além desses novos vírus, denominados vírus quiméricos (MONATH et al., 2002), vários grupos de pesquisas estão desenvolvendo vacinas com diferentes tipos de abordagens como, por exemplo: genes do vírus dengue têm sido inseridos em plasmídeos, no vírus vaccínia e adenovírus defectivos, com graus variáveis de sucesso (TIMOFEEV; BUTENKO; STEPHENSON, 2004; KONISHI; KOSUGI; IMOTO, 2006).

Uma vacina quimérica tetravalente em estudo, submetida aos testes de avaliação, produziu anticorpos neutralizantes em macacos rhesus contra os quatro sorotipos do vírus

dengue (RAVIPRAKASH et al., 2006). A maioria das vacinas em desenvolvimento utiliza a proteína E do vírus dengue para produzir resposta imune. Entretanto, sabe-se que a resposta imune mediada por células estimulada por essa proteína é fraca, além do risco de induzir a doença pelo fenômeno da imunoamplificação dos anticorpos. Por essa razão, está sendo empregada, na preparação de novas vacinas, a proteína não-estrutural NS1 do vírus, com resultados satisfatórios em camundongos (TIMOFEEV; BUTENKO; STEPHENSON, 2004; COSTA et al., 2007).

Apesar de apresentar uma resposta imune menos eficiente, para evitar problemas relacionados com reações adversas e também com uma possível recombinação de um vírus vacinal com outro vírus selvagem (HALSTEAD; DEEN, 2002), é que se têm procurado desenvolver vacinas utilizando vírus quiméricos contra alguns importantes *Flavivírus*, como o vírus da encefalite japonesa e o vírus dengue, sem utilizar vírus vivos, nem mesmo os atenuados (ALMOND et al, 2002). Apesar do grande otimismo, a liberação de uma vacina efetiva contra os quatro sorotipos do vírus dengue, ainda demanda vários anos de pesquisa, inclusive o tempo necessário para a realização dos testes clínicos em seres humanos.

REFERÊNCIAS

- ALMOND, J. et al. Accelerating the development and introduction of a dengue vaccine for poor children, 5-8 December 2001, Ho Chi Minh City, VietNam. **Vaccine**, Guildford, v. 20, p. 3043-3046, 2002.
- BARNES, W. J. S.; ROSEN, L. Fatal hemorrhagic disease and shock associated with primary dengue infection on a Pacific island. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 23, p. 495-506, 1974.
- BLOK, J. Genetic relationships of the dengue virus serotypes. **The Journal of General Virology**, London, v. 66, p. 1323-1325, 1985.
- BRAVO, J. R.; GUZMÁN, M. G.; KOURI, G. P. Why dengue haemorrhagic fever in Cuba? I. Individual risk factors for dengue haemorrhagic fever/dengue shock syndrome (DHF/DSS). **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 81, p. 816-820, 1987.
- CHANG, G. J. Molecular biology of Dengue virus. In: GUBLER, D. J. e KUNO, G. (Ed.), **Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever**, New York: CAB International, 1997, p. 175-197.
- CHIMELLI, L. et al. Dengue: Neuropathological findings in 5 fatal cases from Brazil. **Clinical Neuropathology**, Munich, v. 9, p.157-162, 1990.
- COSTA, S. M. et al. DNA vaccines against dengue virus base don the NS1 gene: the influence of different signal sequences on the protein expression and its correlation to the immune response elicited in mice. **Virology**, New York, v. 358, p. 413-423, 2007.
- DEUBEL, V. The contribution of molecular techniques to the diagnosis of dengue infection. In: GUBLER, D. J.; KUNO, G. (Ed.), **Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever**, New York: CAB International, 1997, p. 335-365.
- DIETZ, V. J. et al. Epidemic dengue 1 in Brazil, 1986: evaluation of a clinically based dengue surveillance system. **American Journal of Epidemiology**, Baltimore, v. 131, p. 693-701, 1990.
- FIGUEIREDO, L. T. M; CARLUSSI, R. H.; DUARTE, G. Estudo prospectivo com crianças cujas mães tiveram dengue na gravidez. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 36, p. 417-421, 1994.
- FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (Brasil). **Dengue no Brasil**: Planilha de casos notificados por UF e Regiões, no período 1981-2006. Brasília. Disponível em: <<http://www.funasa.gov.br>>. Acesso em: 12 mai 2007.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (Brasil). **Manual de Dengue - Vigilância Epidemiológica e Atenção ao Doente**. 2 ed. Brasília, 1996.

GEORGE, R.; LUM, L. C. S. Clinical spectrum of dengue infection. In: GUBLER, D. J. e KUNO, G. (Ed.), **Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever**, New York : CAB International, 1997, p. 89-113, 1997.

GUBLER, D. J. Epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health, social and economic problem in the 21st century. **Trends in Microbiology**, Oxford, v. 10, p. 100-103, 2002.

GUBLER, D. J. Dengue and Dengue hemorrhagic fever. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 11, p. 480-496, 1998.

GUBLER, D. J. Dengue and dengue hemorrhagic fever: its history and resurgence as a global public health problem. In: GUBLER, D. J.; KUNO, G. (Ed), **Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever**, New York: CAB International, 1997, p. 1-22.

GUBLER, D. J.; CLARK, G. G. Dengue/Dengue hemorrhagic fever: the emergence of a global health problem. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 1, p. 55-57, 1995.

GUBLER, D. J. Surveillance for dengue and dengue hemorrhagic fever. **Bulletin of the Pan American Health Organization**, Washington, v. 23, p. 397-404, 1989.

GUBLER, D. J.; KUNO, G.; WATERMAN, S. H. Neurologic disorders associated with Dengue infection. In: **Proceedings of the International Conference on Dengue / Dengue haemorrhagic fever**. Kuala Lumpur, Malasia, p. 290-306, 1983.

GUBLER, D. J. et al. Epidemic Dengue 3 in Central Java, associated with low viremia in man. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 30, p. 1094-1099, 1981.

GUZMÁN, M. G.; KOURI, G. Dengue and dengue hemorrhagic fever in the Américas: lessons and challenges. **Journal of Clinical Virology**, Washington, v. 27, p. 1-3, 2003.

GUZMÁN, M. G.; KOURI, G. Dengue: an update. **The Lancet Infectious Diseases**, New York, v. 2, p. 33-42, 2002 a.

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

GUZMÁN, M. G. et al. Dengue en Nicaragua, 1994: reintroducción del sorotipo 3 en las Américas. **Boletim da Oficina Sanitária Panamericana**, Washington, v. 12, p. 102-110, 1996.

GUZMAN, M. G. et al. Estimación de las afectaciones econòmicas causadas como consecuencia de la epidemia de dengue hemorrágico ocurrida em Cuba en 1981. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, Havana v.44, p.13-17, 1992.

GUZMÁN, M. G.; KOURI, G. P.; BRAVO, J.; SOLER, M.; VASQUEZ, S.; MORIER, L. Dengue hemorrhagic fever in Cuba, 1981: a retrospective seroepidemiologic study. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 42, p. 179-184, 1990.

HALSTEAD, S.B. Dengue in the Americas and Southeast Asia: Do they differ? **Pan American Journal of Public Health**, Washington, v. 20, p. 407-415, 2006.

HALSTEAD, S. B. Epidemiology of dengue and dengue hemorrhagic fever. In: GUBLER, D. J. e KUNO, G. (Ed.), **Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever**, New York: CAB International, 1997, p. 23-44.

HALSTEAD, S. B. Observations related to pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. VI. Hypothesis and discussion. **Yale Journal of Biology and Medicine**, v. 42, p. 350, 1970.

HALSTEAD, S. B; DEEN, J. The future of dengue vaccines. **The Lancet**, London, v. 360, p. 1243-1245, 2002.

HALSTEAD, S. B. et al. Absence of dengue hemorrhagic fever despite hyperendemic dengue virus transmission. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 65, p. 180-183, 2001.

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

HOLMES, E. C.; BURCH, S. S. The causes and consequences of genetic variation in dengue virus. **Trends in Microbiology**, Cambridge, v. 8, p. 74-77, 2000.

JACOBS, M.; YOUNG, P. Dengue vaccines: preparing to roll back dengue. **Current Opinion Investigational Drugs**, London, v.4 p. 168-171, 2003.

KING, A. D. et al B cells are the principal circulating mononuclear cells infected by dengue virus. **The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, Bangkok, v. 30, p. 718-728, 1999.

KONISHI, E.; KOSUGI, S.; IMOTO, J. Dengue tetravalent DNA vaccine inducing neutralizing antibody and anamnestic responses to four serotypes in mice. **Vaccine**, Guildford, v. 24, p. 2200-2207, 2006.

KUNO, G. Factors influencing the transmission of dengue viruses. In: GUBLER, D. J.; KUNO, G. (Ed.), **Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever**, New York: CAB International, 1997, p. 61-87.

KUO, C. H. et al. Liver biochemical tests and dengue fever. **The Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 47, p. 265-270, 1992.

LA FLUER, 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, p. 1039-1044, 2002.

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

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

LING, L. M.; WILDER-SMITH, A.; LEO, Y. S. Fulminant hepatitis in dengue haemorrhagic fever. **Journal of Clinical Virology**, Washington, v. 38, p. 265-268, 2007.

LORENZ. I. C. et al. Folding and dimerization of tick-borne encephalitis virus envelope proteins prM and E in the endoplasmatic reticulum. **Journal of Virology**, Baltimore, v. 76, p. 5480-5491, 2002.

MARZOCHI, K. B. F. Dengue, Classificação clínica. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 7, p. 409-415, 1991.

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

MONATH, T. P. et al. Clinical proof of principle for for ChimeriVax TM: recombinant live, attenuated vaccines against flavivirus infections. **Vaccine**, Guildford, v. 20, p. 1004-1018, 2002.

MONATH, T. P. Dengue: The risk to developed and developing countries. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 91, p. 2395-2400, 1994.

MONATH, T. P. et al. Geographic classification of dengue-2 strain by antigen signature analysis. **Virology**, New York, v. 154, p. 313-324, 1986.

NOGUEIRA, R. M. R. et al. Dengue virus infection of the Central nervous system (CNS) a case report from Brazil. **The Southeast Asian Journal of Tropical Public Health**, Bangkok, v. 33, p. 68-71, 2002.

NOGUEIRA, R. M. R. et al. Dengue virus type 3 in Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 96, p. 925-926, 2001.

NOGUEIRA, R. M. R. et al. Dengue epidemic in the state of Rio de Janeiro, Brazil, 1990-1: co-circulation of dengue 1 and dengue 2 serotypes **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v. 111, p. 163-170, 1993.

NOGUEIRA, R. M. R. et al. Dengue Haemorrhagic Fever/ Dengue Shock Syndrome (DHF/DSS) caused by serotype 2 in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 86, n.2, p. 269, 1991.

NOGUEIRA, R. M. R. et al. Isolation of Dengue virus type 2 in Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 85, p. 253, 1990.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Dengue prevention and control**, Fifty-five World Health assembly A55/19 Geneva, 2002.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Dengue hemorrágico: diagnóstico, tratamento e controle**. Genebra, 1987.

ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE. Dengue y Dengue hemorrágico en las Américas: guías para su prevención y control. **Publicación Científica n.548**, Washington, D.C., 1995.

OSANAI, C. H. et al. Surto de Dengue em Boa Vista, Roraima. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 25, p. 53-54, 1983.

PATEY, A. et al. Unusual neurologic manifestations occurring during dengue fever infection. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 48, p. 793-802, 1993.

PEDRO, A. O dengue em Nictheroy. **Brazil-Médico**, Rio de Janeiro, v. 37, p. 173-177, 1923.

RAVIPRAKASH, K. et al. A chimeric tetravalent dengue DNA vaccine elicits neutralizing antibody to all four virus serotypes in rhesus macaques. **Virology**, New York, v. 353, p. 166-173, 2006.

RICO-HESSE, R. Microevolution and virulence of dengue viruses. **Advances in virus Research**, New York, v. 59, p. 315-341, 2003.

RICO-HESSE, R. et al. Molecular evolution of dengue type 2 virus in Thailand. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v.58, p. 96-101, 1998.

RICO-HESSE, R. et al. Origins of dengue type 2 viruses associated with increased pathogenicity in the Americas. **Virology**, New York, v. 230, p. 244-251, 1997.

RICO-HESSE, R. Molecular evolution and distribution of dengue viruses type 1 and 2 in nature. **Virology**, New York, v. 174, p. 1-15, 1990.

RIGAU-PÉREZ, J. G. Severe dengue: the need for new case definitions. **The Lancet Infectious Diseases**, New York, v. 6, p. 297-302, 2006.

RIGAU-PÉREZ, J. G. et al. The reappearance of dengue-3 and a subsequent Dengue-4 and Dengue-1 epidemic in Puerto Rico in 1998. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 67, n. 4, p. 355-362, 2002.

RIGAU-PÉREZ, J.G. et al. An Evaluation of modified case definitions for the detection of dengue hemorrhagic fever. **Puerto Rico Health Sciences Journal**, Puerto Rico, v. 18, p. 347-352, 1999.

RIGAU-PÉREZ, J. G.; GUBLER, D. J. Surveillance for dengue and dengue hemorrhagic fever. In: GUBLER, D. J.; KUNO, G. (Ed.), **Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever**, New York: CAB International, 1997, p. 405-423.

RODHAIN, F.; ROSEN, L. Mosquito vectors and dengue virus-vector relationships. In: GUBLER, D. J.; KUNO, G. (Ed.), **Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever**, New York: CAB International, 1997, p. 45-60.

ROSEN, L. The emperor's new clothes revisited, or reflections on the pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. **The American Journal 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.

SABIN, A.B. Research on Dengue during World War II. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 1, n. 30, p. 30-50, 1952.

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

SCHATZMAYR, H.G.; NOGUEIRA, R.M.R.; TRAVASSOS DA ROSA, A.P.A. An Outbreak of Dengue virus at Rio de Janeiro-1986. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 81, n. 2, p. 245-246, 1986.

SIERRA, B. C.; KOURI, G.; GUZMÁN, M. G. Race: a risk factor for dengue hemorrhagic fever. **Archives of Virology**, Heidelberg, v. 152, p. 533-542, 2007.

SIQUEIRA Jr, J. B. et al. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever, Brazil, 1981-2002. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 11, n. 1, p. 48-53, 2005.

SOLOMON, T. et al. Neurological manifestation of dengue. **The Lancet**, London, v. 355, p. 1053-1059, 2000.

- SOUZA, L. J. et al. The impact of dengue on liver function as evaluated by aminotransferases levels. **The Brazilian Journal Infectious Diseases**, Salvador, v. 11, n. 4, p. 407-410, 2007.
- SOUZA, L. J. et al. Aminotransferase changes and acute hepatitis with dengue fever: analysis of 1585 cases. **The Brazilian Journal Infectious Diseases**, Salvador, v. 8, p. 156-163, 2004.
- STEPHENSON, J. R. The problem with dengue. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 99, p. 643-646, 2005.
- TIMOFEEV, A. V.; BUTENKO, V. M.; STEPHENSON, J. R. Genetic vaccination of mice with plasmids encoding the NS1 non-structural protein from Tick-borne encephalitis virus and dengue 2 virus. **Virus Genes**, Boston, v. 28, p. 85-97, 2004.
- TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A. et al Dengue Epidemic in Belém, Pará, Brazil, 1996-1997. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 6, n. 3, p. 298-301, 2000.
- TRENT, D. W. et al. The molecular epidemiology of dengue viruses: genetic variation and microevolution. **Applied Virology Research**, New York, v. 2, p. 293-315, 1990.
- VASCONCELOS, P. F. C. et al. A large epidemic of dengue fever with dengue hemorrhagic cases in Ceará state, Brazil, 1994. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 37, n. 3, p. 253-255, 1995.
- VORNDAM, V.; KUNO, G. Laboratory Diagnosis of dengue virus infection. . In: GUBLER, D. J.; KUNO, G. (Ed.), **Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever**, New York: CAB International, 1997, p. 313-333.
- VORNDAM, V.; KUNO, G.; ROSADO, N. A PCR-restriction enzyme technique for determining dengue virus Subgroups within serotypes. **Journal of Virological Methods**, Amsterdam, v. 48, p. 237-244, 1994.
- 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, n. 9, p.1 022-1029, 2004.
- WU, S. J. et al. Human skin Langerhans cells are targets of dengue virus infection. **Nature Medicine**, New York, v. 6, p. 816-820, 2000.
- ZHANG, C. et al. Clade replacements in Dengue virus serotypes 1 and 3 are associated with changing serotype prevalence. **Journal of Virology**, Baltimore, v. 79, n. 24, p. 15123-15130, 2005.

**ORIGEM E EVOLUÇÃO DA
DENGUE EM PERNAMBUCO,
PERÍODO 1987-1994**

2 ORIGEM E EVOLUÇÃO DA DENGUE EM PERNAMBUCO, 1987-1994

2.1 Implantação da vigilância laboratorial e os primeiros casos diagnosticados

Com a reintrodução da dengue no Brasil, no início de 1986, no Rio de Janeiro, (SCHATZMAYR; NOGUEIRA; TRAVASSOS DA ROSA, 1986) e diante da possibilidade de disseminação do DENV-1 para outros estados brasileiros, as autoridades de saúde em Pernambuco adotaram medidas de monitoramento dos casos suspeitos, com várias ações desencadeadas com o objetivo de evitar a introdução do vírus no Estado.

Em junho de 1986 foi criado o Programa de Vigilância Epidemiológica da Dengue na Secretaria de Saúde do Estado de Pernambuco com a participação da Superintendência de Campanhas de Saúde Pública (SUCAM) e da Fundação Serviços de Saúde Pública (FSESP), do Ministério da Saúde. Além do combate ao vetor, foi instituída oficialmente a Vigilância Laboratorial da dengue ficando sob a responsabilidade do Laboratório Central de Saúde Pública Dr. Milton Bezerra Sobral (LACEN-PE) a análise de todos os casos notificados como dengue e também aqueles com sintomatologia sugestiva de dengue.

Para a vigilância laboratorial foi implantada, inicialmente, a técnica de Inibição da Hemaglutinação (HI) proposta por Clarke e Casals (1958), com o objetivo de avaliar a prevalência de anticorpos para *Flavivírus* na população do Estado, em particular para o vírus dengue e febre amarela. Entretanto, com o registro dos primeiros casos de dengue em Pernambuco em 1986, que foram considerados na época como importados dos estados do Rio de Janeiro e de Alagoas, foi implantada também a técnica de isolamento de vírus em cultura de células de mosquito, utilizando-se linhagens celulares como as de *Aedes albopictus* (clone C6/36), *Toxorhynchitesamboinensis* (TRA-284-SF) e a de *Aedes pseudoscutellaris* (AP61), com o objetivo de monitorar a circulação do vírus.

Em virtude da necessidade de se detectar e confirmar os casos agudos de dengue de forma mais rápida, passou-se a utilizar o teste imunoenzimático para detectar anticorpos IgM específico para dengue (MAC-ELISA) de acordo com KUNO; GÓMEZ; GUBLER (1987). Na ocasião, significou um grande avanço no diagnóstico laboratorial da infecção pelos vírus dengue, uma vez que o teste de inibição da hemaglutinação exige amostras de sangue coletadas na fase aguda da doença e na convalescença (amostras pareadas) para que se possa

confirmar uma infecção recente. Ambos os testes sorológicos continuam, ainda hoje, sendo utilizados pelos Laboratórios de Referência em Arbovírus e são recomendados para o diagnóstico laboratorial de dengue.

Mesmo com a adoção de algumas medidas e ações para conter a doença, a epidemia de dengue continuou sua expansão, particularmente para a região nordeste. Depois do Rio de Janeiro a epidemia atingiu os estados de Alagoas e Ceará. Com isso, as ações de combate ao vetor, instituídas pela SUCAM/MS foram intensificadas em Pernambuco com o objetivo de evitar o estabelecimento do vírus no Estado, de modo que a busca por focos dos mosquitos *Aedes aegypti* e/ou *Aedes albopictus* tornou-se mais intensa, principalmente nos municípios situados na fronteira com os estados de Alagoas e Ceará (SUPERINTENDÊNCIA DE CAMPANHAS DE SAÚDE PÚBLICA, 1988).

Em maio de 1986, um surto de dengue foi confirmado em Maceió e em outros municípios de Alagoas, com 9.383 casos notificados (SUPERINTENDÊNCIA DE CAMPANHAS DE SAÚDE PÚBLICA, 1988). Ainda em maio de 1986, foram encontradas larvas de *Aedes aegypti* dentro de pneus usados em uma borracharia no município de Palmares, na região da Mata Sul do Estado, distante 120 km da cidade de Recife, situado na fronteira com o estado de Alagoas. Além deste, outros focos foram encontrados nas proximidades, entretanto nenhum caso suspeito de dengue no município havia sido notificado até aquele momento.

Levando-se em consideração que os inquéritos soro-epidemiológicos fornecem informações mais precisas de incidência e de prevalência que os dados de notificação de demanda espontânea, ou mesmo de busca ativa de casos, logo após a descoberta dos focos do vetor, foi realizado um inquérito sorológico em Palmares, no início do mês de junho de 1986, com o objetivo de verificar se o vírus dengue havia circulado ou estava circulando naquele município.

Amostras de sangue foram coletadas de moradores das áreas próximas dos locais onde haviam sido encontrados os focos do vetor. Nas residências sorteadas, após explicação dos objetivos do estudo, foram coletadas amostras de sangue das pessoas que se encontravam na residência e que concordaram em participar do estudo. Foi preenchido um questionário contendo os dados pessoais e foram feitas as seguintes perguntas, de simples resposta: Observaram mosquitos picando durante o dia? Ele/a ou algum membro da família havia apresentado quadro febril nos últimos dias? A pessoa que estava doando a amostra de sangue

havia realizado alguma viagem recente? Em caso afirmativo, qual o destino e a data da viagem e se era vacinado contra febre amarela.

O tamanho da amostra não foi pré-estabelecido, por se tratar de um inquérito visando obter informações preliminares que iriam subsidiar as ações de combate ao vetor no Estado. Foram coletadas amostras de sangue de 151 pessoas, todas em um único dia. As 151 amostras de soro foram submetidas aos testes para isolamento de vírus e pesquisa de anticorpos IgM para dengue, tendo apresentado resultado negativo em todas as amostras, em ambos os testes.

No teste de inibição da hemaglutinação empregado para a detecção de anticorpos totais (IgM e IgG), foram utilizados os seguintes antígenos: vírus dengue sorotipos 1, 2, 3 e 4, febre amarela vacinal (cepa 17D) e febre amarela silvestre (cepa H111), fornecidos pelo Instituto Evandro Chagas, MS/FSESP, Belém – Pará, Laboratório de Referência Nacional para Arbovírus, naquela ocasião pertencente à FSESP/MS.

O teste de inibição da hemaglutinação apresentou resultado positivo para DENV-1 em duas amostras de soro com títulos de anticorpos de 1:40. Em amostras de três voluntários foram detectados anticorpos para febre amarela em títulos baixos, 1:40 em duas amostras e 1:80 em outra, porém estes participantes eram vacinados contra Febre Amarela.

Dos cinco participantes que apresentaram sorologia positiva para *Flavivírus* (dengue e febre amarela) foi coletada uma segunda amostra de sangue para a realização de testes sorológicos pareados, porém não foi constatada conversão sorológica, ou seja, aumento no título de anticorpos entre a primeira e a segunda amostra, significando que os anticorpos detectados eram de uma infecção passada. Os dois participantes que apresentaram anticorpos para dengue mencionaram uma viagem à Maceió, porém não perceberam qualquer sintoma sugestivo de dengue, ou seja, a infecção foi assintomática ou passou despercebida. Com a realização deste estudo laboratorial e epidemiológico concluiu-se que não tinha havido circulação do vírus dengue em Palmares, até aquele momento.

Com a reintrodução do *Aedes aegypti* no país, mais precisamente em Salvador, em 1976, no Rio de Janeiro, em 1978 e em Natal (RN), em 1979, mais uma vez as atividades de combate ao vetor foram reativadas. A SUCAM assumiu essa atribuição, porém diante da insuficiência de recursos e da expansão do vetor para outros estados, a situação, a partir de 1982, foi se agravando, de modo que no final de 1984, além do Rio de Janeiro e da Bahia, os estados de Alagoas, Ceará, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Pernambuco, Sergipe, São Paulo, Paraíba, Espírito Santo, Maranhão e Piauí, comprovadamente tinham a presença do vetor. No início de 1986, do total de 3.458 municípios desses Estados, já havia 576

municípios reinfestados (SUPERINTENDÊNCIA DE CAMPANHAS DE SAÚDE PÚBLICA, 1988).

De acordo com dados da SUCAM (1988), em 1984, o estado de Pernambuco foi reinfestado pelo *Aedes aegypti*, sendo detectado em 90 municípios. Entretanto, em 1988 só restavam dez municípios com presença do vetor. Já o estado do Ceará, em 1984, chegou a ter mais de 90 municípios com presença do *Aedes aegypti* e, apesar das atividades de combate ao mosquito, em 1988, o vetor ainda era encontrado em 53 municípios.

Em agosto de 1986 teve início a epidemia de dengue no estado do Ceará com 4.419 casos notificados, atingindo um total de 57 municípios, muitos deles fazendo fronteira com Pernambuco. O vetor ainda estava presente em 14 municípios de Pernambuco de modo que as buscas por focos e as ações de combate ao *Aedes aegypti* sob a coordenação da SUCAM, foram intensificadas em todo o Estado. Em 76 municípios havia armadilhas instaladas. Foram realizados mutirões de limpeza e remoção do lixo, proibição de sucatas e borracharias a céu aberto, sendo priorizadas as áreas indicadas pela SUCAM em razão do grau de infestação pelo *Aedes aegypti* (SUPERINTENDÊNCIA DE CAMPANHAS DE SAÚDE PÚBLICA, 1988).

Além do combate ao vetor, foi implantado no Estado um sistema de vigilância epidemiológica e laboratorial das enfermidades febris exantemáticas. Todos os casos suspeitos de infecção por rubéola e sarampo eram também testados para dengue. O objetivo era detectar precocemente qualquer caso positivo de dengue, de modo a permitir a adoção de medidas que impedissem o estabelecimento da circulação viral.

Em 1986 foram analisados laboratorialmente 153 casos suspeitos de dengue (128 de Recife e 25 de outros municípios), com 38 casos positivos para dengue (27 do Recife e 11 de outros municípios), porém todos eles após investigação epidemiológica, foram confirmados como sendo casos importados, principalmente dos estados de Alagoas e do Ceará. Isolou-se o DENV-1 de oito amostras de sangue coletadas na fase aguda da doença, identificados através da técnica de imunofluorescência, utilizando-se anticorpos monoclonais.

As sorologias positivas no teste de inibição da hemaglutinação foram confirmadas com a detecção de IgM pelo teste MAC-ELISA. Nenhum caso autóctone de dengue foi confirmado nesse ano (CORDEIRO et al., 1987).

Apesar das medidas rigorosas de combate ao vetor, adotada pela SUCAM e pela Secretaria de Saúde Estadual, a situação epidemiológica e entomológica em Pernambuco naquela ocasião apresentava-se extremamente favorável à entrada e estabelecimento do vírus

no estado, principalmente pela ocorrência de surtos de dengue em municípios dos estados de Alagoas e Ceará, vizinhos a Pernambuco.

2.2 Primeiro surto de dengue no estado de Pernambuco: 1987

A vigilância epidemiológica ativa e a investigação laboratorial dos casos suspeitos de dengue e de doenças exantemáticas, possibilitaram a confirmação laboratorial em 30 de abril de 1987, dos primeiros casos autóctones de dengue em Recife com isolamento de DENV-1, ocorridos no bairro do Ibura (UR6), em quatro pessoas de uma mesma família. Esses foram os primeiros casos autóctones confirmados por laboratório no estado, porém clinicamente havia relatos de casos de dengue em outros municípios da região metropolitana e da mata norte (Paudalho, Lagoa de Itaenga e Limoeiro).

Na ocasião estes resultados foram contestados pela SUCAM sob a alegação de que não havia *Aedes aegypti* na cidade do Recife. Entretanto, após uma busca mais cuidadosa foram encontrados vários focos do vetor nas proximidades das residências onde os casos foram detectados e em vários outros bairros da cidade.

Posteriormente, outros casos de dengue clássica foram sendo notificados em vários municípios do estado em um total de 2.118 casos, sendo 1.105 casos em indivíduos do sexo masculino e 1.103 do sexo feminino, com confirmação de 1.642 casos (77,5%).

Em quarenta municípios houve casos notificados (CN), porém somente em 32 deles houve casos confirmados (CC), seja por critério laboratorial, clínico e/ou epidemiológico. Os municípios com maior número de casos, por ordem de importância foram: Recife (547 CN / 357 CC), Carpina (452 CN / 451CC), Lagoa de Itaenga (429 CN / 382 CC), Jaboatão dos Guararapes (203 CN / 175 CC), Paulista (52 CN / 33 CC) e Olinda (176 CN / 85 CC), segundo dados da Secretaria de Saúde do Estado (LACEN e DIEVIS). O maior número de casos ocorreu no mês de junho, época de maiores precipitações pluviométricas no litoral e na Zona da Mata do Estado.

Em 1987, foram analisados laboratorialmente 1.232 casos, tendo sido isolado o DENV-1 em amostras de sangue de 30 pacientes. O percentual de positividade dos testes sorológicos (IgM) foi de apenas 8%, provavelmente devido à coleta da maioria das amostras de sangue ter sido realizada apenas no início da doença, quando os anticorpos da classe IgM

ainda não são detectáveis. Para confirmar com segurança os casos de dengue, teria sido fundamental a coleta de uma segunda amostra de sangue no período da convalescença, como recomendado pela ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (1987) para se firmar um diagnóstico.

Muitos casos, na ocasião, foram confirmados apenas por critério clínico-epidemiológico, porém como se tratava de uma doença nova e desconhecida pela maioria dos profissionais de saúde, é provável que alguns casos não tenham sido classificados corretamente; casos de dengue deixaram de ser computados e casos de outras doenças exantemáticas e febris, por sua vez, podem ter sido diagnosticadas como dengue. Entretanto, um grande esforço foi feito, por todos os profissionais de saúde envolvidos na luta contra a dengue na ocasião, para que todos os casos suspeitos fossem investigados laboratorialmente, principalmente por se tratar de uma doença nova e, portanto todos tinham muito a aprender.

A faixa etária com maior número de casos foi dos 11 aos 50 anos e com relação ao sexo, não houve diferença. As principais manifestações clínicas de ocorrência foram: febre (100%), cefaléia (96%), mialgia (82%), artralgia (78%), dor retroorbitária (68%), exantema (62%), prostração (53%), náusea e vômitos (48%), compatíveis com a forma clássica do dengue. Não houve registro de casos da forma hemorrágica e nem óbito decorrente da dengue em 1987 (CORDEIRO et al., 1996).

2.3 Dengue em Pernambuco: um período de silêncio epidemiológico, 1988 - 1994

O surto de dengue em Pernambuco, no ano de 1987, teve um reduzido número de casos notificados (2.118 casos) e, em 1988, não houve registro de casos autóctones em todo o Estado. Com o objetivo de monitorar a ocorrência de casos assintomáticos ou oligossintomáticos, bem como verificar a prevalência de anticorpos para dengue em indivíduos residentes na cidade do Recife, um estudo de soroprevalência foi realizado em agosto de 1988. Em 1988 a cidade de Recife contava com uma população de 1.338.893 habitantes distribuídos em 97 bairros. Administrativamente, compreendia seis Áreas Programáticas/Regiões de Saúde.

A coleta das amostras de sangue ocorreu no período de 1 a 19 de agosto e optou-se por coletá-las de forma aleatória das pessoas residentes em Recife que procuravam o Laboratório

Central da Secretaria de Saúde do Estado, com a finalidade de realizar testes bioquímicos e hematológicos. Foi preenchida uma ficha de cada participante do estudo contendo as seguintes informações: nome, endereço residencial, idade, sexo, se era vacinado contra febre amarela e se já havia tido dengue.

Neste período foram coletadas 461 amostras de sangue de pessoas residentes em 64 bairros (66%) dos 97 bairros existentes na cidade, sendo 382 indivíduos do sexo feminino e 79 do sexo masculino, com idade igual ou superior a 10 anos. Na Tabela 1 estão distribuídos os participantes e o resultado do estudo por faixa etária.

Foram analisadas 461 amostras de soro quanto a presença de anticorpos IgM específicos para dengue, pela técnica MAC-ELISA, todas elas com resultado negativo, sugestivo de que não estavam ocorrendo casos agudos na ocasião ou que tivessem ocorrido pelo menos nos últimos 80 a 90 dias, tempo provável de duração dos anticorpos IgM para dengue no indivíduo.

Para a pesquisa dos anticorpos inibidores da hemaglutinação para dengue (anticorpos totais) foi utilizado o teste de inibição da hemaglutinação, recomendado pela Organização Mundial de Saúde para a realização de inquérito soro-epidemiológico. Foi utilizado os antígenos de dengue 1 e 4, febre amarela vacinal (cepa 17D), febre amarela selvagem (cepa H111) e os *Flavivírus* Ilhéus, São Luís e Rocio. A inclusão do antígeno de dengue 4 deveu-se ao fato deste sorotipo haver circulado no Brasil (Boa Vista/Roraima), em 1981. Os antígenos de Ilhéus, São Luís e Rocio foram incluídos com o objetivo de verificar se estes vírus já haviam circulado no Estado de Pernambuco.

Tabela 1 - Distribuição do número de amostras de sangue coletadas e de amostras positivas para dengue em residentes da cidade do Recife, por Faixa Etária, em 1988

Faixas Etárias (Anos)	Nº Amostras Coletadas	Nº Amostras Positivas por HI
< 15	12	0
15 a 24	178	7
25 a 34	105	6
35 a 44	63	4
45 a 54	39	4
55 a 64	47	9
≥ 65	17	5
Total	461	35

Nota: Relatório do autor / LACEN-PE- Depto. de Virologia.

Das 461 amostras de soro analisadas por HI, em 35 delas (7,6%) foram detectados anticorpos inibidores da hemaglutinação para o DENV-1, o que significa que estas pessoas (25 do sexo feminino e 10 do sexo masculino) já haviam contraído a infecção pelo vírus dengue no passado, apesar de terem afirmado não ter tido a infecção no ano anterior. Não foram encontrados anticorpos para dengue nos participantes menores de 15 anos de idade (Tabela 1), bem como para os demais *Flavivírus* incluídos no teste.

Tabela 2 - Distribuição do número de amostras coletadas, amostras positivas, percentual de positividade e prevalência de anticorpos para dengue (por 100.000 habitantes) em residentes da cidade de Recife, por Áreas Programáticas: Regiões de Saúde, em 1988.

Áreas Programáticas Região de Saúde (*) (Nº de Bairros)	População Habitantes (*)	Nº Amostras Coletadas (Nº Bairros)	Percentual de Positividade Nº (%)	Soroprevalência Nº de casos 100.000 hab
<i>I- Centro (18)</i>	160.668	43 (9)	5 (11,6)	3,11
II- Arruda (19)	214.222	46 (11)	4 (8,7)	1,86
III- Casa Amarela (21)	267.779	92 (11)	8 (8,7)	2,98
IV- Madalena (14)	214.222	80 (13)	6 (7,5)	2,80
V- Afogados (17)	281.168	77 (12)	7 (9,1)	2,48
VI- Boa Viagem (8)	200.834	123 (8)	5 (4,1)	2,48
Total (97)	1.338.893	461 (64)	35 (7,6)	2,61

Fonte: Do autor.

Nota: (*) Prefeitura da Cidade do Recife, Secretaria de Saúde, Assessoria de Planejamento.

Na Tabela 2, estão sumarizados os resultados do estudo. Anticorpos para dengue foram encontrados em residentes de 24 bairros: São José e Boa Vista (área I), Campo Grande, Campina do Barreto, Beberibe, Arruda e Água Fria (área II), Casa Amarela, Alto José do Pinho, Nova Descoberta, Macaxeira e Vasco da Gama (área III), Iputinga, Torrões, Curado, Várzea e Torre (área IV), Afogados, Mustardinha e Estância (área V) e Boa Viagem, Jordão, Pina e Ibura (área VI).

Com base neste estudo encontrou-se uma prevalência para dengue na cidade do Recife de 2,61 casos por 100.000 habitantes, compatível com o pequeno número de casos de dengue notificados em 1987.

O programa de combate ao vetor implantado em Pernambuco na ocasião se mostrou eficiente, mantendo a doença sob controle por todo o período de 1988 a 1994. A vigilância

epidemiológica da dengue, nesse período, contou com a participação efetiva do LACEN-PE através da investigação laboratorial das doenças exantemáticas virais e também porque a população procurava o Laboratório para realizar o teste diagnóstico de dengue.

Na condição de Laboratório de Saúde Pública, ao ser coletada a amostra de sangue de um indivíduo suspeito de infecção viral aguda como a dengue, também era preenchida uma ficha epidemiológica contendo informações pessoais e os dados clínicos que permitiam uma análise cuidadosa de cada caso e que ajudavam na interpretação dos dados laboratoriais.

De 1988 a 1994 não foram registrados casos autóctones de dengue em Pernambuco, apenas um pequeno número de casos importados foram confirmados laboratorialmente. Em 1988, o LACEN examinou 55 amostras de soro, todos com resultados negativos. Em 1989 foram confirmados laboratorialmente 27 casos, porém todos eles tinham história de viagem a outros estados, onde havia surto de dengue, nos 15 dias que antecederam o aparecimento dos sintomas. Em 1990, as 11 amostras de casos suspeitos analisadas, foram negativas.

Em 1991 foram analisadas 207 amostras de casos suspeitos, com confirmação de 3% dos casos, porém todos eles eram casos importados. Já em 1992 apenas cinco casos foram notificados e examinados, sendo todos negativos. Em 1993 foram investigados 11 casos suspeitos, com três casos positivos, também importados. Em 1994, houve isolamento do sorotipo 2 (DENV-2) pela primeira vez no Estado, de um dos seis casos importados confirmados.

Em 1994, a Secretaria Estadual de Saúde já previa uma possível epidemia de dengue em Pernambuco, uma vez que os estados vizinhos Ceará e Alagoas, vivenciavam uma epidemia e a Fundação Nacional de Saúde (FUNASA) havia confirmado a presença do *Aedes aegypti* em vários municípios de Pernambuco. Algumas localidades apresentavam uma densidade vetorial em nível preocupante, ou seja, um índice de infestação predial (IIP)¹ acima de 5% que segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) (ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE, 1995) representa um alto risco para a transmissão da doença, considerando que a meta de um programa de controle do vetor é manter o índice de infestação predial abaixo de 1%.

De acordo com o Relatório da Comissão Municipal de Vigilância da Dengue do município do Recife, em 1994 havia sido constatada a presença do vetor em 90,4% dos bairros (85/94) da cidade (PERNAMBUCO, 1995). Além da falta de recursos financeiros e

¹ IIP – Índice que tem como numerador o número de imóveis onde foram encontradas larvas do mosquito (positivos), dividido pelo número de imóveis pesquisados (denominador), multiplicado por 100.

humanos para dar continuidade às ações de combate ao vetor, havia também a notificação e confirmação de casos importados de dengue, em residentes da cidade do Recife, que contraíram a doença em outros estados brasileiros, principalmente no Ceará. Por estarem na fase aguda da doença, é possível que estes pacientes tenham dado início à cadeia de transmissão da dengue no Recife, uma vez que o vetor estava disseminado por toda a cidade.

Desde o ano de 1992, as doenças exantemáticas agudas na cidade do Recife eram investigadas pelo Departamento de Vigilância Epidemiológica da Secretaria de Saúde do Recife que coletava e enviava amostras de sangue, dos casos suspeitos, para serem analisadas no LACEN-PE. Essa estratégia adotada fazia parte do monitoramento para a detecção precoce de casos de sarampo, rubéola e dengue, o que possibilitaria desencadear uma intervenção mais rápida, de modo a bloquear a circulação desses vírus.

Durante o período de sete anos de ausência de casos autóctones de dengue no estado, a investigação laboratorial dos casos suspeitos de sarampo e de rubéola se deu de forma sistemática e os casos negativos, para essas viroses, foram submetidos ao teste sorológico (detecção de IgM) para dengue, como diagnóstico diferencial.

Resultados da pesquisa realizada por Mota (2001), no Sistema de Informação Hospitalar (SIH), levantando dados de internamento devido à dengue, de 1984 até 1994, foram encontrados apenas sete internações, sendo quatro em 1991 e três em 1992; quatro em município ignorado, duas na cidade de Recife e uma em Rio Formoso, porém sem confirmação laboratorial.

Nesse período, de acordo com os dados analisados, todos os casos de dengue confirmados não eram autóctones. Convém ressaltar que em 1991 e 1992 o LACEN-PE examinou várias amostras de casos suspeitos e aqueles positivos, após investigação epidemiológica, foram considerados importados.

Levando-se em consideração que a Diretoria de Epidemiologia da Secretaria de Saúde do Estado realizou a vigilância epidemiológica da dengue durante todo esse período e que o LACEN-PE, por sua vez, investigava laboratorialmente todos os casos suspeitos notificados, e também todos os casos de doenças exantemáticas notificados, existem fortes evidências de que ocorreu realmente esse período de ausência de casos autóctones em Pernambuco.

REFERÊNCIAS

CLARKE, D. H.; CASALS, J. Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod-borne viruses. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 7, p. 561-73, 1958.

CORDEIRO, M. T. et al. Dengue activity in the State of Pernambuco, Brazil, 1986-1996. In: INTERNATIONAL SEMINAR ON DENGUE, 6 a 9 de outubro de 1996, Rio de Janeiro. **Anais**. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Virologia, 1996. p. 36.

CORDEIRO, M. T. et al. Situação do Dengue no estado de Pernambuco. In: ENCONTRO REGIONAL NORDESTE DE VIROLOGISTAS, 9 a 11 de Julho de 1987, Maceió, AL. **Anais**. Maceió: Sociedade Brasileira de Virologia, 1987. p. 11.

KUNO, G.; GÓMEZ, I.; GUBLER, D. J. Detecting artificial anti-dengue IgM immunocomplexes using an enzyme-linked immunosorbent assay. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 36, p. 153-9, 1987.

MOTA, M. C. B. Estudo da epidemia de dengue no estado de Pernambuco: Construção de um indicador composto de risco para a doença. **Dissertação** (Mestrado) - Núcleo de Saúde Pública, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2001.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Dengue hemorrágico**: diagnóstico, tratamento e controle. Genebra, 1987.

ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE. Dengue y Dengue hemorrágico en las Américas: guías para su prevención y control. OPAS **Publicación Científica n.548**, Washington, D.C., 1995.

PERNAMBUCO. Secretaria Estadual de Saúde (SES). Diretoria de Epidemiologia e Vigilância Sanitária (DIEVIS). Dengue – Boletim Epidemiológico 1995. Recife, 1995.

SCHATZMAYR, H. G.; NOGUEIRA, R. M. R.; TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A. An Outbreak of Dengue virus at Rio de Janeiro-1986. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 81, n. 2, p. 245-246, 1986.

SUPERINTENDÊNCIA DE CAMPANHAS DE SAÚDE PÚBLICA (Brasil). **Relatório** do Seminário sobre Dengue e *Aedes aegypti* - Região Nordeste, 06 a 10 de junho de 1988, Recife, PE.

**A DENGUE EM PERNAMBUCO
NO PERÍODO DE 1995 A 2006**

3 A DENGUE EM PERNAMBUCO NO PERÍODO DE 1995 A 2006

3.1 A epidemia de 1995: um novo sorotipo, Dengue-2

Após um período de sete anos sem registro de casos autóctones no Estado, em janeiro de 1995, foram notificados os primeiros casos autóctones de dengue no estado, dando início à segunda epidemia em Pernambuco, com a introdução do sorotipo 2.

O primeiro caso autóctone detectado em 1995, ocorreu na cidade do Recife e foi notificado pelo LACEN-PE na semana epidemiológica (SE) N°4, porém os primeiros sintomas da doença datam da SE 51, do ano anterior, segundo investigação realizada pela Secretaria de Saúde da Cidade do Recife, Diretoria de Epidemiologia e Vigilância à Saúde, (1995). O caso foi de uma paciente de 25 anos, do sexo feminino, residente num bairro da Zona Norte (Bomba do Hemetério). O segundo caso confirmado, também no Recife, com isolamento de DENV-2, foi no bairro de Rosarinho (PERNAMBUCO, 1995).

Outros casos foram confirmados em seguida, no curso de uma investigação de um surto de rubéola notificado pela própria comunidade na localidade do Alto de Santa Isabel, no bairro de Casa Amarela, zona norte da cidade (SECRETARIA DE SAÚDE DA CIDADE DO RECIFE, 1995). Rapidamente, o vírus disseminou-se nos diferentes bairros do Recife e em outros municípios da Região Metropolitana (PERNAMBUCO, 1996a).

Foram notificados em 1995, 9.982 casos (Tabela 1), dos quais 6.789 (68%) foram confirmados por critérios laboratoriais, clínicos e/ou epidemiológicos. A notificação de casos foi proveniente de 55 municípios, apesar de haver casos confirmados, laboratorialmente, em apenas 26 municípios. A epidemia de 1995 foi causada pelo sorotipo 2, com 87% dos vírus isolados pertencentes a esse sorotipo. Em 1995, o DENV-1 (13% dos isolamentos) foi detectado exclusivamente no município de Caruaru (PERNAMBUCO, 1996a; 1996b).

Nessa epidemia, 7.598 casos, correspondente a 76% dos casos notificados, foram analisados no LACEN-PE, porém só foram confirmados laboratorialmente 30% (n = 2.260) desses casos. Provavelmente nem todos os casos notificados se tratavam realmente de infecção pelo vírus dengue, contudo, como ocorrido anteriormente, no surto de 1987, a falta de uma segunda amostra de sangue, coletada na fase de convalescença da doença, pode ter sido uma das causas da falta de confirmação laboratorial de número maior de casos.

Não houve ocorrência nem notificação de casos de dengue hemorrágica nesta epidemia, de acordo com os registros oficiais da Secretaria de Saúde do Estado - DIEVIS (PERNAMBUCO, 1996a) e do LACEN-PE, apesar de constar seis casos de dengue hemorrágica em 1995, nos dados disponibilizados na internet pelo Ministério da Saúde.

O maior número de casos foi notificado durante os meses de abril a junho, com o pico ocorrendo no mês de maio (Figura 1), declinando a partir daí a níveis considerados de controle. No final do mês de agosto, o número de casos já havia diminuído substancialmente, porém a transmissão viral voltou a crescer em março do ano seguinte, apresentando um novo pico no mês de maio. Outros aspectos epidemiológicos desta epidemia e das subseqüentes serão analisados nos capítulos que se seguem.

3.2 Uma visão epidemiológica do período 1995-2006: explosiva epidemia por DENV-3 em 2002

O aspecto sazonal da dengue pode ser constatado em todos os episódios epidêmicos ocorridos em Pernambuco no período de 1995 a 2006², com o maior número de casos notificados no primeiro semestre de cada ano (Figuras 1 e 2).

Nos anos de 1995, 1996 e 1999, o maior número de casos foi notificado nos meses de abril a junho, com o pico ocorrendo no mês de maio. Em 1997, 1998 e 2003, o maior número de casos foi verificado de março a maio, com o pico em abril. Em 1999, o número de casos começou a declinar a partir do mês de agosto, entretanto se manteve em um nível mais elevado do que o verificado nos anos anteriores, de modo que no ano 2000, já no mês de janeiro, foram notificados 2.241 casos, com o maior número de ocorrências nos meses de fevereiro a maio, e o pico no mês de março (Figura 1). No ano seguinte, em 2001, houve uma redução de 39% no número de casos notificados, mantendo-se, porém o mesmo padrão de distribuição mensal de casos do ano anterior. Os casos foram notificados a partir do mês de janeiro, elevando-se em fevereiro com o maior número de casos notificados de março a junho,

² As análises foram feitas baseadas em dados (planilhas, boletins epidemiológicos, relatórios e documentos de circulação interna) disponibilizados pela Gerência Geral de Vigilância em Saúde da Secretaria de Saúde de PE (PERNAMBUCO, 1995, 1996a, 1997, 1998, 1999, 2000b, 2001, 2002, 2003, 2004; 2005b, 2006, 2007b), do Banco de dados de dengue do Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN-PE). Foram também utilizados relatórios, protocolos de pesquisas, resultados de testes laboratoriais e outros documentos do arquivo do Departamento de Virologia do LACEN-PE e relatórios da autora.

atingindo o ápice no mês de maio. No mês de dezembro, apenas 782 casos foram notificados, contrastando com os 10.354 casos notificados no mês de janeiro do ano seguinte, quando foi introduzido o DENV-3 no estado (Figura 1). A epidemia de 2002, causada pelo DENV-3, ocorreu de forma explosiva tendo sido notificados 116.245 casos, dos quais 96,2% foram notificados durante o primeiro semestre e a maioria dos casos ocorreu durante os meses de janeiro a abril, atingindo o nível máximo nos meses de fevereiro e março (Figura 1).

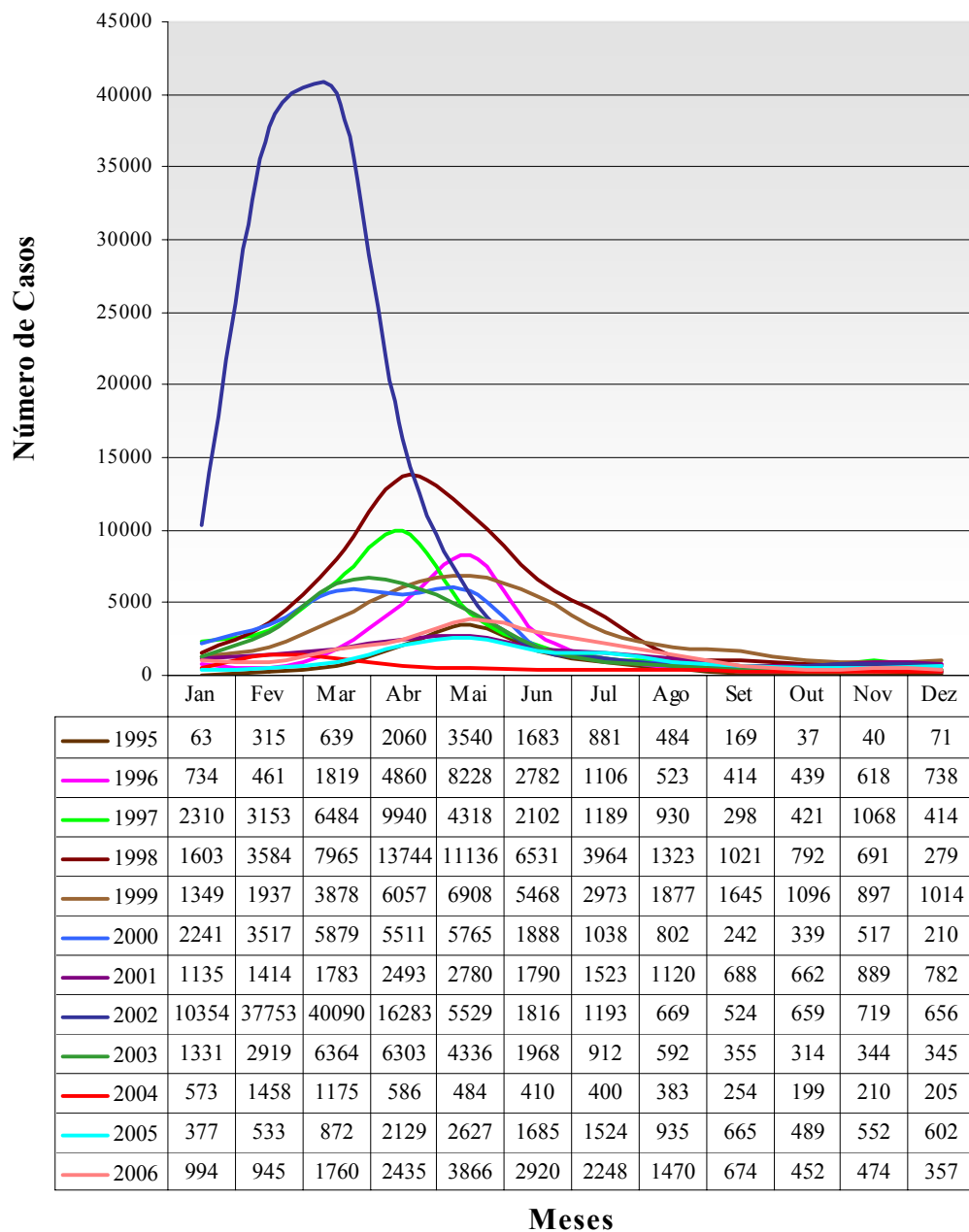


Figura 1 - Distribuição dos casos de Dengue notificados no estado de Pernambuco, por Ano e Mês, no período de 1995 a 2006.

Fonte: PERNAMBUCO, 1995, 1996, 1997, 1998, 1999, 2000, 2001, 2002, 2003, 2004, 2005, 2006.

Observando-se a distribuição mensal acumulada dos casos notificados nos anos de 1995 a 2006 (Figura 2), é possível visualizar bem o padrão sazonal da dengue, com a maioria dos casos ocorrendo durante os meses de fevereiro a maio e o valor máximo acumulado observado no mês de março, em virtude do grande número de casos ocorridos na epidemia de 2002.

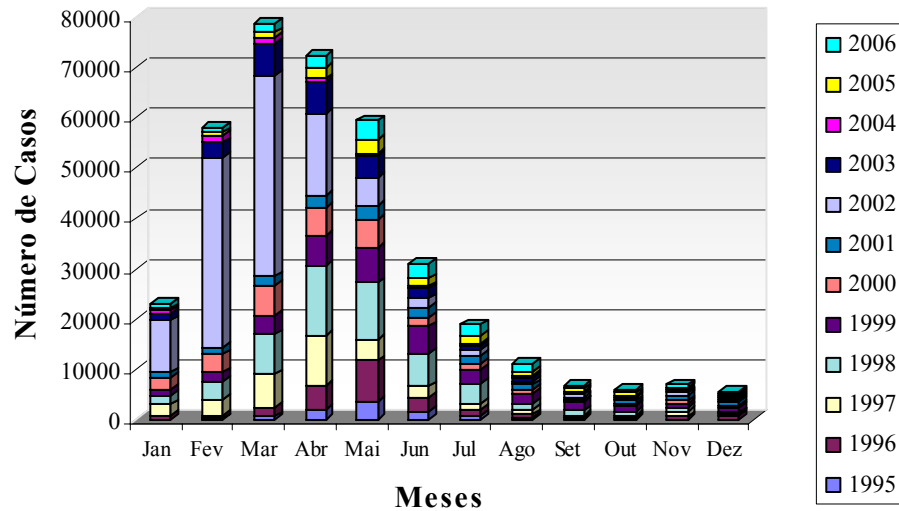


Figura 2 - Distribuição mensal, acumulada, dos casos notificados de Dengue no estado de Pernambuco, nos anos de 1995 a 2006

Fonte:PERNAMBUCO, 1995, 1996, 1997, 1998, 1999, 2000, 2001, 2002, 2003, 2004, 2005, 2006.

Na epidemia de dengue ocorrida no ano de 1995 foram notificados 9.982 casos, dos quais 8.300 casos ocorreram durante o primeiro semestre (Tabela 1). Quando comparados os dados do primeiro semestre de cada ano estudado com o mesmo período do ano anterior, observa-se que em 1996 houve um aumento de 128% no número de casos notificados no Estado. Já em 1997, o aumento em relação a 1996, foi de 50% e em 1998 de 57%, quando comparados ao ano anterior.

Nos anos seguintes, de 1999 a 2001 houve uma redução no número de casos de 43%, 3% e 54%, em relação ao primeiro semestre dos anos 1998, 1999 e 2000, respectivamente. Houve neste período a circulação dos sorotipos DENV-1 e DENV-2. Em 2002 com a introdução do DENV-3, foram notificados apenas no primeiro semestre 111.825 casos, correspondendo a um aumento de 877% em relação ao primeiro semestre de 2001.

A epidemia de DENV-3 ocorreu de forma explosiva, uma vez que a população do Estado era susceptível a esse novo sorotipo, tendo sido registrada uma incidência de 1.438

casos por 100 mil habitantes. Já em 2003 foi observado um decréscimo de 79% no número de casos notificados no primeiro semestre (23.221 casos) em relação ao mesmo período de 2002.

Em 2004, foi registrada a menor ocorrência de casos do período estudado, sendo notificados apenas 6.337 casos, ou seja, uma redução de 76% em relação ao ano de 2003, um período de baixa transmissão viral em todo o estado.

Em 2005 voltou a aumentar a ocorrência de infecção por dengue, sendo observado um aumento de 105% no número de casos notificados em relação a 2004; em 2006 o aumento alcançou 43%. Ainda assim, de acordo com o Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD)³, nesses dois anos, o estado enquadrou-se no estrato de média incidência da doença.

Nos períodos epidêmicos analisados, em que houve a introdução de um novo sorotipo do vírus no estado, foi observado um comportamento muito semelhante na dinâmica do processo infeccioso na população afetada. Logo após a introdução de um novo sorotipo, verificou-se um aumento na incidência da doença, seguido por um período de redução drástica no número de casos.

Analisando a série histórica da dengue em Pernambuco nesse período, observa-se que os anos e/ou períodos epidêmicos foram: 1995 a 1996, com a introdução e predominância do DENV-2, os anos de 1997 a 1998, de 1999 a 2001, com a predominância do DENV-1 e o ano de 2002, com a introdução do DENV-3 e predominância deste sorotipo após esse ano epidêmico. A Figura 3 evidencia a circulação e predominância de cada sorotipo do vírus identificado nesse período.

Com relação ao Coeficiente de Incidência (CI) de casos observa-se que a epidemia de 1995 apresentou um coeficiente de incidência de 134 casos por 100.000 habitantes; nos três anos seguintes aumentou substancialmente, atingindo o máximo no ano de 1998, com 699 casos/100.000 habitantes. Nos três anos seguintes o coeficiente de incidência voltou a diminuir alcançando 214 casos/100.000 habitantes em 2001, apesar da ocorrência de casos em um número maior de municípios. Entretanto, como consequência da introdução do DENV-3 no estado, em 2002, o coeficiente de incidência chegou a 1.438 casos por 100.000 habitantes, voltando a diminuir consideravelmente nos anos seguintes (Tabela 1).

³ O PNCD caracteriza as áreas do País de acordo com os seguintes estratos: 1) Áreas de baixa incidência – regiões, estados ou municípios com taxa de incidência menor que 100 casos por 100 mil habitantes; 2) Áreas de média incidência – regiões com taxa de incidência entre 100 a 300 casos /100 mil habitantes; 3) Áreas de alta incidência – regiões com taxa de incidência maior que 300 casos/100mil habitantes.

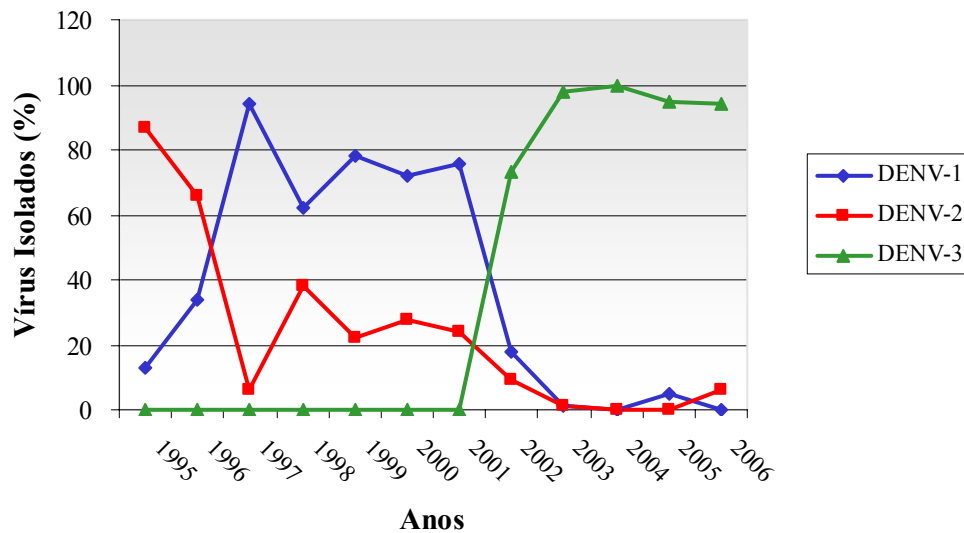


Figura 3 - Distribuição anual e Percentual (%) dos sorotipos, DENV-1, DENV-2 e DENV-3 isolados no estado de Pernambuco, durante o período de 1995 a 2006
 Fonte: LABORATORIO CENTRAL DE PERNAMBUCO (2007).

Tabela 1 - Casos Notificados de Dengue e Coeficiente de Incidência de casos, Por 100.000 habitantes no estado de Pernambuco, 1995 a 2006

Ano	Nº de Casos Notificados			Coeficiente de Incidência (100.000 habitantes)
	Total	1º Semestre	2º Semestre	
1995	9.982	8.300	1.682	134
1996	22.722	18.884	3.838	307
1997	32.627	28.307	4.320	437
1998	52.633	44.563	8.070	699
1999	35.099	25.597	9.502	463
2000	27.949	24.801	3.148	353
2001	17.112	11.448	5.664	214
2002	116.245	111.825	4.420	1.438
2003	26.083	23.221	2.852	320
2004	6.337	4.686	1.651	77
2005	12.990	8.223	4.767	154
2006	18.595	12.920	5.675	219
Total	378.374	322.775	55.589	

Fonte: PERNAMBUCO, (1995, 1996, 1997, 1998, 1999, 2000, 2001, 2002, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007).

A variação sazonal da dengue em Pernambuco pode ser evidenciada também por meio da análise do diagrama de controle (Figura 4) que foi construído utilizando-se os coeficientes de incidência de casos de dengue notificados no período de 1995 a 2003. Os casos de dengue notificados nos anos de 2004 e 2005 não ultrapassaram os valores máximos do canal endêmico, permanecendo dentro dos limites do diagrama de controle, evidenciando o caráter endêmico da doença nesses anos. O surto de dengue ocorrido em 2006 (219 casos por 100.000 habitantes) apresentou um valor maior do que o limite superior do canal endêmico.

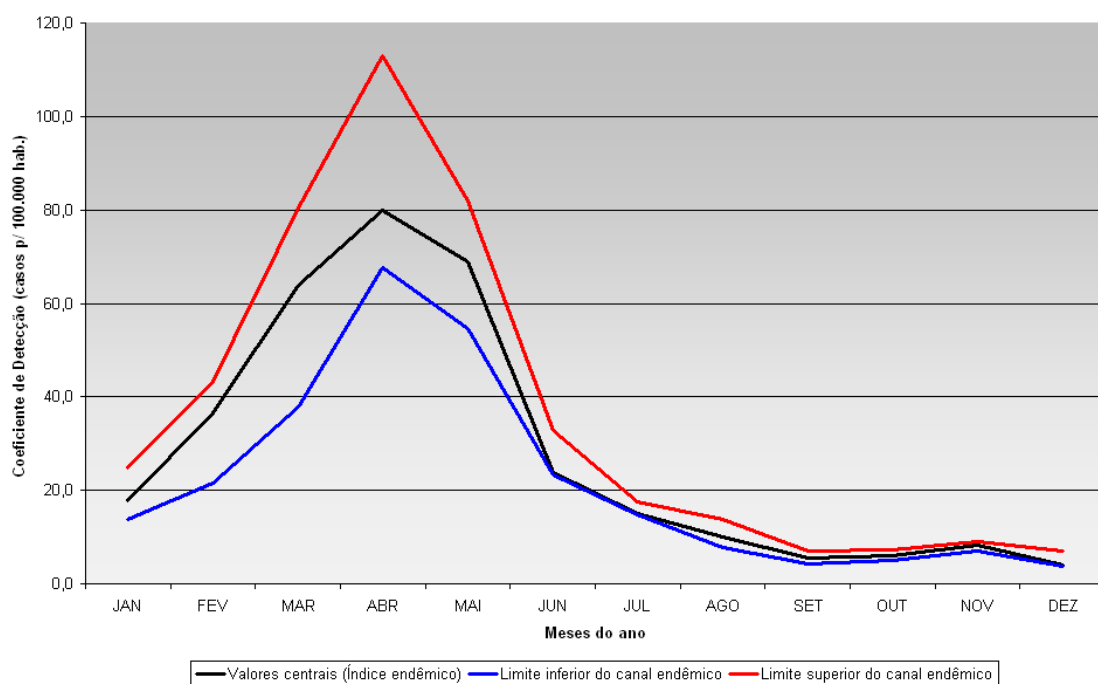


Figura 4 - Dengue em Pernambuco: Diagrama de Controle construído com os dados dos casos notificados nos anos de 1995 a 2003 (Coeficiente de incidência por 100.000 habitantes)

Fonte: PERNAMBUCO, 1995, 1996, 1997, 1998, 1999, 2000, 2001, 2002, 2003, 2004, 2005, 2006.

Analisando a distribuição mensal dos casos de dengue ocorridos em Pernambuco em um período de cinco anos, 1995 a 1999 (Figura 5) e comparando com a distribuição mensal dos índices pluviométricos registrados no estado no mesmo período (Figura 6), pode ser observado que, apesar da irregularidade com que as chuvas foram distribuídas no estado, elas ocorreram principalmente durante o primeiro semestre (PERNAMBUCO, 2000), seguindo o mesmo padrão da distribuição e evolução dos casos de dengue.

Interessante é observar que a maior epidemia de dengue ocorrida neste período, a do ano 1998, coincidiu com um dos anos de menor índice pluviométrico (IP) do período,

evidenciando-se que outros fatores, além das chuvas estão também envolvidos no processo epidêmico. Entre os fatores mais prováveis merecem destaque: a falta de saneamento básico, a precariedade do sistema de abastecimento de água e esgotamento sanitário e a deficiência na coleta de resíduos sólidos.

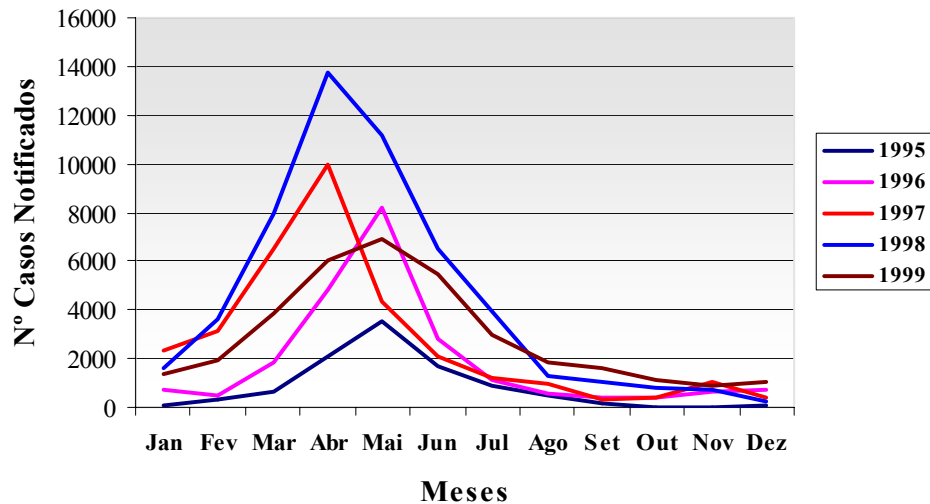


Figura 5 - Distribuição mensal dos casos de dengue notificados no estado de Pernambuco, no período de 1995 a 1999.

Fonte: PERNAMBUCO, 1995, 1996, 1997, 1998, 1999

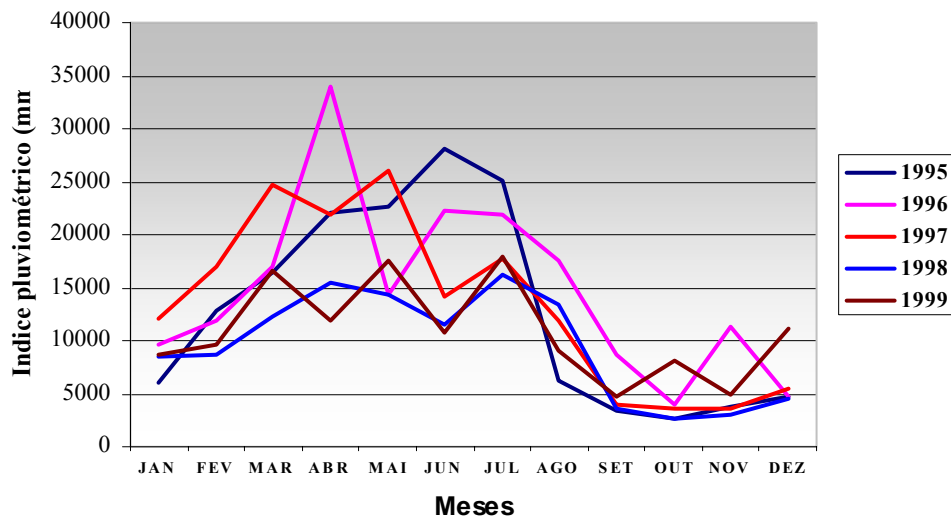


Figura 6 - Distribuição mensal das chuvas observadas no período de 1995 a 1999, no estado de Pernambuco (Índice Pluviométrico em mm)

Fonte: PERNAMBUCO (2000a)

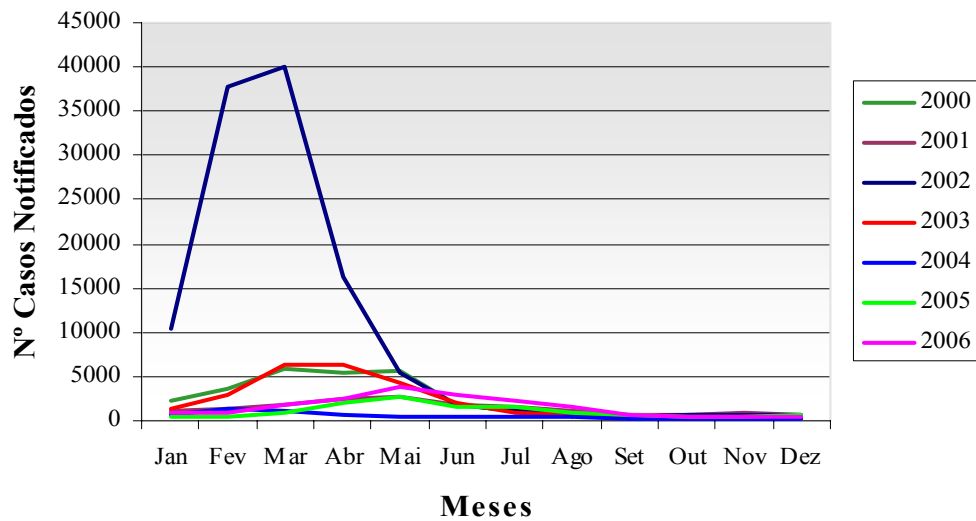


Figura 7 - Distribuição mensal dos casos de dengue notificados no estado de Pernambuco, no período de 2000 a 2006

Fonte: PERNAMBUCO (2000, 2001, 2002, 2003, 2004, 2005, 2006).

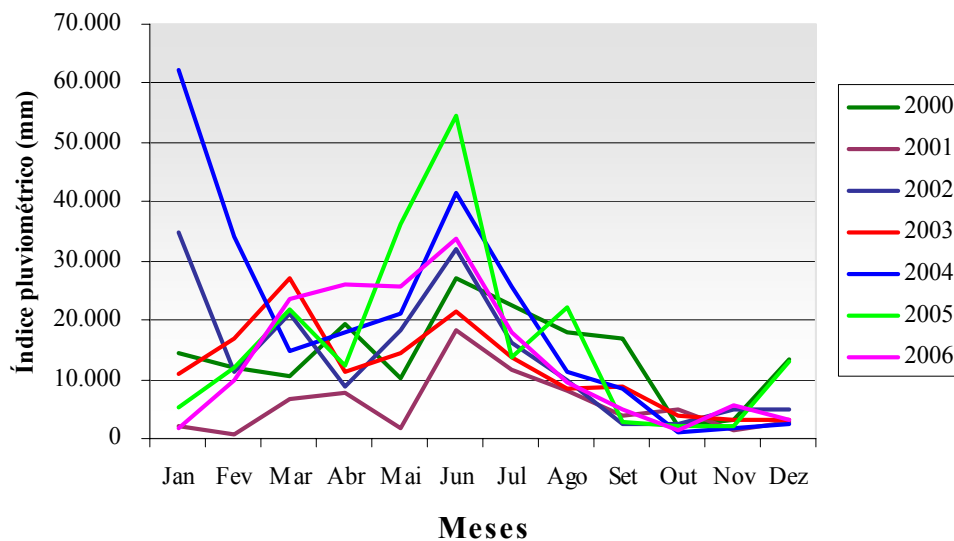


Figura 8 - Distribuição mensal das chuvas observadas no período de 2000 a 2006, no estado de Pernambuco (Índice Pluviométrico em mm)

Fonte: INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE PERNAMBUCO (2007)

No segundo período analisado, de 2000 a 2006, o maior número de casos de dengue também ocorreu durante o primeiro semestre, como mostrado na Figura 7, contudo a mais expressiva epidemia foi a de 2002 causada pelo DENV-3. Já com relação à distribuição mensal das chuvas do mesmo período (Figura 8), é observado quase o mesmo padrão de distribuição do período anterior (Figura 6), com as precipitações pluviométricas ocorrendo

principalmente no primeiro semestre, indo até os meses de agosto e setembro (INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE PERNAMBUCO, 2007). Os índices pluviométricos nos anos 2002 e 2004 foram altos no mês de janeiro, coincidindo em 2002 com o início da epidemia; já em 2004 o índice pluviométrico em janeiro foi superior a 60.000mm, porém nesse ano foi registrado o menor número de casos de dengue do período.

Também em 2005 foram registrados os maiores índices pluviométricos do período, com a ocorrência de apenas 12.900 casos no ano. Ao se comparar a distribuição anual das chuvas nesse segundo período, verifica-se que os índices pluviométricos de um modo geral foram superiores e com exceção do ano de 2002, os surtos de dengue foram muito inferiores ao primeiro período (1995 a 1999).

Com relação às precipitações pluviométricas, no estado de Pernambuco ocorrem variações tanto de distribuição quanto de quantidade de chuvas. As precipitações pluviométricas geralmente diminuem do Leste para o Oeste e com menos intensidade do Sul para o Norte. Na Região Metropolitana do Recife e na Mata, onde o clima é quente e úmido, as chuvas geralmente ocorrem nos meses de março a agosto, com índice pluviométrico variando de 700 a 2.200mm/ano. Já nos municípios do Sertão, com clima tropical semi-árido, as chuvas geralmente acontecem em períodos curtos, entre janeiro e abril e o índice pluviométrico varia de 400 a 600 mm/ano, sendo que em alguns locais onde a altitude é maior, chove em média 800 mm/ano (PERNAMBUCO, 2005a).

No ano de 1996 o número de casos ultrapassou significativamente o do ano anterior, contudo havia dúvidas por parte das autoridades de saúde, se o aumento de casos registrados refletia a realidade ou se era apenas um reflexo de um maior conhecimento sobre a doença, tanto por parte da população em geral como dos profissionais de saúde. Convém ressaltar que a notificação compulsória de dengue se deu a partir da Portaria do Ministério da Saúde Nº 114/96 de 25/01/1996, portanto o aumento das notificações poderia também ser atribuído a essa nova exigência (PERNAMBUCO, 1996b; 1996c).

Com relação ao declínio na curva epidêmica, observada no 2º semestre, também havia uma preocupação em saber se a redução observada não estaria refletindo a diminuição da procura pelos serviços de saúde, na medida em que a população, através das ações de educação em saúde e comunicação social, já conseguia identificar os sintomas da doença e tinha conhecimento sobre a conduta terapêutica a ser adotada. Outra justificativa para a queda na curva epidêmica poderia ser também o término da estação chuvosa, ou simplesmente que a

Vigilância Epidemiológica nos municípios não estava sendo capaz de detectar e investigar os casos suspeitos (PERNAMBUCO, 1996b).

Entretanto, esse mesmo padrão foi observado nas epidemias ocorridas em outros estados brasileiros. Por exemplo, a evolução das principais epidemias ocorridas no município do Rio de Janeiro (1986/1987, 1990/1991 e 2001/2002) apresentou um aumento na incidência da doença durante os meses de fevereiro a abril, coincidindo aproximadamente com o verão e com o período de chuvas na região sudeste e a partir do mês de maio os casos também caíram drasticamente (CASALI et al., 2004).

No município de São Luís (Maranhão), no período de 1997 a 2002, foi observada uma maior frequência de casos de dengue na estação chuvosa (83,8%), de janeiro a março, em detrimento ao período de estiagem (julho a dezembro). Observou-se ainda uma correlação positiva, ao longo dos anos, com a precipitação pluviométrica e a umidade relativa, e uma correlação negativa com a temperatura (GONÇALVES; REBÊLO, 2004).

Analisando a situação epidemiológica da dengue no Brasil no período de 1986 a 2002, Siqueira et al. (2005) constataram que de 1986 a 1993, a maior proporção dos casos (76,6%) se deu na estação chuvosa, durante os meses de dezembro a maio, refletindo um padrão sazonal, como ficou evidenciado em Pernambuco. Neste período foi observado no país um padrão cíclico de dois anos de intervalo entre os grandes surtos, o que sugere uma baixa atividade viral na estação seca (de junho a novembro). Já no período de 1994 a 2002, quando foram notificados 2.826.948 casos de dengue em todo o país, apesar da maioria dos casos ter ocorrido na estação chuvosa, 18% dos casos foram registrados na estação não chuvosa, o que demonstra que apesar da redução houve atividade viral durante todo o ano (SIQUEIRA et al, 2005).

Segundo Travassos da Rosa et al., (2000), a epidemia de dengue ocorrida em Belém (Pará), em 1997, teve um rápido aumento no número de casos durante os meses de março a maio, durante a estação chuvosa típica da região amazônica, decrescendo após a diminuição do volume de chuvas; contudo o número de casos voltou a aumentar no mesmo ano e o maior índice de positividade dos casos se deu justamente durante os meses secos de setembro a dezembro. Convém ressaltar que com frequência, na estação seca se faz necessário o armazenamento de água, muitas vezes de forma inadequada, para atender às necessidades da população. Nessas condições, quando a população vetorial é elevada, inevitavelmente ocorrerá aumento de casos.

3.3 Distribuição dos casos de dengue por Gerência Regional de Saúde, 1995 a 2006.

Para melhor organização dos serviços de saúde, o estado está dividido em dez Diretorias Regionais de Saúde (DIRES), atualmente denominadas Gerências Regionais de Saúde (GERES). O número de municípios compreendido em cada Gerência Regional de Saúde e o respectivo município sede está relacionado na Tabela 2. O mapa de Pernambuco dividido por GERES pode ser consultado no AnexoB. Entre outras atribuições, as GERES são responsáveis pela investigação e confirmação das doenças de notificação compulsória como a dengue.

Em 2006 a Secretaria de Saúde criou, através de Decreto do Governo (Diário Oficial 13/04/2006) a XI Gerência Regional de Saúde, com sede no município de Serra Talhada, e integrada pelos seguintes Municípios, atualmente pertencentes às VI, VII e X GERES: Serra Talhada (X), Calumbi (X), Flores (X), Santa Cruz da Baixa Verde (X), Triunfo (X), Betânia (VI), São José do Belmonte (VII), Floresta (VII), Carnaubeira da Penha (VII) e Itacuruba (VII). Entretanto em virtude dos vários programas já em andamento, inclusive o programa de controle do *Aedes aegypti*, como também pela necessidade da implantação da nova GERES, ficou acordado com o serviço de Epidemiologia do estado que o programa de dengue continuaria com a antiga estrutura até o final de 2006. Desse modo, seguindo os critérios da Gerência de Epidemiologia do Estado, serão analisadas as dez GERES, conforme a Tabela 2.

Tabela 2 - Gerências Regionais de Saúde (GERES) no estado de Pernambuco, Município sede, número de municípios que compõem cada GERES

GERES	Município Sede	Nº de Municípios
I	Recife	19
II	Limoeiro	31
III	Palmares	22
IV	Caruaru	32
V	Garanhuns	21
VI	Arcoverde	14
VII	Salgueiro	11
VIII	Petrolina	7
IX	Ouricuri	11
X	Afogados da Ingazeira	17
Total		185

Fonte: SES/PE-GGVS-SVE

Durante o período de 1995 a 2006 a maioria dos casos notificados ocorreu na I GERES em todos os anos, com exceção do ano de 2003 que teve o maior número de casos notificados pela IV GERES, porém o maior coeficiente de incidência de casos foi verificado na VI GERES (1.340/100.000 hab.). As II e IV GERES também foram responsáveis por grande número dessas notificações no estado (Tabela 3 e Figura 9).

Em 2002 a maioria dos casos ocorreu na I GERES com 63% dos casos, apresentando um coeficiente de incidência de casos de 2.037/100.000 habitantes (Tabela 3 e Figura 10); isso talvez possa ser explicado pelo fato de se encontrar nesta GERES a maioria da população do estado, além de ser a região com maior fluxo de pessoas e também possuir um grande número de Unidades de Saúde que notificam os casos suspeitos. Com relação aos maiores coeficientes de incidência de casos, eles foram observados na I GERES apenas nos anos de 1995, 1996 e 2002; nos anos de 1997 e 1999, a II GERES apresentou os maiores CI de casos: 926 e 1.022/100.000 habitantes, respectivamente. Porém na VII GERES os maiores coeficientes de casos foram observados em 2001 e 2006.

Na Figura 9 observa-se a distribuição dos casos notificados em cada GERES, de acordo com o coeficiente de incidência de casos por 100.000 mil habitantes, uma vez que a população do estado não está distribuída de maneira uniforme nas diversas regiões.

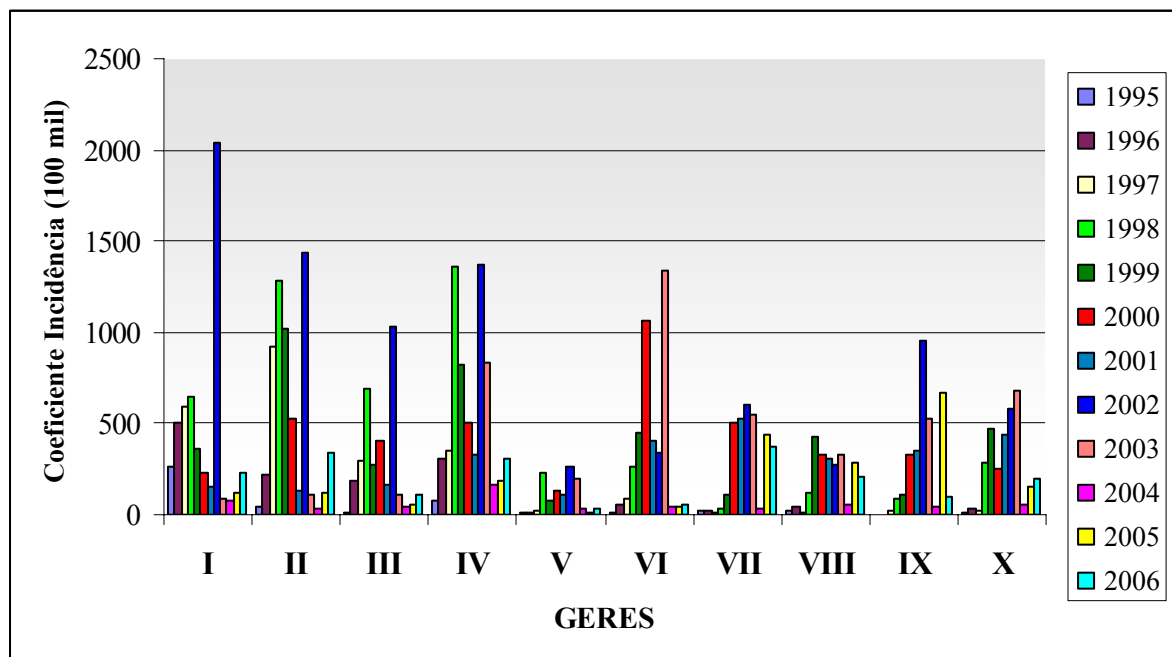


Figura 9 - Dengue: Coeficiente de Incidência (por 100.000 hab.) dos casos notificados por Gerência Regional de Saúde (GERES) no estado de Pernambuco, de 1995 a 2006

Fonte: PERNAMBUCO (1995, 1996, 1997, 1998, 1999, 2000, 2001, 2002, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007).

Na VI GERES os surtos mais importantes de dengue ocorreram nos anos 2000 e 2003, enquanto nas III e IX GERES o surto mais expressivo se deu no ano de 2002. A V e VII GERES com sede nos municípios de Garanhuns e Salgueiro, respectivamente, tiveram o menor número de casos notificados em todo o período estudado (Tabela 3).

No período de 1995 a 2006 foram notificados 378.374 casos no estado, sendo que a I GERES notificou 186.792 casos, correspondendo a 49,4 % do total; em segundo e terceiro lugares ficaram a IV e a II GERES, notificando respectivamente, 18,5 e 13,3% dos casos. A III GERES, com sede em Palmares e a VI (sede em Arcoverde) foram responsáveis por 4,6% e 3,7 %, respectivamente, das notificações no período. As demais tiveram uma menor participação nas notificações (Figura 10).

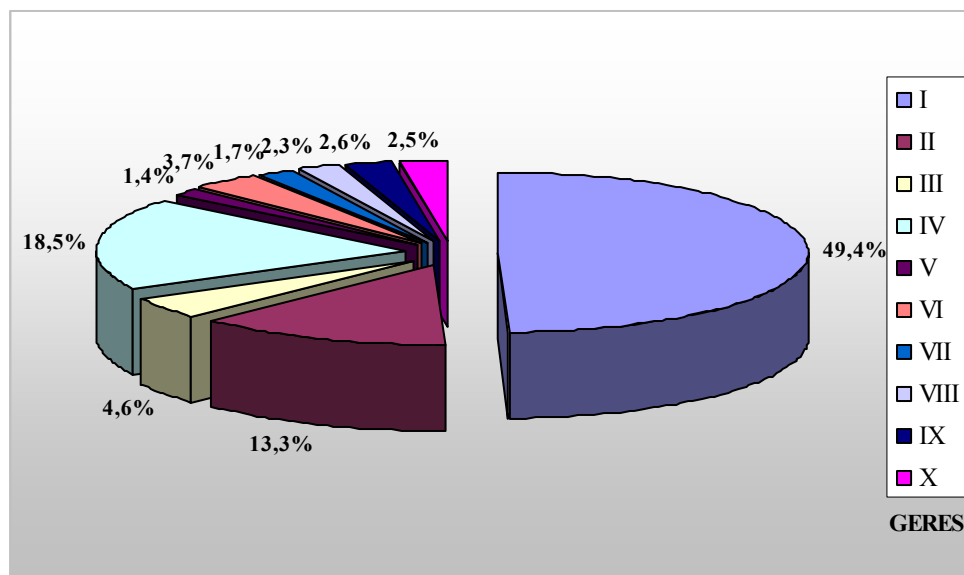


Figura 10 - Dengue: Percentual dos casos notificados por Gerência Regional de Saúde (GERES) do estado de Pernambuco, de 1995 a 2006

Fonte: PERNAMBUCO, (1995, 1996, 1997, 1998, 1999, 2000, 2001, 2002, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007).

A detecção dos surtos e epidemias de dengue só é possível quando os serviços de vigilância epidemiológica, em todos os níveis, encontram-se bem estruturados, com um acompanhamento constante da situação geral de saúde da população. Somente assim os dados oficiais poderão refletir, de forma mais fidedigna a realidade dos fatos.

Talvez os dados apresentados não reflitam a real situação de cada surto e/ou epidemia ocorrida nos municípios do estado nesse período. É provável que tenha ocorrido uma subnotificação de casos, apesar disso, esses dados já nos fornecem uma boa amostra do quadro epidemiológico da dengue em Pernambuco durante esse período.

Tabela 3 - Distribuição dos casos de dengue notificados (CN) e coeficiente de incidência (CI) (por 100 mil habitantes), em cada Gerência Regional de Saúde do estado de Pernambuco, 1995 a 2006

GERES	I		II		III		IV		V		VI		VII		VIII		IX		X	
	CN	CI	CN	CI	CN	CI	CN	CI	CN	CI	CN	CI	CN	CI	CN	CI	CN	CI	CN	CI
1995	8.642	263	301	39	59	11	746	75	59	12	49	15	39	20	48	17	0	0	39	13
1996	16.621	503	1.620	215	954	189	3.022	302	50	11	170	54	42	22	147	48	0	0	96	33
1997	19.992	597	7.004	926	1.502	297	3.574	353	110	24	263	83	20	10	29	9	54	20	79	27
1998	22.084	652	9.753	1285	3.478	686	13.888	1362	1.066	231	815	259	65	34	399	124	249	93	836	285
1999	12.410	362	7.781	1022	1.409	277	8.408	817	370	80	1.414	450	222	115	1.401	427	308	115	1.376	470
2000	8.056	226	4.190	528	2.141	410	5.407	504	625	129	3.647	1068	1.014	509	1.131	331	980	330	759	255
2001	5.515	152	1.052	132	808	165	3.334	330	541	114	1.382	402	1.048	524	1.053	310	1.061	354	1.318	443
2002	73.636	2.037	13.146	1.432	5.388	1.026	14.887	1.370	1.249	258	1.159	337	1.201	601	971	277	2.871	958	1.737	584
2003	3.521	93	876	107	569	107	9.401	828	956	200	4.740	1.340	1.113	550	1.255	330	1.625	525	2.027	681
2004	2.714	72	700	30	211	40	1.793	160	174	35	138	39	65	32	221	59	148	48	173	58
2005	4.796	125	962	116	302	56	2.158	188	82	16	168	47	883	434	1.095	281	2.092	669	452	152
2006	8.806	226	2.834	341	569	106	3.557	306	158	32	214	60	770	377	820	206	296	94	571	192
Total	186.792		50.219		17.390		70.175		5.440		14.159		6.482		8.570		9.684		9.463	

Fonte: PERNAMBUCO, (1995, 1996, 1997, 1998, 1999, 2000, 2001, 2002, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007).

REFERÊNCIAS

CASALI, C. G. et al. A epidemia de dengue/dengue hemorrágico no município do Rio de Janeiro, 2001/2002. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 37, n. 4, p. 296-299, 2004.

GONÇALVES NETO, V. S.; REBÊLO, J. M. M. Aspectos epidemiológicos do dengue no Município de São Luís, Maranhão, Brasil, 1997-2002. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 5, p. 1424-1431, 2004.

INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE PERNAMBUCO. Laboratório de Meteorologia de Pernambuco. **Índices pluviométricos**. Disponível em: <<http://www.itep.br/LAMEPE.asp>>. Acesso em: 5 mar. 2007.

LABORATÓRIO CENTRAL DE PERNAMBUCO. **Banco de dados de dengue**. Recife, 2007.

PERNAMBUCO. Secretaria de Desenvolvimento Urbano. **O Estado de Pernambuco**. Disponível em: <<http://www.municipios.pe.gov.br/municipio/pernambuco.asp>> Acesso em: 14 nov. 2005a.

PERNAMBUCO. Secretaria de Recursos Hídricos. **Relatório da precipitação anual no período de 1995 a 1999 do Estado de Pernambuco**. Recife, 2000a.

PERNAMBUCO. Secretaria de Saúde. Diretoria de Epidemiologia e Vigilância Sanitária. **Informe Epidemiológico: Dengue**. Fevereiro /1995, Recife, 1995. Documento de circulação interna.

PERNAMBUCO. Secretaria de Saúde. Diretoria de Epidemiologia e Vigilância Sanitária. **Informe Epidemiológico: Dengue e Endemias**. Semana epidemiológica 52/1995. Recife, 1996a. Documento de circulação interna.

PERNAMBUCO. Secretaria de Saúde. Diretoria de Epidemiologia e Vigilância Sanitária. **Informe Epidemiológico: Dengue e Endemias**. N. 1, Setembro/96, Recife, 1996b. Documento de circulação interna.

PERNAMBUCO. Secretaria de Saúde. Comissão Estadual de Controle do Dengue. **Dengue: Manual de Orientações**. Recife, 1996c. Documento de circulação interna.

PERNAMBUCO. Secretaria de Saúde. Diretoria de Epidemiologia e Vigilância Sanitária. **Boletim Epidemiológico: Dengue**. Semana epidemiológica 52/1996. Recife, 1997. Documento de circulação interna.

PERNAMBUCO. Secretaria de Saúde. Diretoria de Epidemiologia e Vigilância Sanitária. **Boletim Epidemiológico:** Dengue. Semana epidemiológica 52/1997. Recife, 1998. Documento de circulação interna.

PERNAMBUCO. Secretaria de Saúde. Diretoria de Epidemiologia e Vigilância Sanitária. **Boletim Epidemiológico:** Dengue. Semana epidemiológica 52/1998. Recife, 1999. Documento de circulação interna.

PERNAMBUCO. Secretaria de Saúde. Diretoria de Epidemiologia e Vigilância Sanitária. **Boletim Epidemiológico:** Dengue. Semana epidemiológica 52/1999. Recife, 2000b. Documento de circulação interna.

PERNAMBUCO. Secretaria de Saúde. Diretoria de Epidemiologia e Vigilância Sanitária. **Boletim Epidemiológico:** Dengue. Semana epidemiológica 52/2000. Recife, 2001. Documento de circulação interna.

PERNAMBUCO. Secretaria de Saúde. Gerência Geral de Vigilância em Saúde. **Planilha de Dengue:** Semana epidemiológica 52/2001. Recife, 2002. Documento de circulação interna.

PERNAMBUCO. Secretaria de Saúde. Gerência Geral de Vigilância em Saúde. **Planilha de Dengue:** Semana epidemiológica 52/2002. Recife, 2003. Documento de circulação interna.

PERNAMBUCO. Secretaria de Saúde. Secretaria de Saúde. Gerência Geral de Vigilância em Saúde. **Planilha de Dengue:** Semana epidemiológica 52/2003. Recife, 2004. Documento de circulação interna.

PERNAMBUCO. Secretaria de Saúde. Secretaria de Saúde. Gerência Geral de Vigilância em Saúde. **Planilha de Dengue:** Semana epidemiológica 52/2004. Recife, 2005b. (Documento de circulação interna)

PERNAMBUCO. Secretaria de Saúde. Secretaria de Saúde. Gerência Geral de Vigilância em Saúde. **Planilha de Dengue:** Semana epidemiológica 52/2005. Recife, 2006. Documento de circulação interna.

PERNAMBUCO. Secretaria de Saúde. Diretoria de Epidemiologia e Vigilância Sanitária. **Boletim Epidemiológico:** Dengue. Semana epidemiológica 52/2006. Recife, 2007. Documento de circulação interna.

SECRETARIA DE SAÚDE DA CIDADE DO RECIFE. Diretoria de Epidemiologia e Vigilância à Saúde. **Informe sobre Dengue,** Recife, 1995. Documento de circulação interna.

SIQUEIRA, J. B. et al. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever, Brazil, 1981-2002. **Emerging Infectious Diseases,** Atlanta, v. 11, n. 1, p. 48-53, 2005.

TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A. et al. Dengue Epidemic in Belém, Pará, Brazil, 1996-1997. **Emerging Infectious Diseases,** Atlanta, v. 6, n. 3, p. 298-301, 2000.

**A DENGUE NOS MUNICÍPIOS
E MESORREGIÕES
DE PERNAMBUCO**

4 A DENGUE NOS MUNICÍPIOS E MESORREGIÕES DE PERNAMBUCO

4.1 Distribuição dos casos por municípios e os sorotipos isolados de 1995 a 2006

Diante da impossibilidade de se testar, laboratorialmente, todos os casos notificados durante o período epidêmico, os critérios de confirmação de casos eram, na maioria, clínico-epidemiológico e ao laboratório caberia testar cerca de 10% dos casos notificados bem como as formas graves, pacientes gestantes e crianças com exantema, como diagnóstico diferencial de sarampo e rubéola.

Além dos testes sorológicos para confirmar os casos positivos dos vários municípios, ao se analisar as amostras de sangue recebidas pelo laboratório, também era realizado o isolamento viral, com o objetivo de monitorar a presença dos vírus nesses municípios e identificar os sorotipos circulantes. Nos municípios com circulação de mais de um sorotipo, teoricamente haveria maior probabilidade de ocorrer um número mais elevado de casos da febre hemorrágica da dengue.

No período de 1995 a 2006 foram analisadas no LACEN-PE amostras de sangue de 99.677 casos suspeitos de dengue, correspondendo a 26,3% do total de casos notificados no período (Tabela 1). Nos primeiros anos de epidemia, a proporção de casos com investigação laboratorial foi bem superior à média do período, possivelmente em virtude da dificuldade de se diagnosticar clinicamente os casos de dengue e como também pelo temor da ocorrência da forma hemorrágica da doença.

Nos três primeiros anos, 1995 a 1997, foram analisados laboratorialmente 76%, 65% e 33% dos casos notificados, respectivamente (Tabela 1). Em 1998 com o grande aumento do número de casos notificados, foram testados apenas 18% deles. Em 1999 e 2000 o percentual analisado foi de 22%, passando em 2001 e 2003 para 35%. Mesmo na epidemia de 2002, com 116.245 casos notificados, foram analisados laboratorialmente 10.276 casos, correspondendo a 8,8% dos casos notificados. De 2004 a 2006 foram notificados 37.922 casos e analisados laboratorialmente 8.197 casos, correspondendo a 21,6% do total.

Através do isolamento viral, constatou-se que em 1995 e 1996 a epidemia foi causada predominantemente pelo DENV-2, com 87% e 66% dos vírus isolados nos respectivos anos pertencentes a esse sorotipo, apesar de haver circulação também do DENV-1 (Tabela 1 e Figura 1). Em 1997, o DENV-1 se sobrepôs ao DENV-2, representando 94% dos vírus

isolados naquele ano e em 1998 também predominou o DENV-1. Apesar da circulação simultânea dos sorotipos 1 e 2 durante os anos de 1999 a 2001, o DENV-1 representou 75% dos vírus isolados. Com a introdução do DENV-3, esse sorotipo suplantou os demais, correspondendo a 73% dos isolamentos em 2002, 98% em 2003 e chegou a atingir 100% em 2004 (Tabela 1 e Figura 1).

A alternância dos sorotipos deve-se, basicamente, ao esgotamento ou diminuição dos indivíduos susceptíveis a um dos sorotipos circulantes. Os dados mostram que a epidemia de 1995 foi causada pelo DENV-2, a de 1998 pelo DENV-1, enquanto a de 2002 foi causada pelo DENV-3, apesar de haver circulação dos outros sorotipos num menor percentual.

Geralmente logo após a introdução e/ou predominância de um sorotipo, ocorre um aumento do número de casos em função de um maior percentual de pessoas susceptíveis. Em seguida verifica-se uma drástica queda do número de casos, contudo nem sempre o vírus deixa de circular na região e alguns casos acontecem de forma endêmica.

Tabela 1 - Número de municípios com casos de dengue, sorotipos circulantes e percentuais de isolados; número de casos notificados e de casos analisados no LACEN, por ano, 1995 a 2006.

ANO	Nº Total Municípios PE	Casos Notificados	Casos testados LACEN	Sorotipos Circulantes (% isolados)	Nº municípios com transmissão
1995	176	9.982	7.598	D1 (13), D2 (87)	55
1996	176	22.722	14.693	D1 (34), D2 (66)	88
1997	184	32.627	10.916	D1 (94), D2 (6)	151
1998	184	52.633	9.642	D1 (62), D2 (38)	175
1999	184	35.099	7.761	D1 (78), D2 (22)	171
2000	185*	27.949	7.191	D1 (72), D2 (28)	175
2001	185	17.112	5.520	D1 (76), D2 (24)	174
2002	185	116.245	19.276	D1 (18), D2 (9), D3 (73)	185
2003	185	26.083	8.883	D1 (1), D2 (1), D3 (98)	179
2004	185	6.337	1.067	D3 (100)	163
2005	185	12.990	3.190	D1 (5), D3 (95)	173
2006	185	18.595	3.805	D2 (6), D3 (94)	172
TOTAL		378.374	99.677		

Nota: *Incluindo o Distrito de Fernando de Noronha; D1 (DENV-1), D2 (DENV-2), D3 (DENV-3).
Dados da Gerência de Epidemiologia de PE e do LACEN-PE

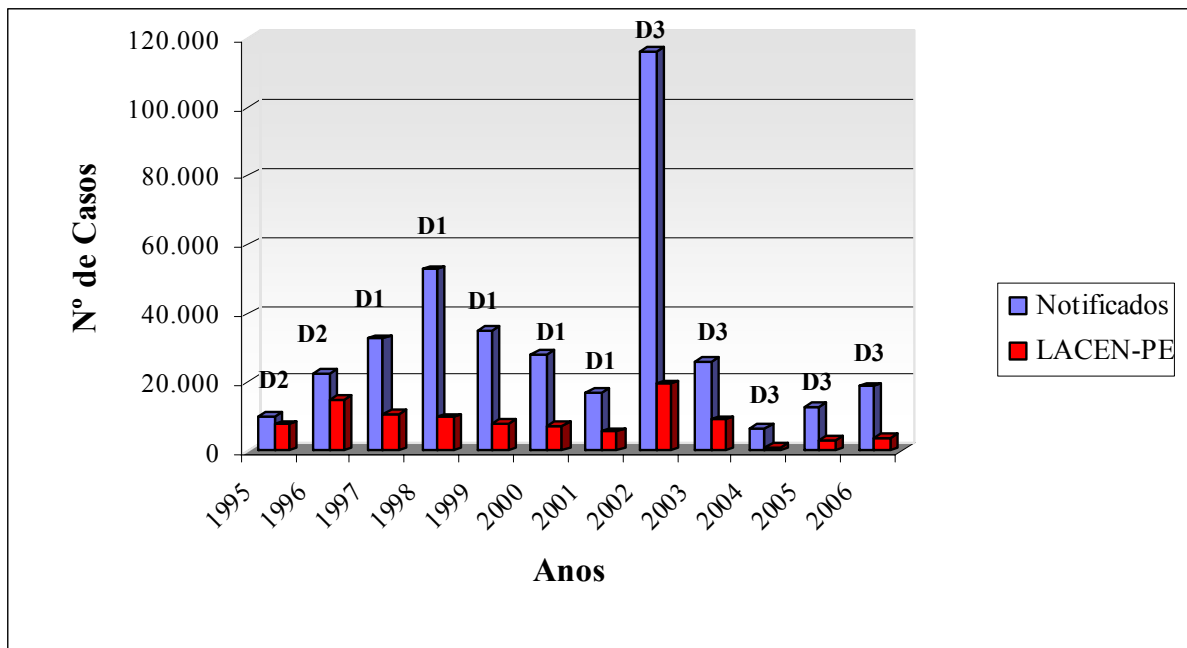


Figura 1 - Número de casos notificados e casos analisados no LACEN-PE; sorotipos predominantes em Pernambuco nos anos de 1995 a 2006

Nota: Dados da SES-PE/GGVS e do LACEN-PE

A distribuição espacial dos casos de dengue notificados em Pernambuco nos anos de 1995 a 2006 nos vários municípios, pode ser observada nas Figuras 2, 3 e 4, onde foi utilizado o coeficiente de incidência de casos (CI) por 100.000 habitantes, em vez de número de casos notificados, por ser um dado mais fidedigno. Desse modo é possível observar que os casos de dengue se propagaram como uma onda, de um município para outros vizinhos.

Em 1995, a epidemia teve início pela cidade de Recife, espalhou-se por outros municípios da Região Metropolitana (RMR) e da zona da mata (II GERES), atingindo um total de 55 municípios dos 176 existentes (Figura 2). Alguns municípios localizados mais no interior do estado também registraram casos de dengue, provavelmente oriundos de estados vizinhos, como Bahia, Ceará e Alagoas. Petrolina foi um deles, com um coeficiente de incidência de 27 casos/100.000 habitantes; ao norte identificou-se Salgueiro, Mirandiba e Serra Talhada, com 36, 157 e 25 casos/100.000, respectivamente. Afogados da Ingazeira e Custódia, municípios próximos, também tiveram casos. Os maiores coeficientes de incidência de casos foram registrados nos municípios de Itapissuma (540/100.000), Vitória de Santo Antão (495/100.000); Pesqueira (437/100.000) e Alagoinha (401/100.000). A cidade de Recife apresentou casos notificados em 93 bairros e um CI de 377 casos/100.000 e Olinda 287/100.000 habitantes. Caruaru teve um CI de 121 casos/100.000 habitantes sendo o único

município do estado em 1995 onde o DENV-1 foi isolado, nos demais apenas o DENV-2 foi identificado.

Em 1996 (Figura 2), o número de municípios com transmissão de dengue passou para 88, sendo que em oito deles havia circulação dos sorotipos 1 e 2, em três foram isolados apenas o DENV-1, nos demais o DENV-2. O movimento da onda epidêmica ainda se deu da Região Metropolitana do Recife (RMR) em direção ao interior, conforme pode ser observado na Figura 2. O Recife apresentou um coeficiente de incidência de casos maior do que o do ano anterior (604/100.000); porém os maiores índices ocorreram nos municípios de Ribeirão (1683/100.000), Caruaru (1061/100.000), Itapissuma (995/100.000), Paulista (948/100.000), Abreu e Lima (776/100.000), Agrestina (783/100.000), Glória do Goitá (698/100.000) e Olinda (649/100.000 hab.), entre outros. O município de Petrolândia que notificou casos de dengue pela primeira vez, teve um CI de casos de 347/100 mil habitantes.

Em 1997, a transmissão de dengue foi registrada em 151 municípios (Figura 2), correspondendo a 82% dos 184 municípios do estado. Em 21 municípios foi isolado apenas o DENV-1, em 10 municípios houve isolamento de ambos os sorotipos e em três apenas o DENV-2. Neste ano, além do aumento do número de municípios atingidos, houve também um aumento significativo na incidência da doença em grande número de municípios.

Os maiores coeficientes de incidência foram de: Limoeiro (5.233/100.000), Pombos (3.896/100.000), Nazaré da Mata (3.028/100.000), Santa Cruz do Capibaribe (2916/100.000), Buenos Aires (2388/100.000), Timbaúba (2.137/100.000), Camaragibe (2.116/100.000) e outros onze municípios tiveram um CI entre 1000 e 1700/100 mil habitantes. A cidade de Recife apresentou um CI de 603/100 mil habitantes, idêntico ao do ano anterior, enquanto Olinda teve um CI de 1.230/100 mil habitantes.

Em 1998, 95% dos municípios notificaram casos, registrando-se um aumento de 16% em relação ao ano anterior. Com referência aos sorotipos circulantes identificou-se em 14 municípios apenas o DENV-1, em 13 municípios o DENV-2 e em 12 deles houve circulação dos dois sorotipos. Em Recife houve uma queda no CI de casos (538/100.000) assim como em Olinda (763/100.000), entretanto em outros municípios da RMR, como por exemplo, no Cabo de Santo Agostinho, o CI foi de 3.249/100.000 habitantes, quando no ano anterior tinha sido de 128/100.000 habitantes; em Ipojuca foi de 2.666/100 mil habitantes. Na Figura 2 pode ser observada a ocorrência de um maior número de casos em municípios das II, III e IV GERES, como por exemplo, na II GERES, Limoeiro (5.236/100.000.) e Lagoa do Carro (4.392/100.000); na IV GERES, Ibirajuba (3.759/100.000), Altinho (2.499/100.000), Caruaru (2.454/100.000), Taquaritinga do Norte (2.408/100.000).

Nos anos de 1999 e 2000 (Figura 3) foram observados os maiores coeficientes de incidência de casos, principalmente nos municípios localizados nas regiões centro e oeste do estado, apesar de ter havido uma participação importante dos municípios da Região Metropolitana e Zona da Mata na ocorrência de casos. No ano 2000, se sobressaíram na região central do estado, os municípios de Inajá com 2.349 casos/100.000 habitantes, Tacaratu (1.866/100.000), Floresta (1.581/100.000), Betânia (1.495/100.000) e Mirandiba (1.463/100.000).

Em 2001, foram notificados apenas 17.112 casos referentes a 174 (94%) municípios, entretanto observando a Figura 3 (2001) pode-se observar que nos municípios da I, II e III GERES houve uma nítida redução na incidência da doença. Neste ano o Distrito Federal de Fernando de Noronha, com uma população de 2.096 habitantes, registrou os primeiros casos de dengue autóctones, com 343 casos notificados, o que corresponde a 16% da população da ilha, apresentando um coeficiente de incidência de casos de 16.341/100.000 habitantes, tendo sido isolado o DENV-1. Os municípios com maior incidência de casos pertencem à IV, VI, VII, VIII e X GERES, entre eles, estão: Jatobá (1.957/100.000), Floresta (1.863/100.000), Brejo da Madre de Deus (1.569/100.000), Bodocó (1.513/100.000), Iguaraci (1.510/100.000). Em Recife neste ano, o coeficiente de incidência foi de apenas 156/100.000 habitantes.

Com a introdução do DENV-3 no estado em 2002 (116.245 casos notificados), todos os 185 municípios notificaram casos, de modo que a distribuição espacial dos casos de dengue por municípios nesse ano é bastante peculiar (Figura 3-2002). A Região Metropolitana (I GERES), a II, a III e a IV GERES voltaram a apresentar elevada incidência de casos. A cidade de Recife teve um CI de 2.765 casos/100.000 habitantes, Camaragibe (3.391/100.000 hab.), Cabo de Santo Agostinho (3.019/100.000 hab.) e Vitória de Santo Antão (2.572/100.000 hab.). As maiores incidência foram: na II GERES, Condado (3.970/100.000 hab), Vertente do Lério (3.866/100.000 hab.), Camutanga (3.392/100.000 hab.) e Iguaraci na X GERES (3.517/100.000 hab.), entre outros. Nesta epidemia identificou-se a circulação simultânea dos três sorotipos em 14 municípios; em 34 municípios foi identificado exclusivamente o DENV-3; em 16 municípios circularam DENV-1 e DENV-3 e em outros cinco municípios o DENV-2 e DENV-3.

Em 2003 houve grande redução no número de casos ($n=26.083$), contudo ainda foram notificados casos em 179 municípios (97%). A distribuição pode ser vista na Figura 4, onde, mais uma vez, pode ser observado o deslocamento dos maiores coeficientes de incidência de casos dos municípios localizados no litoral em direção ao interior. Nesse ano, 98% dos isolamentos foram de DENV-3 e em 61 municípios o DENV-3 foi o único sorotipo isolado. A

cidade de Recife apresentou um CI de 81/100.000 habitantes neste ano. Vinte e seis municípios apresentaram coeficiente de incidência entre 1.000 e 2.635/100.000 habitantes e estão localizados nas IV (9), VI (9), V (1), VII (1), VIII (1) e X (5) GERES. Destacando-se os maiores coeficientes de incidência temos: Pedra (2.635/100.000), Pesqueira (2.354/100.000), Riacho das Almas (2.291/100.000), Arcoverde (2.258/100.000), Jataúba (2.168/100.000), Calumbi (1.865/100.000), na V GERES, o município de Terezinha (1008/100.000).

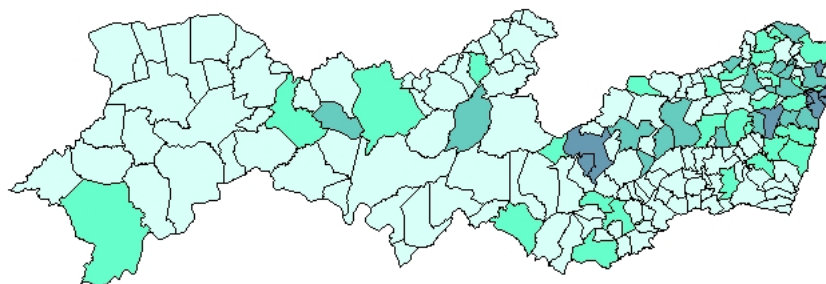
Em 2004, 163 municípios notificaram casos de dengue, porém ocorreu uma redução drástica no número de infecções (6.337 casos). Neste ano 100% dos vírus isolados pertenciam ao sorotipo 3. Na distribuição espacial dos casos observada no mapa de 2004 (Figura 4), vê-se perfeitamente que a incidência da doença reduziu-se significativamente, quando comparado ao ano anterior. O mais alto CI registrado foi o do município de Jataúba, de 896/100.000 habitantes (IV GERES) e na II GERES, tivemos Cumaru e Feira Nova, com 578 e 532 casos/100.000 habitantes, respectivamente. A cidade de Recife apresentou um CI de casos de 58/100.000 habitantes.

Em 2005, houve um recrudescimento nos casos de dengue, principalmente nos municípios situados na região oeste do estado, conforme se observa no mapa de 2005 (Figura 4), sendo no total 173 municípios atingidos (12.990 casos). Em Recife a incidência foi baixa, 120 casos/100.000 habitantes, enquanto nos municípios de IX GERES, Parnamirim e Santa Cruz, o CI foi de 6.846 e 1.583 casos/100.000 habitantes; em Cedro (VII GERES) o coeficiente de incidência foi de 2.042/100.000 habitantes. O DENV-3 continuou sendo o sorotipo predominante entre os isolados (95%).

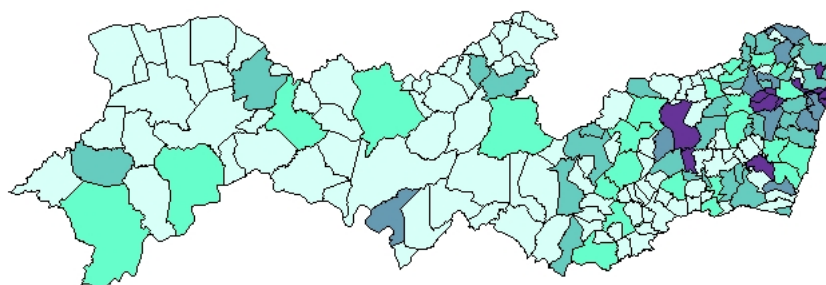
Em 2006 ocorreu um aumento de 43% no número de casos em relação ao ano anterior, com predominância do DENV-3 (94%) e o reaparecimento do DENV-2 (6%). A incidência em Recife continuou baixa (211/100.000), porém se apresentou mais elevada do que nos anos de 2004 e 2005. Com CI entre 600 e 3.445/100.000 habitantes há 14 municípios: seis na II GERES: Tracunhaém (1.170/100.000), Vicência (1.051/100.000), Machados (851/100.000), Lagoa do Carro (835/100.000), Macaparana (687/100.000) e Surubim (675/100.000); quatro na IV GERES, Sairé, Belo Jardim, Riacho das Almas e Frei Miguelinho (1.063, 699, 607, 601/100.000), respectivamente; dois na VII, Verdejante (1.994/100.000) e Salgueiro (675/100.000); na III GERES, Amaraji com 803/100.000 habitantes e um na I GERES, Fernando de Noronha, que apresentou o mais alto coeficiente de incidência (3.445/100.000).

A distribuição espacial dos casos de dengue observada nos mapas das Figuras 2, 3 e 4, fornece interessantes informações sobre o deslocamento das epidemias no estado sendo auto explicativas.

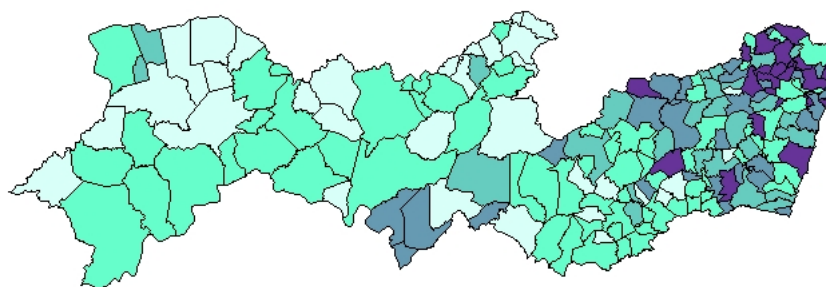
1995



1996



1997



1998

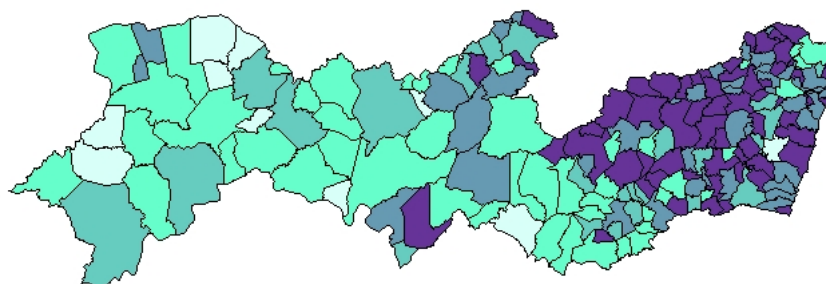
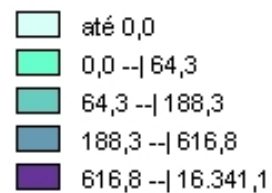
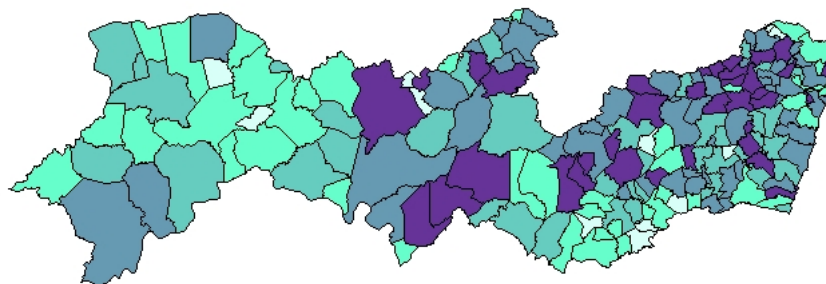
**CI / 100 000
habitantes**

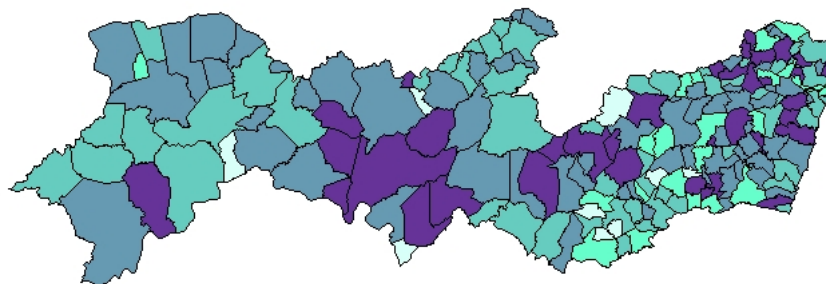
Figura 2 - Coeficiente de Incidência de Casos de Dengue (CI) por 100.000 habitantes, em Municípios do Estado de Pernambuco, nos anos de 1995, 1996, 1997 e 1998

Nota: Dados da SES-PE/GGVS/SINAN

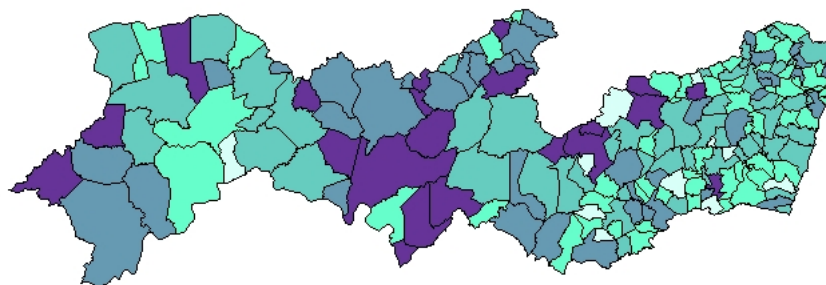
1999



2000



2001



2002

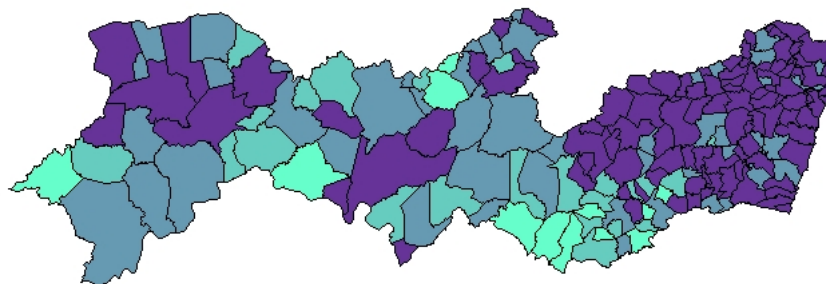
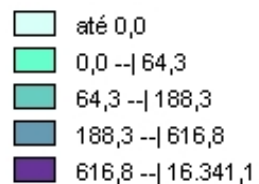
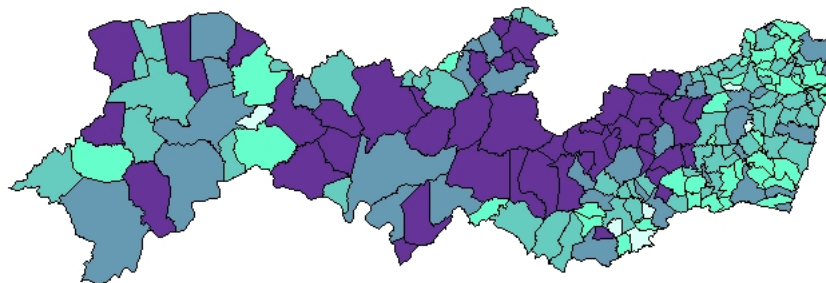
**CI / 100 000
habitantes**

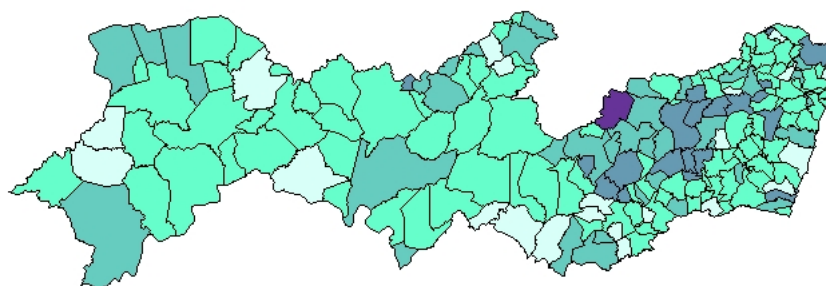
Figura 3 - Coeficiente de Incidência de casos de dengue (CI) por 100.000 habitantes, em Municípios do Estado de Pernambuco, nos anos de 1999, 2000, 2001 e 2002

Nota: Dados da SES-PE/GGVS/SINAN

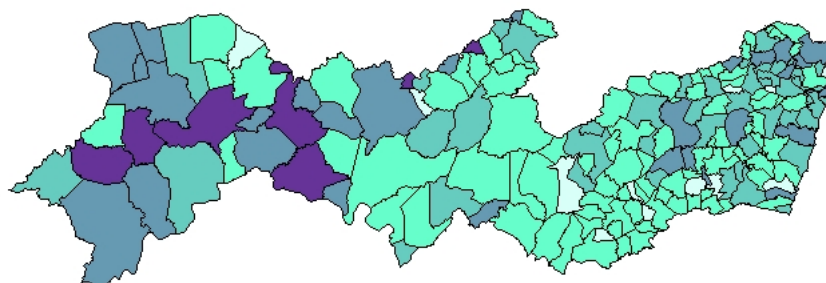
2003



2004



2005



2006

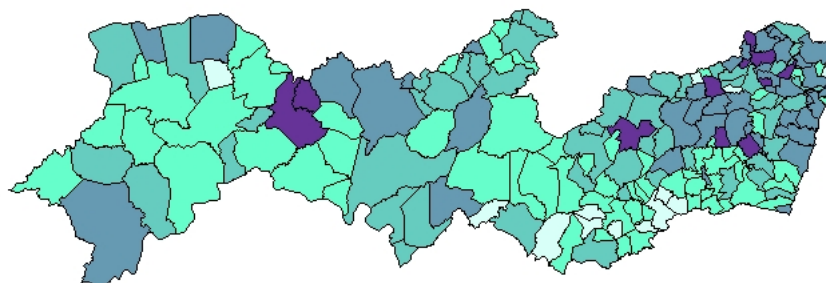
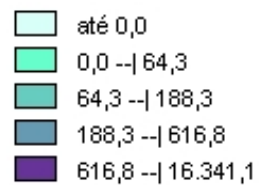
**CI / 100 000
habitantes**

Figura 4 - Coeficiente de Incidência de casos de dengue (CI) por 100.000 habitantes, em Municípios do Estado de Pernambuco, nos anos de 2003, 2004, 2005 e 2006

Nota: Dados da SES-PE/GGVS/SINAN

4.2 Distribuição dos casos de dengue de 1995 a 2006 de acordo com as Mesorregiões

O estado de Pernambuco está localizado na parte Centro-leste da região Nordeste do Brasil e possui uma área de 98.938 km². Geograficamente está dividido em cinco Mesorregiões: Metropolitana, Mata, Agreste, Sertão e São Francisco (PERNAMBUCO, 2005a; 2005b; 2005c) (Anexo C).

A Mesorregião Metropolitana ou Região Metropolitana do Recife (RMR) possui uma área de 2.772,7 km² que corresponde a 2,8% da área do Estado, é a menor delas, porém é a mais povoada, onde residem 41,8% da população. Apresenta a maior concentração demográfica do estado (1.114,4 hab./km²) e é a região mais desenvolvida economicamente, favorecendo a grande concentração populacional.

A Zona da Mata possui uma área de 8.465,1 km², correspondendo a 8,6% do Estado e concentra 15,5% da sua população (135,9 hab./km²). Tradicional região de economia canavieira, em decadência, vem sendo aos poucos substituída pela pecuária. Nesta região destacam-se as belas praias localizadas na mata-sul, que impulsionam o turismo, atraindo um número cada vez maior de visitantes.

A Mesorregião do Agreste compreende uma área de 24.444,7 km², correspondendo a 24,7% do Estado e 25,3% da população (76,6 hab./km²). É uma região de transição entre Mata e Sertão, com um espaço diversificado, do ponto de vista ecológico e da estrutura econômica. O Agreste ocupa a segunda posição em indústrias no Estado, apresenta também um elevado potencial turístico, especialmente em virtude de suas festas regionais.

A Mesorregião do Sertão pernambucano possui uma área de 38.575,8 km², correspondendo a 39% da área do Estado e 11,7% da população de Pernambuco (22,4 hab./km²). Apesar de ser a maior região, as condições ecológicas são desfavoráveis às atividades agrícolas e à fixação da população, sendo observados grandes vazios populacionais.

A Mesorregião do São Francisco tem uma área de 24.634,4 km², correspondendo a 24,9% do Estado e possui 5,7% de sua população. É a menos populosa e menos povoada (17,0 hab./km²), porém em virtude de ser banhada pelo rio São Francisco, apresenta condições geo-econômicas favoráveis, possuindo uma economia diferenciada baseada na agricultura irrigada, com produtos de alto valor comercial e de exportação.

Casos de dengue foram notificados, em maior ou menor proporção, em todas essas regiões e para estudá-los foi realizada a distribuição dos casos notificados no período de 1995

a 2006 de acordo com as cinco Mesorregiões do Estado. Neste período foram notificados em Pernambuco 378.374 casos, dos quais 46,5% (176.038 casos) ocorreram na RMR; 26,8% (101.302 casos) na região do Agreste; 14,4% (54.557 casos) na região da Mata; 8,6% no Sertão (32.544 casos) e apenas 3,7% (13.933 casos) na região do São Francisco (Tabela 2).

Entretanto quando analisados os coeficientes de incidência de casos por 100.000 habitantes em cada ano de acordo com as Mesorregiões (Figura 5 e Tabela 2), observa-se que a RMR apresentou o maior coeficiente de incidência nos anos de 1995 e 1996, sendo superado em 1997 pela região da Mata. Nos anos de 1998 e 1999, o maior coeficiente de incidência foi o da região Agreste, em segundo e terceiro lugares ficaram as regiões Mata e Região Metropolitana do Recife.

No ano 2000, a RMR apresentou o mais baixo coeficiente de incidência de casos do Estado (234,5/100.000), enquanto a doença se deslocava e se manifestava de forma mais acentuada na região do Sertão, com 526/100.000 habitantes, o mais alto coeficiente de incidência neste ano. Em 2001 houve uma queda no número de casos de dengue em todo o estado, contudo os mais altos coeficientes de incidência ainda foram os das regiões do São Francisco e Sertão.

Em 2002 a epidemia causada pelo DENV-3 que teve início na RMR e posteriormente se deslocou para as demais regiões, apresentou o mais alto coeficiente de incidência de casos registrados na série histórica (1.438 casos/100.000 habitantes). Nesta epidemia, a Região Metropolitana apresentou o mais alto coeficiente de incidência de casos, 2.002/100.000 habitantes, nas demais mesorregiões foram: 1.402/100.000 (Mata), 1.123/100.000 (Agreste), 375/100.000 (São Francisco) e 633/100.000 (Sertão).

Contudo em 2003, o CI no estado caiu para 320/100.000 habitantes, provavelmente pela redução do número de indivíduos susceptíveis ao DENV-3. Foi observada uma inversão na distribuição da doença, onde a RMR teve o menor CI (88/100.000) enquanto a região do Sertão o maior, com 748/100.000 habitantes (Figura 5 e Tabela 2).

Nos três anos seguintes, 2004 a 2006, houve redução no número de casos de dengue, sendo observados os coeficientes de incidência de 77, 154 e 219/100.000 habitantes, respectivamente. Na Figura 5, observa-se a queda geral na incidência de casos em 2004 e uma ligeira elevação nos anos seguintes, principalmente nas regiões do Sertão e São Francisco. Em 2004, o CI da Região Metropolitana foi de 54,8/100.000, com ligeira elevação nos anos seguintes (Tabela 2), o mesmo acontecendo com as mesorregiões do Agreste e da Mata.

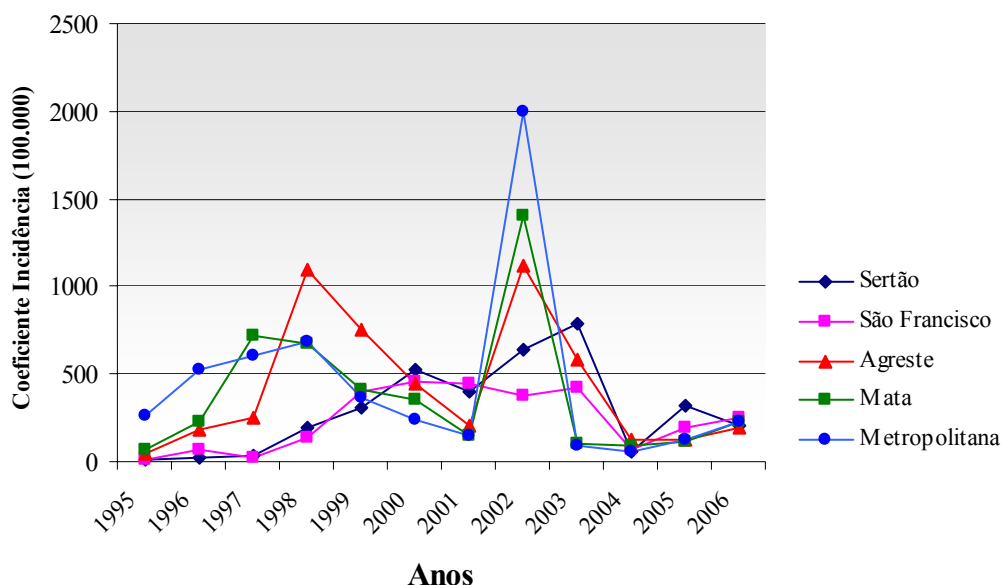


Figura 5 - Dengue em Pernambuco: coeficiente de incidência de casos (por 100.000 habitantes), por Mesorregião, 1995 a 2006.

Nota: Dados da SES-PE/GGVS/SINAN

Tabela 2 - Distribuição dos casos notificados de dengue e coeficiente de incidência de casos por 100.000 habitantes, em Pernambuco, por Mesorregião, nos anos de 1995 a 2006.

ANO	Sertão		São Francisco		Agreste		Mata		RMR	
	CN	CI	CN	CI	CN	CI	CN	CI	CN	CI
1995	127	14,0	48	11,8	910	48,3	848	72,2	8.049	262,2
1996	168	19,4	264	62,9	3.487	186,1	2.625	228,2	16.178	523,9
1997	327	37,9	105	24,5	4.766	252,7	8.363	723,9	19.066	609,1
1998	1.695	196,6	623	142,4	20.846	1.099,0	7.871	678,9	21.598	682,1
1999	2.668	310,0	1.777	399,0	14.282	748,7	4.834	415,5	11.538	360,3
2000	4.797	526,0	2.107	452,5	8.923	447,5	4.298	356,0	7.825	234,5
2001	3.607	393,8	2.096	440,7	4.398	218,5	1.792	147,4	5.219	154,0
2002	5.873	638,4	1.813	375,0	22.799	1.122,6	17.146	1402,0	68.614	2001,8
2003	7.282	781,6	2.151	422,4	12.232	587,0	1.319	106,0	3.099	87,2
2004	574	56,1	392	72,3	2.296	121,9	1.136	90,7	1.939	54,8
2005	3.318	321,2	1.087	193,0	2.515	131,2	1.405	110,6	4.665	128,5
2006	2.109	203,1	1.470	256,1	3.848	199,0	2.920	228,2	8.248	224,3
Total	32.544	3.561	13.933	2.960	101.302	5.298	54.557	4.504	176.038	5.233

Nota: Cálculo baseado em dados da SES-PE/GGVS-GVE

Legenda: CN: caso notificado; CI: coeficiente de incidência.

A distribuição espacial dos casos de dengue no Estado, por Mesorregião, para o ano de 1995, revela o movimento da epidemia no sentido Recife → RMR → Zona da Mata. A doença se deslocou da Região Metropolitana do Recife, em direção à região da Mata, Agreste e Sertão, porém sempre se manteve na RMR, conforme pode ser observado nos mapas⁴ do Estado de Pernambuco dividido por Mesorregião (Figuras 6, 7 e 8). A Região Metropolitana e a da Mata sempre registraram o maior número de casos de dengue desde 1995, com ocorrência de casos, em maior ou menor intensidade, em todos os anos analisados.

Em 1995 (Figura 6), a RMR teve casos de dengue notificados em 12 dos 13 municípios, com um coeficiente de incidência entre 245 e 406/100.000 habitantes. Na Mesorregião da Mata 17 dos 41 municípios existentes notificaram casos; no Agreste, 18/70 municípios; no São Francisco em apenas 1/13 e no Sertão em 6/39 municípios, com um coeficiente de incidência máximo de 105/100.000 habitantes.

Em 1996 (Figura 6), a RMR notificou casos em todos os 13 municípios, com um coeficiente de incidência entre 406 e 642/100.000 habitantes. A doença atingiu também, de forma mais acentuada a região da Mata que registrou casos de dengue em 30 dos 41 municípios e a do Agreste, em 29/70 municípios, com um coeficiente de incidência de casos entre 105 e 245/100.000 habitantes. As regiões do São Francisco e do Sertão tiveram casos notificados em 4/13 e em 7/39 municípios, respectivamente, com um coeficiente de incidência de casos de até 105/100.000 habitantes.

Em 1997, o número de municípios no Estado, passou de 176 para 184 municípios (excluindo o Território de Fernando de Noronha). Foram criados mais dois municípios no Sertão, dois na região do São Francisco, um no Agreste, dois na Mata e um na Região Metropolitana do Recife. Nesse ano os dois sorotipos do vírus dengue, DENV-1 e DENV-2, se dispersaram por um maior número de municípios em todas as mesorregiões, se deslocando da RMR para a Mata, que registrou a ocorrência de casos em todos os 43 municípios, apresentando os mais altos coeficientes de incidência de casos (642 a 2.023/100.000 hab.). Também no Agreste a incidência da doença aumentou neste ano, tendo em vista que 60 dos 71 municípios notificaram casos de dengue. Na região do Sertão, 22 dos 43 municípios confirmaram casos e na do São Francisco em 12 dos 15 municípios, entretanto, o coeficiente de incidência se manteve dentro dos limites dos anos anteriores (Figura 6).

⁴ Para uniformizar as informações sobre os coeficientes de incidência de casos por Mesorregião foram usados os quintis da distribuição dos casos notificados por municípios, em cada ano.

Em 1998 ficou evidenciado o grande número de casos de dengue registrado em todas as regiões (Figura 6), com os maiores coeficientes de incidência de casos nas regiões contíguas: RMR, Mata e Agreste (642 a 2.023/100.000), com 127 municípios dessas regiões notificando casos. Casos de dengue foram notificados em 36, dos 43 municípios da região do Sertão, e em 12/15 da região do São Francisco, ficando o coeficiente de incidência nessas regiões entre 105 e 245/100.000 habitantes.

Em 1999 (Figura 7), houve uma diminuição no coeficiente de incidência de casos na RMR e Mata, permanecendo alto no Agreste, enquanto aumentava nas regiões do Sertão e do São Francisco, com 93% dos municípios atingidos e um coeficiente de incidência de 245 a 406/100.000 habitantes.

No ano 2000, a RMR teve o menor coeficiente de incidência de casos entre as mesorregiões, caindo também na Mata e Agreste, porém continuou aumentando no Sertão e no São Francisco (Figura 7) com o maior coeficiente de incidência até então registrado em ambas as regiões.

Em 2001, ano em que o dengue apresentou características de endemicidade, foi notificado o segundo menor número de casos no período de 1995 a 2003 (15.781 casos), atingindo 157 municípios, sendo observado um coeficiente de incidência de casos de 245 a 406/100.000 habitantes para as regiões do Sertão e São Francisco e de 105-245/100.000 habitantes para as demais regiões (Figura 7).

Em 2002, com a epidemia causada pelo DENV-3, mais uma vez fica evidenciada a introdução de um novo sorotipo do vírus pelo litoral (RMR) e o seu deslocamento para as demais regiões do estado (Figura 7). As mesorregiões: RMR, Mata e Agreste apresentaram um coeficiente de incidência de 642 a 2.023/100.000 habitantes; a do Sertão, 406 a 642/100.000 habitantes e a do São Francisco, 245 a 406/100.000 habitantes. Neste ano os 185 municípios, incluindo o Distrito de Fernando de Noronha, notificaram casos de dengue.

Em 2003, a atividade do dengue continuou importante nas regiões do Sertão (CI de 642 a 2.023/100.000) e do São Francisco (CI de 406 a 642/100.000). A RMR, duramente atingida no ano anterior, apesar de todos os municípios ter notificado casos, apresentou uma queda drástica na incidência de casos, caindo ainda mais no ano seguinte, quando registrou a mais baixa incidência de todo o período estudado (54,8 /100.000) (Figura 8).

Em 2004, apenas a região do Agreste registrou um aumento na incidência da doença, entretanto, não ultrapassou a faixa de 250 casos por 100 mil habitantes, o mesmo índice registrado nos anos de 2005 e 2006 (Figura 8).

Em relação aos anos anteriores, a ocorrência da doença durante os anos de 2004 a 2006, esteve relativamente sob controle, com baixa incidência de casos. Contudo em 2005 e 2006 pode-se observar, através dos mapas da Figura 8, que a incidência do dengue voltou a aumentar, atingindo um coeficiente de incidência na faixa entre 105 e 406 casos por 100 mil habitantes, para todo o estado (Figura 8).

Em 2005 a mesorregião do Sertão foi a mais afetada (CI de 245-406/100.000), invertendo-se o quadro em 2006, quando a região do São Francisco passou a ser a mais atingida pela doença.

A análise da série histórica sobre a evolução dos casos de dengue em Pernambuco revela uma característica importante, também observada em outras unidades da federação como, por exemplo, no estado do Rio de Janeiro (DE SIMONE et al., 2004) que é a ocorrência da maioria dos casos nas regiões metropolitanas (SIQUEIRA et al., 2005).

Nestas áreas a alta densidade populacional favorece a disseminação do vírus. Por outro lado, a grande disponibilidade de depósitos artificiais (pneus, garrafas plásticas, suportes de vasos de plantas, e outros materiais descartáveis) que facilitam a reprodução do vetor, auxiliadas pela maior facilidade de dispersão passiva do vetor, como consequência da maior oferta, frequência e rapidez dos meios de transporte. Estes fatores em conjunto, dificultam as ações de controle do vetor com a finalidade de quebrar a cadeia de transmissão da doença.

Analisando a distribuição espacial da dengue nas diferentes regiões geográficas do estado nesse período, pelas Figuras 6, 7 e 8 é possível chegar-se a algumas conclusões: tanto o vetor como os vírus se deslocaram da região metropolitana para as regiões adjacentes, para aquelas mais populosas. Observa-se, por exemplo, que a região do Agreste, a segunda mais populosa do estado, desde o início da atividade dos vírus dengue no estado, sempre foi uma das mais afetadas.

Com relação às mesorregiões do Sertão e do São Francisco existem grandes vazios populacionais e uma baixa densidade demográfica. Contudo, as condições de saneamento e fornecimento de água na maioria dos municípios são precárias, o que leva a população a armazenar água para o seu consumo diário. Talvez seja esta uma das condições que favoreçam a proliferação do vetor e o surgimento de casos de dengue.

Quando se calcula o CI de cada mesorregião com base na mediana da população dos anos de 1995 a 2006, observa-se que a região Agreste e a Região Metropolitana do Recife apresentam quase o mesmo CI, 5.298 casos e 5.233 casos por 100.000 habitantes, respectivamente, seguidas pela região da Mata (4.504/100.000 habitantes), Sertão (3.561/100.000 habitantes) e a região do São Francisco (2.960/100.000 habitantes) Tabela 2.

1995



1996



1997



1998



CI / 100 000 habitantes

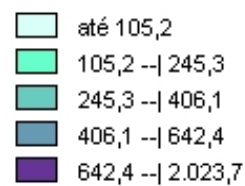


Figura 6 - Coeficiente de incidência de casos de dengue (CI) por 100.000 habitantes, por Mesorregião, no Estado de Pernambuco, nos anos de 1995, 1996, 1997 e 1998.
 Nota: Dados obtidos na SES-PE/GGVS/SINAN.

1999



2000



2001



2002



CI / 100 000
habitantes

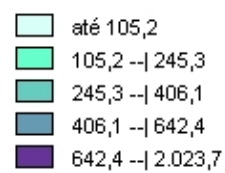


Figura 7 - Coeficiente de incidência de casos de dengue (CI) por 100.000 habitantes, por Mesorregião, no Estado de Pernambuco, nos anos de 1999, 2000, 2001 e 2002.

Nota: Dados obtidos na SES-PE/GGVS/SINAN.

2003



2004



2005



2006



CI/100 000 habitantes

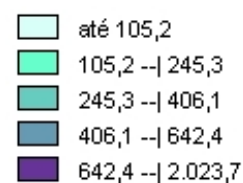


Figura 8 - Coeficiente de incidência de casos de dengue (CI) por 100.000 habitantes, por Mesorregião, no Estado de Pernambuco, nos anos de 2003, 2004, 2005 e 2006.

Nota: Dados obtidos na SES-PE/GGVS/SINAN.

4.3 Distribuição do *Aedes aegypti* nos municípios de Pernambuco, 1995-2006.

O Boletim Epidemiológico da Secretaria de Saúde do Estado (PERNAMBUCO, 1996), divulgou as informações do levantamento realizado pela Fundação Nacional de Saúde (FUNASA) sobre o índice e o controle do vetor na capital e no interior no ano de 1994. Essas informações revelaram a existência de focos do mosquito *Aedes aegypti* em 27 municípios, apesar dos esforços da FUNASA para controlar o vetor. Eram eles: Recife, Olinda, Paulista, Abreu e Lima, Igarassu e Vitória de Santo Antão (I GERES); Itambé e Timbaúba (II GERES); Ribeirão, Palmares, Xexeu e Canhotinho (III GERES); Caruaru, Bezerros, Brejo da Madre de Deus, Agrestina e Cupira (IV GERES); Lajedo (V GERES); Floresta e Salgueiro (VII GERES); Cabrobó e Petrolina (VIII GERES); Exu e Ouricuri (IX GERES); Serra Talhada e Afogados da Ingazeira (X GERES).

Em 1995 foi constatada a presença do vetor em 42 municípios, passando para 125 em 1996 e 173 em 1999. Em 1998 havia 130 municípios infestados pelo *Aedes aegypti*, porém o número de municípios com transmissão dos vírus dengue era bem superior (175) conforme pode ser observada na Figura 9, sendo observada a correlação entre municípios com transmissão viral e municípios infestados, exceto nos anos de 1997 e 1998.

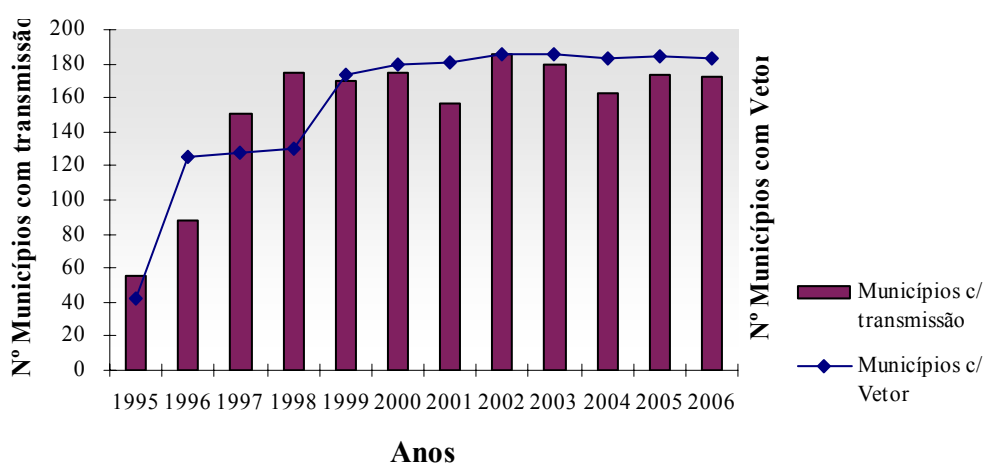


Figura 9 - Número de municípios com transmissão viral e número de municípios com *Aedes aegypti*, no estado de Pernambuco, 1995 a 2006.

Fonte: MS/FUNASA/CENEPI; SES-PE/SVE

Com relação à questão do vetor em Pernambuco e tendo como parâmetro os critérios do Plano de Erradicação do *Aedes aegypti* (PEAa) instituído no Brasil desde 1996 (BRASIL, 1996) e posteriormente modificado, constata-se que a evolução da infestação do *Aedes aegypti* também se deu da Região Metropolitana do Recife para a Mata, Agreste e Sertões. Entre as prováveis causas que levaram ao aumento da população vetorial, não apenas no estado de Pernambuco, mas em várias unidades da Federação, a mais importante, foi e ainda é, a precariedade do saneamento básico, incluindo os sistemas de abastecimento de água e esgotamento sanitário e a coleta de resíduos sólidos (TAUIL, 2002). Os Programas de controle do vetor no país serão abordados no capítulo 11 deste estudo. Segundo a análise feita pelo Ministério da Saúde sobre a situação de saúde no país (BRASIL, 2004), ficou constatado que em 1991 apenas 64% da população do estado de Pernambuco tinham acesso à rede geral de abastecimento de água e que no ano 2000 o percentual ainda era de 69%. Essa deficiência no abastecimento de água leva a população a armazenar água para atender as suas necessidades, o que é feito muitas vezes, de forma inadequada, favorecendo o surgimento de criadouros do vetor.

Convém ainda ressaltar, que grande parte da rede de esgotamento sanitário não recebe qualquer tipo de tratamento antes de seu destino final, bem como os resíduos sólidos recebem destino muitas vezes inadequado. Por outro lado a coleta regular do lixo doméstico que atendia apenas a 50% da população do estado em 1991, melhorou muito pouco, passando a atender a apenas 66% da população no ano 2000 (BRASIL, 2004). Em 2005, o estado de Pernambuco apresentava uma cobertura de apenas 38% no acesso ao esgoto (BRASIL, 2006).

É sabido que as doenças transmitidas por vetores, particularmente aqueles cujo habitat preferencial fica próximo dos domicílios, são extremamente difíceis de serem controladas, exigindo um grande esforço e comprometimento, tanto do governo quanto da população. A mobilização da comunidade através de ações educativas permanentes, especialmente junto aos jovens nas escolas, se mostrou eficiente nos locais onde foram adotadas (SWADDIWUDHIPONG, et al., 1992).

A questão fundamental para o insucesso desse tipo de estratégia no controle do vetor é que após baixarem os índices de infestação do mosquito e a conseqüente redução dos casos da doença ocorre a desmobilização da população. Evidências demonstram que ações de educação não modificam permanentemente hábitos da população e ações baseadas apenas no combate vetorial químico têm também se mostrado insuficientes para impedir a circulação viral (TAUIL, 2002).

Segundo Pontes et al (2000), a epidemia de dengue ocorrida em 1994, no estado no Ceará, teve início antes mesmo do início da estação chuvosa, tendo sido constatado que o aumento da densidade vetorial estava associado com o armazenamento de água nos domicílios, devido a um prolongado período de seca na região, além da diminuição das ações de combate ao vetor, por falta de recursos financeiros. Donde se conclui que, mesmo durante o período de chuvas, a incidência de dengue não aumenta quando o controle do vetor permanece ativo. Em Fortaleza, as epidemias nos anos de 1986, 1989, 1994 e 1998, ocorreram após um relaxamento no monitoramento vetorial, decorrente, principalmente, da redução dos recursos financeiros destinados ao combate ao vetor. Em cada um desses surtos, mais de 1% dos domicílios encontrava-se infestado por larvas de *Aedes aegypti* (PONTES et al., 2000).

Especialistas afirmam que é pouco provável ocorrer surto da doença com um índice de infestação predial inferior a 1% (ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE, 1995). Entretanto, estudos demonstraram a circulação de vírus em Singapura com índice de infestação abaixo de 1% (NEWTON, REITER, 1992). No Brasil em Salvador, segundo estudos realizados, ocorreu transmissão do vírus com índices abaixo de 3% (TEIXEIRA et al., 2002).

Considerando que o vetor da dengue tem um estágio larvário no seu ciclo de vida que depende de criadouros contendo água parada para o seu desenvolvimento, se não existissem tais criadouros para as larvas se transformarem em mosquitos adultos, não haveria a doença.

Uma importante opção ao uso de inseticidas químicos para o combate ao vetor que vem sendo utilizada na cidade de Recife e municípios da Região Metropolitana, é uma armadilha conhecida como “ovitrampa”, associada a um larvicida biológico cujo principal componente é o *Bacillus thuringiensis* variedade *israelensis*, (nome comercial Bti), que mata as larvas e, ao mesmo tempo, funciona como estimulante para que as fêmeas depositem seus ovos nas armadilhas. Dessa forma, milhares de ovos serão recolhidos impedindo a sua transformação em adultos (SANTOS, et al., 2003). Essa pesquisa, com resultados promissores, vem sendo desenvolvida por uma equipe do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – FIOCRUZ, em Recife, coordenada pela pesquisadora Lêda Regis.

Enquanto uma vacina efetiva contra a dengue não estiver disponível, a prevenção da doença continuará a depender do controle do vetor, da educação e participação da comunidade através da assimilação de atitudes corretas que levem à eliminação de criadouros artificiais que favorecem a proliferação do *Aedes aegypti* e da vigilância epidemiológica e virológica.

REFERÊNCIAS

DE SIMONE, T. S. et al. Dengue virus surveillance: the co-circulation of DENV-1, DENV-2 and DENV-3 in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 98, p. 553-562, 2004.

BRASIL. **Saúde Brasil 2006** – uma análise da desigualdade em saúde. Brasília, DF, 2006. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br/bvs>>. Acesso em: 10 jul 2007.

BRASIL. **Saúde Brasil 2004** – uma análise da situação de saúde. Editora do Ministério da Saúde, Brasília, DF, 2004.

BRASIL. **Plano Diretor** de Erradicação do *Aedes aegypti* do Brasil. Brasília, DF, 1996.

NEWTON, E. A.; REITER, P. A model of the transmission of dengue fever with an evaluation of the impact of ultra-low volume (ULV) insecticide applications on dengue epidemics. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 47, p. 709-720, 1992.

ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE. Dengue y Dengue hemorrágico en las Américas: guías para su prevención y control. **Publicación Científica n.548**, Washington, D.C., 1995.

PERNAMBUCO. Secretaria de Desenvolvimento Urbano. **O Estado de Pernambuco**. 2005a. Disponível em: <<http://www.municipios.pe.gov.br/municipio/pernambuco.asp>> Acesso em: 14 nov 2005.

PERNAMBUCO. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Meio Ambiente, **Geografia Econômica**. 2005b. Disponível em: <<http://www.sectma.pe.gov.br/notitia/administracao/espacociencia/geo/conteudo/geconomica.htm>> Acesso em: 14 nov 2005.

PERNAMBUCO. Secretaria de Desenvolvimento Urbano. **Regiões Geográficas de Pernambuco**. 2005c. Disponível em: <<http://www.municipios.pe.gov.br/municipio/index.asp>> Acesso em: 14 nov 2005.

PERNAMBUCO. Secretaria Estadual de Saúde. Diretoria de Epidemiologia e Vigilância Sanitária. **Informe Epidemiológico: Dengue e Endemias**, n. 1, 1996. Recife, 1996. Documento de circulação interna.

PONTES, R. J. S. et al. Vector densities that potentiate dengue outbreaks in a Brazilian city. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 62, n. 3, p. 378-383, 2000.

SANTOS, S. R. A. et al. Field evaluation of ovitraps consorciated with grass infusion and *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* to determine oviposition rates of *Aedes aegypti*. **Dengue Bulletin**, New Delhi, v. 27, p. 156-162, 2003.

SIQUEIRA, J. B. et al. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever, Brazil, 1981-2002. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 11, n. 1, p. 48-53, 2005.

SWADDIWUDHIPONG, W. et al. Effect of Health education on community participation in control of dengue hemorrhagic fever in an urban area of Thailand. **The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, Bangkok, v. 23, n. 2, p. 200-206, 1992.

TAUIL, P.L. Aspectos críticos do controle do dengue no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 18, p. 867-871, 2002.

TEIXEIRA, M. G. et al. Dynamics of dengue virus circulation: a silent epidemic in a complex urban area. **Tropical Medicine and International Health**, Oxford, v. 7, p. 757-762, 2002.

**DISTRIBUIÇÃO DOS CASOS DE
DENGUE POR IDADE E SEXO,
1995 - 2006**

5 DISTRIBUIÇÃO DOS CASOS DE DENGUE POR IDADE E SEXO, 1995 - 2006

5.1 Distribuição dos casos de dengue de acordo com a faixa etária

A ocorrência de dengue, de forma epidêmica ou mesmo endêmica, no Brasil ainda é recente, por essa razão uma grande parcela da população, independentemente da idade, ainda é susceptível ao vírus, ou pelo menos, a um dos três sorotipos que circulam até o momento, o que não ocorre nos países asiáticos, onde os quatro sorotipos circulam há muitos anos, fazendo com que a maioria da população adulta já esteja imune aos quatro sorotipos do vírus.

A distribuição por faixa etária dos 378.374 casos de dengue notificados em Pernambuco no período de 1995 a 2006 (Tabela 1) demonstra que a dengue acometeu indivíduos de todas as idades. Contudo, observou-se um maior percentual de casos nas faixas etárias de 20 a 34 anos e de 35 a 49 anos de idade, invariavelmente, em todos os anos estudados. Indivíduos na faixa etária de 20 a 49 anos representam 55% do total de casos notificados.

Com relação aos casos estudados laboratorialmente de 1995 a 2003 ($n = 91.480$) observou-se uma distribuição por faixa etária similar a dos casos notificados no mesmo período (Tabela 2).

Os dados analisados dos casos notificados de 1995 a 2003 ($n = 340.452$ casos) e dos casos submetidos a testes diagnósticos ($n = 91.480$), agrupados por idade (Figura 1) evidenciam uma maior participação de indivíduos nas mesmas faixas de idade acima mencionadas.

Levando-se em consideração o tamanho variável das populações-fonte nos diferentes grupos etários optou-se também por calcular o coeficiente de incidência de casos (CI) por 100 mil habitantes, visando compensar as disparidades de tamanho nas populações-fonte.

Conforme se observa na Tabela 3, os mesmos resultados foram encontrados, ou seja, a maior incidência de casos foi registrada no grupo etário dos 20 aos 49 anos, com uma taxa de incidência de 1.938 casos por 100.000 habitantes, no ano de 2002, nesse grupo etário.

Tabela 1 - Distribuição do número e percentual dos casos notificados de dengue no Estado de Pernambuco, por faixa etária, no período de 1995 a 2006

Ano	1995		1996		1997		1998		1999	
	Nº casos	(%)	Nº casos	(%)	Nº casos	(%)	Nº casos	(%)	Nº casos	(%)
< 1	0	(0,0)	157	(0,7)	257	(0,8)	368	(0,7)	316	(0,9)
1- 4	329	(3,3)	789	(3,5)	969	(3,0)	1.631	(3,1)	1.442	(4,1)
5- 9	589	(5,9)	1.272	(5,6)	1.719	(5,3)	2.736	(5,2)	2.251	(6,4)
10 - 14	978	(9,8)	2.131	(9,4)	2.553	(7,8)	3.892	(7,4)	3.254	(9,3)
15 - 19	935	(9,4)	1.999	(8,8)	3.295	(10,1)	5.516	(10,5)	3.954	(11,3)
20 - 34	3.725	(37,3)	8.134	(35,8)	11.273	(34,5)	18.431	(35,0)	11.336	(32,3)
35 - 49	1.993	(20,0)	4.817	(21,2)	7.163	(22,0)	11.182	(21,2)	7.125	(20,3)
50 - 64	998	(10,0)	2.443	(10,7)	3.738	(11,5)	5.893	(11,2)	3.781	(10,8)
65 - 79	435	(4,4)	884	(3,9)	1.371	(4,2)	2.378	(4,5)	1.334	(3,8)
≥ 80	0	(0,0)	75	(0,3)	132	(0,4)	314	(0,6)	183	(0,5)
IGN	-		21		157		292		123	
TOTAL	9.982		22.722		32.627		52.633		35.099	

Nota: Dados obtidos na SES-PE/GGVE/SINAN/SVES

Tabela 1 - Distribuição do número e percentual dos casos notificados de dengue no Estado de Pernambuco, por faixa etária, no período de 1995 a 2006 (continuação)

Ano	2000		2001		2002		2003	
	Nº casos	(%)	Nº casos	(%)	Nº casos	(%)	Nº casos	(%)
< 1	335	(1,2)	252	(1,5)	1.277	(1,1)	533	(2,0)
1 - 4	1.174	(4,2)	764	(4,5)	5.012	(4,3)	1.382	(5,3)
5 - 9	1.537	(5,5)	951	(5,5)	6.591	(5,7)	1.482	(5,7)
10 - 14	2.264	(8,1)	1.340	(7,8)	9.204	(7,9)	1.940	(7,4)
15 - 19	3.074	(11,0)	1.726	(10,1)	11.867	(10,2)	2.821	(10,8)
20 - 34	9.140	(32,7)	5.361	(31,3)	38.580	(33,2)	8.230	(31,6)
35 - 49	6.093	(21,8)	3.959	(23,1)	26.327	(22,6)	5.477	(21,0)
50 - 64	3.018	(10,8)	1.813	(10,6)	11.723	(10,1)	2.762	(10,6)
65 - 79	1.100	(3,9)	794	(4,6)	4.840	(4,2)	1.227	(4,7)
≥ 80	214	(0,8)	126	(0,7)	724	(0,6)	216	(0,8)
IGN	-	-	26		100		13	
TOTAL	27.949		17.112		116.245		26.070	

Nota: Dados obtidos na SES-PE/GGVE/SINAN/SVES

Tabela 1 - Distribuição do número e percentual dos casos notificados de dengue no Estado de Pernambuco, por faixa etária, no período de 1995 a 2006 (continuação)

Ano	2004		2005		2006		Total acumulado	
Idade (Anos)	Nº casos	(%)	Nº casos	(%)	Nº casos	(%)	Nº casos	(%)
< 1	174	(2,7)	249	(1,9)	381	(2,0)	4.299	(1,1)
1- 4	333	(5,3)	582	(4,5)	1.013	(5,4)	15.420	(4,1)
5- 9	431	(6,8)	936	(7,2)	1.552	(8,3)	22.047	(5,8)
10 - 14	544	(8,6)	1.034	(8,0)	1.764	(9,5)	30.898	(8,2)
15 - 19	797	(12,6)	1.295	(10,0)	1.890	(10,2)	39.169	(10,4)
20 - 34	1.953	(30,8)	4.092	(31,5)	5.406	(29,1)	125.661	(33,2)
35 - 49	1.233	(19,5)	2.914	(22,4)	4.003	(21,5)	82.286	(21,7)
50 - 64	578	(9,1)	1.296	(10,0)	1.833	(9,9)	39.876	(10,5)
65 - 79	258	(4,1)	503	(3,9)	661	(3,6)	15.785	(4,2)
≥ 80	36	(0,6)	89	(0,7)	87	(0,5)	2.196	(0,6)
IGN	0		0		5		144	
Total	6.337		12.990		18.590		378.374	

Nota: Dados obtidos na SES-PE/GGVE/SINAN/SVES

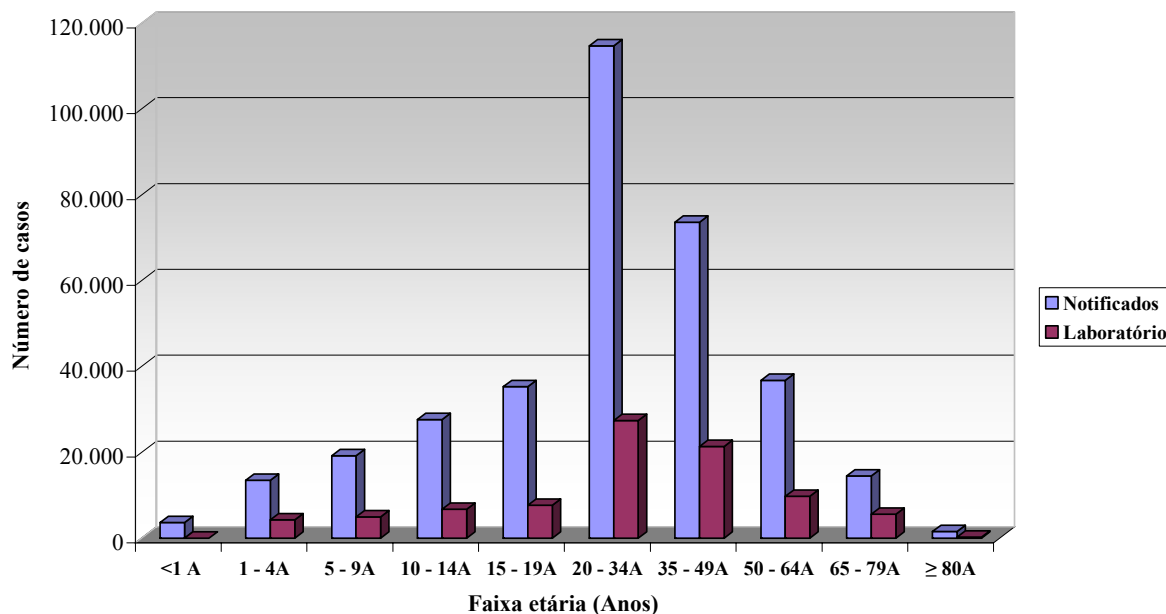


Figura 1 – Dengue no estado de Pernambuco: Distribuição do número total de casos notificados e dos casos analisados no LACEN-PE, por idade, de 1995 a 2003.

Nota: Dados obtidos na SES-PE/SINAN/GGVE//SVES

Tabela 2 - Distribuição do número e percentual dos casos suspeitos de Dengue, por faixa etária, analisados no LACEN-PE, no período de 1995 a 2003

Ano	1995		1996		1997		1998		1999	
	Nº casos	(%)	Nº casos	(%)	Nº casos	(%)	Nº casos	(%)	Nº casos	(%)
< 1	0	(0,0)	0	(0,0)	0	(0,0)	0	(0,0)	0	(0,0)
1 – 4	334	(4,4)	453	(3,1)	400	(3,7)	554	(5,5)	471	(6,1)
5 – 9	555	(7,3)	647	(4,4)	438	(4,0)	517	(5,4)	527	(6,8)
10 – 14	661	(8,7)	896	(6,1)	631	(5,8)	674	(7,0)	675	(8,7)
15 – 19	669	(8,8)	1.050	(7,1)	764	(7,0)	749	(7,8)	686	(8,8)
20 – 34	2.347	(30,9)	5.012	(34,1)	3.481	(31,9)	2.749	(28,5)	2.107	(27,1)
35 – 49	1.779	(23,4)	3.930	(26,7)	2.752	(25,2)	2.190	(22,7)	1.541	(19,9)
50 – 64	868	(11,4)	1.626	(11,1)	1.363	(12,5)	1.055	(10,9)	723	(9,3)
65 – 79	227	(3,0)	804	(5,5)	738	(6,8)	637	(6,6)	392	(5,0)
≥ 80	0	(0,0)	0	(0,0)	0	(0,0)	0	(0,0)	0	(0,0)
IGN	158	(2,1)	275	(1,9)	349	(3,2)	517	(5,4)	639	(8,2)
TOTAL	7.598		14.693		10.916		9.642		7.761	

Fonte: LABORATÓRIO CENTRAL DE PERNAMBUCO (2007)

Tabela 2 - Distribuição do número e percentual dos casos suspeitos de Dengue, por faixa etária, analisados no LACEN-PE, no período de 1995 a 2003 (continuação)

Ano	2000		2001		2002		2003		Total acumulado	
	Nº casos	(%)	Nº casos	(%)	Nº casos	(%)	Nº casos	(%)	Nº casos	(%)
< 1	0	(0,0)	0	(0,0)	0	(0,0)	0	(0,0)	0	(0,0)
1 – 4	324	(4,5)	309	(5,6)	970	(5,0)	413	(4,6)	4.228	(4,6)
5 – 9	358	(5,0)	306	(5,5)	1.138	(5,9)	450	(5,1)	4.936	(5,4)
10 – 14	560	(7,8)	416	(7,5)	1.590	(8,2)	621	(7,0)	6.724	(7,3)
15 – 19	682	(9,5)	483	(8,7)	1.749	(9,1)	773	(8,7)	7.605	(8,3)
20 – 34	2.083	(29,0)	1.584	(28,7)	5.533	(28,7)	2.471	(27,8)	27.367	(29,9)
35 – 49	1.599	(22,2)	1.279	(23,2)	4.486	(23,3)	1.802	(20,3)	21.358	(23,3)
50 – 64	677	(9,4)	495	(9,0)	1.902	(9,9)	1.008	(11,3)	9.717	(10,6)
65 – 79	414	(5,8)	347	(6,3)	1.377	(7,1)	587	(6,6)	5.523	(6,0)
≥ 80	0	(0,0)	0	(0,0)	153	(0,8)	69	(0,8)	222	(0,2)
IGN	494	(6,9)	301	(5,4)	378	(1,9)	689	(7,8)	3800	(4,1)
TOTAL	7.191		5.520		19.276		8.883		91.480	

Fonte: LABORATÓRIO CENTRAL DE PERNAMBUCO (2007)

Tabela 3 - Coeficiente de incidência de casos de dengue (por 100mil habitantes), de acordo com a faixa etária notificados no estado de Pernambuco no período de 1995 a 2006

ANO Idade (Anos)	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
< 1	0,0	104,3	169,2	240,4	205,0	211,1	157,0	787,9	325,7	105,3	147,6	223,5
1 – 4	45,9	130,2	158,5	264,8	232,4	183,7	118,2	768,4	209,9	50,1	85,8	147,7
5 – 9	63,3	155,7	208,6	329,6	269,2	191,8	117,4	806,0	179,5	51,7	110,0	180,6
10 – 14	105,5	243,9	289,7	438,4	363,9	261,9	153,3	1043,5	217,9	60,6	112,8	190,4
15 – 19	111,1	240,4	392,6	652,3	464,1	349,2	193,9	1320,8	311,0	87,1	138,6	200,1
20 – 34	212,3	446,2	612,3	992,9	605,7	458,9	266,0	1895,4	400,3	94,1	192,8	252,0
35 – 49	187,5	415,0	611,2	946,4	598,2	462,3	296,9	1955,2	402,8	89,8	207,7	282,2
50 – 64	155,9	360,2	546,5	855,4	545,0	387,4	230,2	1474,8	344,3	71,4	156,9	219,7
65 – 79	130,0	249,3	383,7	661,2	368,6	284,4	203,2	1228,3	308,7	64,4	123,1	160,3
≥ 80	0,0	95,1	166,2	393,0	227,7	215,2	125,5	715,2	211,6	35,0	84,9	82,3
TOTAL	134,1	307,1	437,0	699,6	463,0	353,0	231,4	1436,6	319,4	76,9	154,4	218,6

Nota: Dados obtidos na SES-PE / GGVS.

Agrupando os casos notificados de dengue por ano de ocorrência, de acordo com o coeficiente de incidência em três faixas etárias: menores de 5 anos, dos 5 aos 14 anos e ≥ 15 anos (Figura 2), observa-se que o grupo com idade ≥ 15 anos foi o mais afetado. Entretanto, a partir de 2003, o grupo com idade inferior a 15 anos, passou a ter uma participação mais significativa do que nos anos anteriores, conforme pode ser observado na Tabela 3.

Em 2003, a incidência de casos em crianças com idade inferior a 5 anos foi maior do que a do grupo de 5 a 14 anos de idade (Figura 2). O coeficiente de incidência nos grupos: <1 ano, de 1 a 4 anos e de 5 a 14 anos foi de 326, 210 e 199/100.000 habitantes, respectivamente.

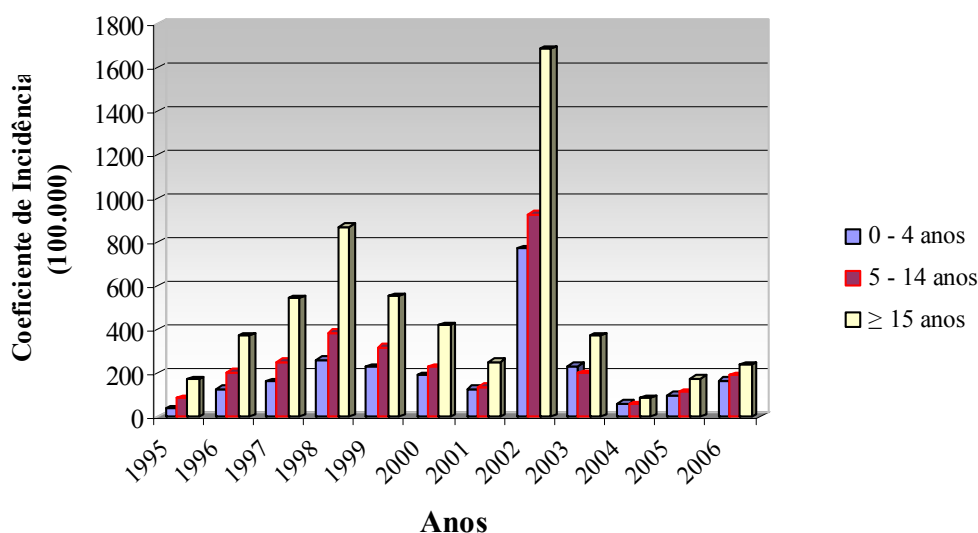


Figura 2 - Distribuição dos casos notificados de dengue, de acordo com o coeficiente de incidência, por três faixas etárias, no estado de Pernambuco, no período de 1995-2006
Nota: Dados obtidos na SES-PE/SINAN/DIEVIS/SVES

A dengue é conhecida tipicamente como uma doença que ocorre mais na infância, especialmente nos países do sudeste da Ásia, onde o maior número de casos de febre hemorrágica da dengue também ocorre na infância e é uma importante causa de hospitalização pediátrica nessa região (HALSTEAD, 1997). No caso particular do estado de Pernambuco, durante as epidemias de dengue, e mesmo nos anos em que a doença apresentou um comportamento endêmico, essa faixa etária foi a menos acometida. Comportamento semelhante pode ser observado em outros estados brasileiros.

Na epidemia do Rio de Janeiro de 2001-2002 a média de idade dos indivíduos infectados, tanto nos casos de dengue clássico como nos de dengue hemorrágico foi de 32,8 anos, sem diferença significativa com relação ao sexo (CASALI et al.,2004).

Da mesma forma dados da epidemia de Belém (Pará) em 1997 mostraram que entre os 17.440 casos confirmados de dengue analisados, 46% eram de pacientes entre 25 e 44 anos de idade (TRAVASSOS DA ROSA et al, 2000). Dados da epidemia de dengue ocorrida no Município de São Luís (Maranhão) no período de 1997 a 2002 mostram que a doença predominou na faixa etária de 15 a 49 anos, com 72,2% dos casos, contra 27,8% nas demais faixas combinadas (GONÇALVES NETO; REBÊLO, 2004).

A distribuição dos casos de dengue ocorridos no Brasil no período de 1998 a 2002, de acordo com a faixa etária, demonstrou que aproximadamente 50% de todos os casos notificados ocorreram em adultos dos 20 aos 40 anos de idade (SIQUEIRA et al, 2005).

Um estudo soro-epidemiológico realizado na cidade de Salvador (Bahia) encontrou uma prevalência de anticorpos para dengue em 68,7% da população. Entretanto, estratificando-se por faixas etárias, a prevalência de anticorpos foi menor no grupo de 0 a 4 anos de idade (39%), alcançando o índice de 76% no grupo de 30 a 39 anos (TEIXEIRA et al, 2002).

Os dados de Pernambuco, assim como os de outros estados brasileiros, demonstram que os adultos, geralmente, são mais atingidos pela dengue do que as crianças, e para que se possa esclarecer se, de fato, os dados encontrados representam a realidade brasileira, mais estudos ainda serão necessários, uma vez que nem sempre o diagnóstico clínico de dengue em criança é preciso. As crianças geralmente são acometidas por doenças virais febris, de etiologias variadas, e por essa razão, é mais difícil diagnosticar corretamente a dengue, além de se observar uma maior ocorrência de infecção assintomática por dengue na infância (NUNES-ARAÚJO; FERREIRA; NISHIOKA, 2003; NOGUEIRA, 1999; HALSTEAD, 1997).

Um levantamento sorológico realizado em escolas do município do Rio de Janeiro em 1986-1987 (FIGUEIREDO, 1989) encontrou uma positividade para dengue em 33% dos escolares, apesar dos pais terem afirmado que seus filhos não tinham tido a doença. Um estudo com crianças Tailandesas de seis meses a 14 anos de idade, atendidas em dois hospitais apresentando febre indiferenciada com menos de 72h de duração e com rubor facial, após realização dos exames houve confirmação de dengue em 35% das crianças atendidas (KALAYANAROOJ et al, 1997).

Os dados que demonstram que as crianças no Brasil estão atualmente sendo mais acometidas pela doença do que no passado (SIQUEIRA et al, 2005), também merecem uma reflexão. À medida que a doença tornou-se mais conhecida e melhor diagnosticada em crianças, os casos suspeitos certamente passaram a ser notificados e investigados.

Por outro lado, também é possível que esteja realmente ocorrendo uma mudança no padrão epidemiológico da dengue no Brasil e as crianças estejam sendo mais atingidas pela doença, já que vários estudos mais recentes vêm apontando nessa direção, corroborando os nossos dados (NOGUEIRA, 2005; SIQUEIRA et al., 2005). Segundo Halstead (1997) a maioria das infecções por dengue em crianças é assintomática ou oligossintomática, enquanto nos adultos a maioria é sintomática. Talvez seja esta uma das razões para a existência de um menor número de casos notificados em crianças em relação aos adultos.

5.2 Distribuição dos casos de dengue de acordo com o sexo

No período de 1995 a 2006, observou-se uma maior ocorrência de casos de dengue entre os pacientes do sexo feminino (Figura 3), tanto com relação aos casos notificados à Secretaria de Saúde (Tabela 4), quanto aos casos suspeitos de dengue que foram analisados laboratorialmente no período de 1995 a 2003 (Tabela 5). Um maior percentual de casos do sexo feminino foi observado de forma consistente em todos os anos estudados, na proporção de 1 caso do sexo masculino para 1,5 caso do sexo feminino.

Levando-se em consideração a distribuição da população por sexo em cada ano analisado, a taxa de incidência de casos, por 100 mil habitantes, também foi maior no sexo feminino, como pode ser visto na Tabela 4. Neste período foram notificados 153.120 casos em indivíduos do sexo masculino (40,6%) e 224.425 do sexo feminino, correspondendo a 59,4% do total conhecido ($n = 377.545$ casos), em 833 casos não havia informação do sexo. o.

A diferença observada na frequência dos casos notificados no estado de Pernambuco no período estudado entre o sexo feminino e o masculino foi estatisticamente significativa, de acordo com a *Odds Ratio* (OR) e o teste Qui-quadrado; com um intervalo de confiança (IC) de 95%, nível de significância de 5%. O sexo feminino foi o mais atingido:

[(OR = 2,15; 95% IC = 2.129 – 2.168; $\chi^2 = 26878.65$ ($p < 0.0001$)).

Com relação aos casos testados no LACEN-PE e analisados neste estudo (Tabela 5), foram 34.678 do sexo masculino e 56.802 do feminino, correspondendo a 38% e 62%, respectivamente (Figura 4).

Tabela 4 - Coeficiente de incidência de casos de dengue (por 100 mil habitantes), notificados no estado de Pernambuco, por sexo, nos anos de 1995 a 2006

Ano	Casos notificados Sexo			Total	Coeficiente de Incidência (por 100.000 hab.)	
	Masculino	Feminino	Ignorado		Masculino	Feminino
1995	4.322	5.650	0	9.982	120,2	147,0
1996	8.544	14.110	68	22.722	239,1	368,8
1997	13.703	18.793	131	32.627	380,0	486,8
1998	21.632	30.791	210	52.633	595,4	791,5
1999	13.794	21.130	175	35.099	376,8	539,0
2000	10.984	16.853	112	27.949	287,0	411,9
2001	6.635	10.425	52	17.112	171,4	251,9
2002	46.938	69.229	78	116.245	1201,4	1657,1
2003	10.826	15.256	1	26.083	274,5	361,7
2004	2.784	3.553	0	6.337	69,9	83,5
2005	5.388	7.601	1	12.990	132,5	174,8
2006	7.570	11.024	1	18.595	184,2	250,9
Total	153.120	224.425	833	378.374		

Nota: Dados obtidos da Fonte: SES-PE / SINAN

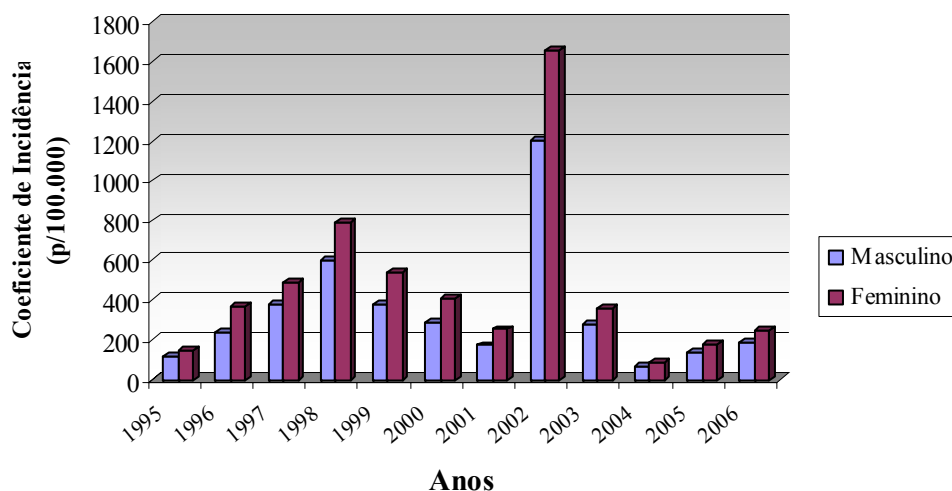


Figura 3 - Dengue no estado de Pernambuco: distribuição anual dos casos notificados (Coeficiente de Incidência por 100 mil habitantes), por sexo, 1995 a 2006.

Nota: Dados obtidos na SES-PE /GGVS; SES/GGVE

Tabela 5 - Distribuição do número e percentual dos casos de dengue, por sexo, no Estado de Pernambuco, analisados no LACEN-PE nos anos de 1995 a 2003.

CASOS ANALISADOS NO LACEN-PE					
ANO	Total	Sexo Masculino		Sexo Feminino	
		Nº casos	%	Nº casos	%
1995	7.598	2.963	39,0	4.635	61,0
1996	14.693	5.583	38,0	9.110	62,0
1997	10.916	4.039	37,0	6.877	63,0
1998	9.642	3.789	39,3	5.853	60,7
1999	7.761	2.855	36,8	4.906	63,2
2000	7.191	2.499	34,7	4.692	65,3
2001	5.520	2.038	36,9	3.482	63,1
2002	19.276	7.518	39,0	11.758	61,0
2003	8.883	3.394	38,2	5.489	61,8
Total	91.480	34.678	37,9	56.802	62,1

Nota: Nota: Dados da SES-PE /GGVS; SES/GGVE e do LACEN-PE

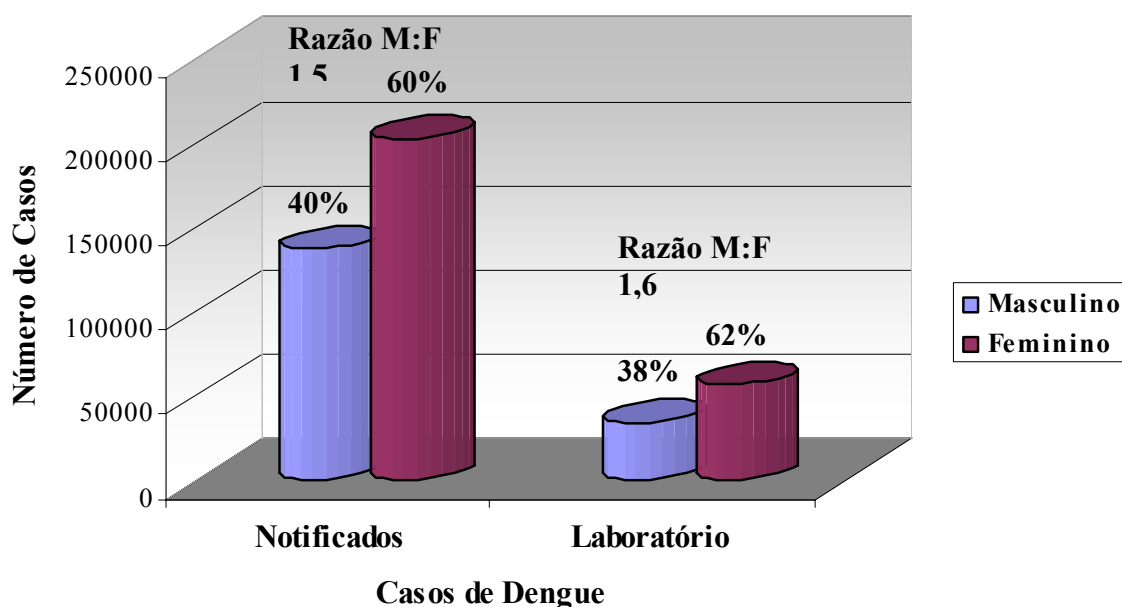


Figura 4 - Dengue no estado de Pernambuco: Razão Masculino :Feminino, Número total e percentual de casos, notificados e analisados no LACEN-PE, por Sexo, no período de 1995 a 2003.

Nota: Dados da SES-PE /GGVS; SES/GGVE e do LACEN-PE

Nos casos de dengue ocorridos no Brasil no período de 1998 a 2002 foi observada uma relação de 1,1 caso no sexo masculino para 1 caso do sexo feminino (SIQUEIRA et al, 2005). Em Fortaleza (Ceará), dados do inquérito soro-epidemiológico realizado após a epidemia de 1994 (VASCONCELOS et al. 1998), com 44% de positividade, também demonstrou que o risco de se infectar pelo vírus dengue independe do sexo e da idade.

Os dados das epidemias de dengue no Município de São Luís (Maranhão), de 1997 a 2002, mostram que não houve diferença significativa no número total de casos entre ambos os sexos (GONÇALVES NETO; REBÊLO, 2004). Entretanto, quando a análise leva em conta cada ano, observa-se que há diferença significativa no ano de 1999, 57% dos casos são do sexo feminino (GONÇALVES NETO; REBÊLO, 2004).

Contudo dados semelhantes aos de Pernambuco foram encontrados em Belém (Pará), em 1977. Entre os 17.440 casos positivos para dengue analisados, 54% eram do sexo feminino e 46% do sexo masculino. Segundo os autores do estudo (TRAVASSOS DA ROSA et al, 2000), o fato da maioria dos casos ter ocorrido no sexo feminino ($p < 0,0001$), sugere que as mulheres estão sujeitas a um maior risco de infecção por dengue devido à alta exposição domiciliar.

Na realidade não existe um padrão definido com relação à predominância da infecção por dengue em uma determinada faixa etária ou sexo, uma vez que a doença é universal, acometendo a todos, independentemente de idade e sexo.

Existem peculiaridades próprias de algumas regiões. Por exemplo, os padrões asiáticos são diferentes dos vistos no Brasil, devido às circunstâncias epidemiológicas próprias da região, onde os quatro sorotipos do vírus circulam há várias décadas. Segundo Halstead (1997), nessa região, os adultos normalmente são mais atingidos, entretanto em determinados surtos os estudos mostram uma elevação do número de casos em mulheres adultas e em crianças na fase pré-escolar.

REFERÊNCIAS

- CASALI, C. G. et al. A epidemia de dengue/dengue hemorrágico no município do Rio de Janeiro, 2001/2002. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 37, n. 4, p. 296-299, 2004.
- FIGUEIREDO, L. T. Inquérito sorológico de Dengue em escolas do Município do Rio de Janeiro, 1986-1987 – Informe Preliminar. **Boletim Nacional de Epidemiologia**, Brasília, n. 9, p. 1-15, 1989.
- GONÇALVES NETO, V. S.; REBÊLO, J. M. M. Aspectos epidemiológicos do dengue no Município de São Luís, Maranhão, Brasil, 1997-2002. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 5, p. 1424-1431, 2004.
- HALSTEAD, S. B. Epidemiology of dengue and dengue hemorrhagic fever. In: GUBLER, D. J. e KUNO, G. (Ed.), **Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever**, New York: CAB International, 1997, p. 23-44.
- KALAYANAROOJ, S. et al. Early Clinical and Laboratory Indicators of acute Dengue illness. **The Journal of Infectious Diseases**, Atlanta, v. 176, p. 313-321, 1997.
- NOGUEIRA, S. A. Dengue. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 75, p. 9-14, 1999.
- NOGUEIRA, S. A. The challenge of diagnosing dengue in children. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 81, p. 191, 2005.
- NUNES-ARAÚJO, F. R.; FERREIRA, M. S.; NISHIOKA, S. D. Dengue fever in Brazilian adults and children: assessment of clinical findings and their validity for diagnosis, **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, Baltimore, v. 97, p. 415-419, 2003.
- SIQUEIRA, J. B. et al. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever, Brazil, 1981-2002. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 11, n. 1, p. 48-53, 2005.
- TEIXEIRA, M. G. et al. Dynamics of dengue virus circulation: a silent epidemic in a complex urban area. **Tropical Medicine and International Health**, Oxford, v. 7, n. 9, p. 757-762, 2002.
- TRAVASSOS DA ROSA, A. P. A. et al. Dengue Epidemic in Belém, Pará, Brazil, 1996-1997. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 6, n. 3, p. 298-301, 2000.
- VASCONCELOS, P. F. C. et al. Epidemia de dengue em Fortaleza, Ceará: inquérito sorológico aleatório. **Revista de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 5, p. 447-454, 1998.

**ASPECTOS CLÍNICOS
DA DENGUE
EM PERNAMBUCO**

6 ASPECTOS CLÍNICOS DA DENGUE EM PERNAMBUCO.

A dengue, doença febril aguda, com duração média de cinco a sete dias, é geralmente acompanhada por cefaléia, dores musculares e articulares, além de uma grande variedade de sinais e sintomas. A infecção pode se manifestar clinicamente sob a forma clássica da doença e na forma hemorrágica (ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE, 1995), bem como nas formas atípicas, como as que envolvem o sistema nervoso central (GEORGE; LUM, 1997; LUM et al, 1996; LAM, 1996; CHIMELLI et al., 1990; NOGUEIRA et al. 2002; LEÃO et al. 2002).

Com o objetivo de se conhecer as principais manifestações clínicas da dengue observadas em Pernambuco, foram analisados os dados clínicos de 48.300 casos confirmados laboratorialmente. Os dados analisados têm como fonte principal o banco de dados de dengue do LACEN-PE. Dados complementares foram obtidos de fichas de investigação epidemiológica de dengue, de boletins epidemiológicos da Secretaria de Saúde do Estado e de planilhas de acompanhamento de casos de dengue hemorrágica da Vigilância Epidemiológica do Estado.

A classificação das formas clínicas da doença em dengue clássica e hemorrágica foi realizada pela Vigilância epidemiológica, de acordo com as normas preconizadas pela Organização Mundial de Saúde (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1987; 1997).

Para a confirmação laboratorial dos casos, considerou-se pelo menos um dos seguintes testes: isolamento de vírus em cultura de células de *Aedes albopictus*, clone C6/36 (IGARASHI, 1978); detecção do RNA viral utilizando a reação em cadeia da polimerase, precedida pela transcrição reversa (RT-PCR) (LANCIOTTI et al., 1992); detecção de anticorpos IgM específicos para dengue (KUNO; GÓMEZ; GUBLER, 1987); demonstração de conversão sorológica em amostras pareadas de soro, coletadas nas fases aguda e convalescença da doença, utilizando o teste de inibição da hemaglutinação (CLARKE; CASALS, 1958) e/ou pela pesquisa de anticorpos IgG específicos para dengue em amostras pareadas de soro, utilizando-se kits comerciais de ensaio imunoenzimático (ELISA).

Considerando-se que a infecção secundária (seqüencial) pelo vírus dengue é um dos fatores de risco para a febre hemorrágica da dengue (HALSTEAD, 1970; 1997), procurou-se caracterizar o tipo de resposta sorológica do paciente nesses casos. Para a caracterização da resposta imune do tipo primária ou secundária foram adotados os critérios da Organização Mundial de Saúde, que tem como parâmetros os resultados obtidos no teste de inibição da

hemaglutinação (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1987; 1997) e que foram detalhados no capítulo 1. Critérios baseados na cinética dos anticorpos IgM e IgG (soroconversão) também foram utilizados para caracterizar o tipo de resposta sorológica (CORDEIRO et al., 2007a).

Tanto na infecção primária, quanto na infecção secundária, é possível se isolar vírus, porém o diagnóstico através da detecção do RNA viral por RT-PCR é mais sensível e mais rápido (CORDEIRO et al., 2007a; DE SIMONE et al, 2004).

Anticorpos IgM específicos para os vírus dengue também são formados na infecção secundária. Contudo, esta imunoglobulina poderá não ser detectada em alguns casos de infecção seqüencial, em virtude de sua presença em nível inferior ao encontrado na infecção primária (VORNDAM; KUNO, 1997). Dependendo do número de dias de evolução da doença os resultados da sorologia podem variar e deverão ser interpretados com cuidado (CORDEIRO et al. 2007a).

6.1 Principais manifestações clínicas observadas nos casos confirmados por laboratório.

De um total de 91.480 casos suspeitos de dengue, analisados no LACEN-PE entre 1995 e 2003, 48.300 casos (52,8%) foram confirmados laboratorialmente. As principais manifestações clínicas observadas na maioria dos casos confirmados foram compatíveis com dengue clássico (Figura 1). Contudo, nos casos com formas clínicas graves e na febre hemorrágica da dengue, vários outros sinais tais como, hepatomegalia, ascite, derrame pleural e icterícia, além dos sintomas mencionados na Tabela 1, também foram referidos.

Uma vez que a dengue é uma doença febril aguda, chamou a atenção que pacientes referiam ausência de febre, mesmo casos confirmados laboratorialmente. A média de pacientes que reportou febre foi de 91,4%. Outros sintomas como a cefaléia (84,1%), a prostração e as dores musculares levaram os pacientes a procurarem atendimento médico.

Na figura 1 estão representados os percentuais das principais manifestações clínicas referidas pelos pacientes.

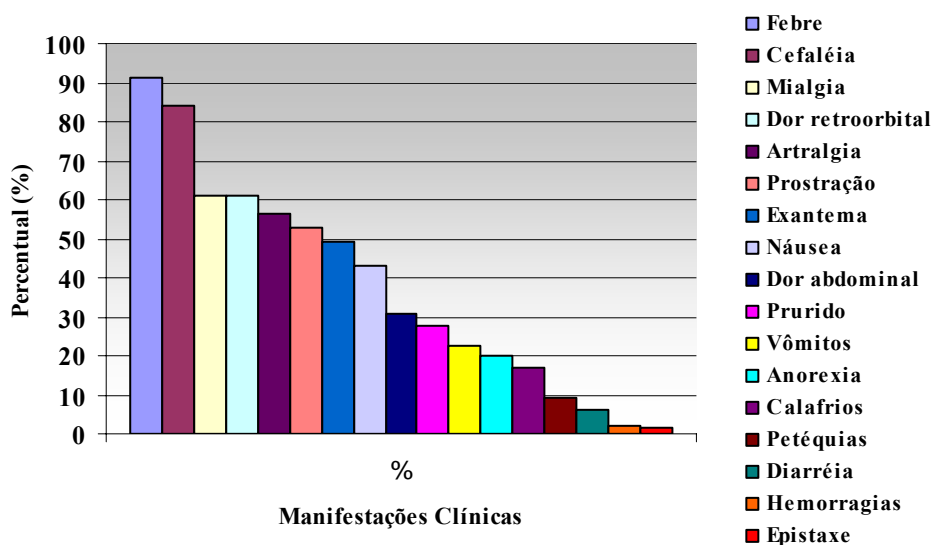


Figura 1 – Principais manifestações clínicas referidas pelos pacientes com dengue, analisados no LACEN-PE de 1995 a 2003, em percentual.

Fonte: LABORATÓRIO CENTRAL DE PERNAMBUCO, 2006

Com relação à presença de exantema, a média da série histórica foi de 49,2% e o maior percentual de exantema foi observado nos anos de 1995 e 1996 (56% e 62%), respectivamente, quando circularam os sorotipos DENV-1 e DENV-2, enquanto o menor percentual (41%) foi visto na epidemia de 2002, causada pelo DENV-3. O prurido intenso foi uma das queixas importantes relatadas pelos pacientes. Nogueira et al. (1995) encontraram elevado percentual de exantema (73,8%) e de prurido (50,5%) na epidemia ocorrida no estado da Bahia em 1995, causada pelo DENV-2.

Outro dado que chamou a atenção, por constituir um importante sinal de alerta nos casos de dengue hemorrágica, foi a dor abdominal, tendo sido referida por 31% das pessoas com dengue. Os percentuais encontrados anualmente estão apresentados na Tabela 1.

Um aspecto importante a ressaltar foi a presença de plaquetopenia e manifestações hemorrágicas leves em pacientes com dengue clássica, principalmente durante a epidemia de 2002, causada pelo DENV-3. A suspeita clínica inicial de muitos desses casos era dengue hemorrágica, porém posteriormente, foram confirmados como dengue clássica. Achados laboratoriais de outros estudos realizados (GEORGE; LUM, 1997) confirmaram a ocorrência de plaquetopenia em 35 a 50% dos pacientes com dengue clássica.

Outro dado relevante observado em alguns pacientes estudados neste período foi o aumento das aminotransferases, inclusive em pacientes com dengue clássica. Uma evidência clínica do envolvimento do fígado na dengue é a presença de hepatomegalia e aumento do

nível das enzimas hepáticas. Vários estudos relatam uma elevação no nível das aminotransferases (transaminases) na infecção por dengue, principalmente na febre hemorrágica da dengue. Segundo Kuo et al. (1992), essas enzimas podem estar elevadas, em 30 a 90% dos casos de dengue clássica e também nos de dengue hemorrágica, sendo que os níveis da aspartato aminotransferase (AST) são mais elevados do que os da alanina aminotransferase (ALT). Não se sabe ao certo porque isso acontece, especula-se que seja devido ao excesso de liberação da AST pelos miócitos, durante a infecção pelo vírus dengue, porém ainda não foi comprovado (KUO et al, 1992)..

Um outro estudo (KALAYANAROOJ et al., 1997) observou um nível de AST no plasma mais elevado em crianças que desenvolveram dengue hemorrágica do que em crianças com dengue clássica. Os níveis de AST e ALT também eram comparativamente mais altos em crianças com dengue, do que nas crianças com outra doença febril.

Estudo realizado no Rio de Janeiro (SOUZA et al, 2004) com 1.585 pacientes com dengue, dos quais 65% eram de infecção primária, foram encontradas alterações nos níveis de AST e ALT em 63,4% dos pacientes, tanto em caso de infecção primária como em caso de infecção secundária, sendo que 3.8% desses pacientes apresentavam níveis dez vezes maiores do que os valores normais. Alterações hepáticas foram analisadas em 41 casos de dengue hemorrágica, ocorridos em Campo Grande (MS), sendo observado 80,5% de alteração na AST e 61% na ALT (UEHARA et al, 2006).

Durante as epidemias em Pernambuco foram observados casos de dengue com manifestações neurológicas, as quais serão apresentadas adiante, assim como a descrição dos casos de febre hemorrágica da dengue.

Sabin (1952) descreveu a dengue como uma doença aguda caracterizada por febre, cefaléia, dor nos ossos, dor muscular e exantema. Entretanto, estudos conduzidos em 1962 em Bangkok (HALSTEAD et al, 1969), com crianças que foram hospitalizadas, os autores observaram a existência de apresentações atípicas da dengue: 18% delas tinham recebido o diagnóstico de infecção respiratória do trato superior, 5% de influenza e 3% bronquite que são sinais e sintomas não usuais na dengue, sendo, porém freqüente em outras doenças febris, o que dificulta sobremaneira o diagnóstico clínico da doença, principalmente em crianças.

Geralmente a infecção pelos vírus dengue nas crianças é mais branda do que nos adultos, sendo também assintomática, em maior freqüência, nas crianças (NOGUEIRA, 2005). Crianças na fase pré-escolar usualmente apresentam uma doença indiferenciada, sintomas respiratórios acompanhados de cefaléia, distúrbios gastrintestinal e freqüentemente sem erupção cutânea (HALSTEAD, 1997).

Por outro lado, alguns sintomas da dengue podem ser confundidos com outras viroses comuns da infância e o caso pode deixar de ser notificado. Possivelmente, estas são algumas das razões pelas quais os casos de infecção por dengue em adultos são notificados em maior número durante as epidemias, não apenas em Pernambuco, mas também em outros estados brasileiros.

Amostras de sangue de 1.161 crianças residentes em Pernambuco, coletadas no período de 2001 a 2004, cujo diagnóstico clínico era de rubéola e/ou sarampo e que foram analisadas laboratorialmente para doenças exantemáticas como rubéola, sarampo, eritema infeccioso (Parvovírus B19) e dengue, tiveram o diagnóstico confirmado para uma dessas doenças em apenas 276 casos (23,8%). Das 276 amostras positivas, a maioria (71%) foi confirmada como dengue; 13,8% como eritema infeccioso; 11,6% como rubéola e 3,6% como sarampo. Nesse estudo observou-se também que 92% dos casos positivos para parvovírus B19 e 91% dos positivos para dengue tinham como hipótese diagnóstica a rubéola (OLIVEIRA, 2006). Esses resultados eram previsíveis uma vez que as três viroses têm em comum a febre, exantema e artralgia, evidenciando-se a dificuldade de se diagnosticar clinicamente a dengue em crianças.

Em estudo retrospectivo realizado no estado do Ceará (CUNHA et al, 1998), houve confirmação sorológica de infecção por dengue em 24,4% dos casos que foram notificados como rubéola em 1994, em amostras de sangue que tinham sido coletadas antes da confirmação do surto de dengue naquele estado. Da mesma maneira que o sarampo e a rubéola são confundidos com outras doenças exantemáticas, o inverso também ocorre. Durante epidemia de dengue em Manaus, Figueiredo et al. (2004) confirmaram casos positivos para sarampo, rubéola e parvovírus B19, ao testar amostras que haviam sido negativas para dengue.

Um estudo prospectivo com o objetivo de identificar os sintomas preditivos para dengue (além de febre) realizado na Tailândia, de 1998 a 2000 (ENDY et al, 2002), com cerca de 2000 crianças, observou-se que o sintoma mais freqüente nos casos de dengue foi cefaléia (64%), seguido por tosse, coriza, letargia, anorexia, dor muscular, vômitos e náusea. Observou-se que a tosse, coriza e diarréia foram mais freqüentes nas crianças com outras doenças febris do que na dengue. A cefaléia era mais freqüente nas crianças com dengue.

Entretanto, em outras pesquisas os sintomas clássicos de dengue (cefaléia, artralgia, mialgia) foram encontrados com similar freqüência, tanto em crianças com dengue como em crianças com outras doenças febris (PHUONG et al., 2004). No estudo conduzido na Tailândia (ENDY et al, 2002), os autores encontraram dificuldade em diferenciar

cl clinicamente a dengue de outras doenças febris agudas da infância. Esse mesmo estudo encontrou uma incidência de dengue de 5,8%, onde 3,1% dos casos correspondiam à infecção assintomática e apenas 2,7% à infecção sintomática (ENDY et al, 2002).

No continente americano também têm sido relatados casos de infecção assintomática por dengue. Na epidemia ocorrida em Santiago de Cuba (Cuba) em 1997, dos 2.946 casos confirmados laboratorialmente, 13,9% representavam infecção subclínica ou assintomática pelos vírus dengue (KOURY et al, 1998).

Uma das hipóteses a ser considerada para o baixo percentual de casos de dengue notificados em crianças em Pernambuco, bem como em todo o país, seria a ocorrência de infecção assintomática em crianças, ou clinicamente diagnosticada como outra doença viral.

Dados de inquéritos epidemiológicos sobre prevalência de anticorpos para dengue levam a crer que o mesmo aconteça no Brasil. Estudos conduzidos durante a primeira epidemia de DENV-1 no Rio de Janeiro em 1986, mostraram que cerca de 40% das infecções tinham sido assintomáticas, corroborando dados obtidos em estudos de outros países (DIETZ et al., 1990). Cunha et al. (1995) encontraram entre escolares de uma região endêmica do estado do Rio de Janeiro, um percentual de 56% de infecção assintomática.

Em um estudo de soro-prevalência para dengue realizado na cidade de Salvador (Bahia) foi encontrado um percentual de positividade de 68,7%, em um período onde não houve notificação de casos, sugerindo a ocorrência de casos assintomáticos. Em menores de quatro anos foi encontrada uma prevalência de 39% (TEIXEIRA et al., 2002).

Segundo dados do inquérito soro-epidemiológico realizado em Fortaleza, após a epidemia de dengue em 1994, a prevalência foi de 44%, correspondendo à ocorrência de 660.000 casos quando apenas 32.000 casos tinham sido notificados. Dos casos positivos identificados no inquérito (588/1341), 41% correspondiam à infecção assintomática (VASCONCELOS et al. 1998).

Inquérito soro-epidemiológico realizado no período de agosto de 2005 a setembro de 2006, em três áreas da cidade de Recife, compreendendo os bairros de Engenho do Meio, Brasília Teimosa e Casa Forte/Parnamirim, num total de 2.946 amostras de soro de voluntários, entre 5 e 64 anos de idade, encontrou uma prevalência para dengue de 88,6% em Engenho do Meio, 90,6% em Brasília Teimosa e 75,2% em Casa Forte/Parnamirim, uma prevalência de 85,4% nas três áreas. Curiosamente, 65,4% dos voluntários com anticorpos para dengue afirmaram nunca ter tido a doença. Quanto aos grupos etários, as faixas de 5 a 9 anos e de 10 a 14 anos, apresentaram os maiores percentuais de infecção subclínica, 91,5% e 81,8%, respectivamente (LaViTE/CPqAM - Dados ainda não publicados).

Tabela 1 – Principais manifestações clínicas apresentadas pelos pacientes com dengue no estado de Pernambuco analisados no LACEN-PE, em percentuais (%), nos anos de 1995 a 2003.

Ano	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	
Nº de Casos (CC/T)	2.260 (7.598)	7.817 (14.693)	7.840 (10.916)	4.824 (9.642)	3.972 (7.761)	3.541 (7.191)	3.698 (5.520)	9.790 (19.276)	4.558 (8.883)	48.300 (91.480)
Sinais e Sintomas (%)										Média
Febre	83	86	99	92	91	93	92	94	93	91,4
Cefaléia	79	84	94	85	82	82	82	82	87	84,1
Dor retroorbital	59	32	72	67	62	65	56	65	70	61,0
Mialgia	65	64	72	61	52	57	55	58	65	61,0
Artralgia	59	65	68	58	60	53	45	48	52	56,4
Prostração	56	53	47	52	48	48	49	60	62	52,8
Exantema	56	62	47	48	43	48	52	41	46	49,2
Náusea	27	27	49	47	41	43	45	56	52	43,0
Dor abdominal	11	24	30	37	33	42	45	24	32	30,9
Prurido	53	52	50	22	16	7	10	15	23	27,6
Vômitos	20	21	30	37	19	14	16	22	26	22,8
Anorexia	40	33	35	16	4	2	10	18	23	20,1
Calafrio	36	28	29	13	8	3	10	12	14	17,0
Petéquias	3	4	7	8	11	16	13	8	11	9,0
Diarréia	15	12	5	2	1	1	2	11	8	6,3
Hemorragias diversas	2	1	2	2	2	2	2	3	3	2,1
Epistaxe	0	1	1	1	2	2	2	2	2	1,4

Fonte: LABORATÓRIO CENTRAL DE PERNAMBUCO, 2006

Legenda: CC = Caso confirmado; T = Total.

6.2 Febre hemorrágica da dengue em Pernambuco, 1995-2006.

No período de 1995 a 2006 foram notificados à Secretaria de Saúde do Estado 378.374 casos, dos quais 612 casos foram confirmados como febre hemorrágica da dengue, de acordo com os critérios da OMS (Tabela 2).

Da maioria dos indivíduos com suspeita de dengue hemorrágica, cujas amostras foram enviadas ao LACEN-PE, coletaram-se duas amostras de sangue, uma na fase aguda e outra na convalescença, permitindo a confirmação laboratorial e também a caracterização do tipo de resposta imune de cada caso, se primária ou secundária (infecção seqüencial).

Em 1995, foram notificados 9.982 casos, com um coeficiente de incidência (CI) de 134 casos/100.000 habitantes e apesar da introdução do DENV-2, não houve ocorrência de casos de dengue hemorrágica em Pernambuco; os primeiros casos só foram detectados cerca de um ano e meio após o início da epidemia (PERNAMBUCO, 1996; MORAIS *et al.*, 1996). É possível que não tenha ocorrido casos de dengue hemorrágica em 1995, em virtude do intervalo de sete anos (1988-1994) sem ocorrência de casos autóctones de dengue, diferentemente de outros estados, como o Rio de Janeiro, Ceará e Alagoas, que vinham apresentando epidemias sucessivas desde 1986 (NOGUEIRA *et al.*, 1993; VASCONCELOS *et al.*, 1995).

Em 1996, foram notificados 22.722 casos (CI = 307/100.000) e neste ano ocorreram os primeiros casos de FHD, tendo sido confirmados seis casos no estado, sendo dois no município de Jaboatão dos Guararapes, ambos do sexo masculino (MASC), com 29 e 33 anos e um caso em cada um dos seguintes municípios: Recife, do sexo Feminino (FEM) e 30 anos, Aliança (FEM, 76 anos), Escada (FEM, 1 ano) e São Caetano (MASC, 69 anos). Os casos ocorreram de maio a outubro. Todos os casos foram confirmados laboratorialmente e apresentaram uma resposta sorológica para dengue característica de infecção secundária, com exceção do caso da criança de um ano de idade que foi infecção primária por DENV-2. Neste ano, 66% dos vírus isolados foram do sorotipo 2.

O primeiro óbito por dengue hemorrágica no estado foi de um indivíduo do sexo masculino, com 69 anos de idade, residente no município de São Caetano, que apresentou icterícia importante, sendo os testes para hepatite e leptopirose negativos. O paciente apresentou insuficiência hepática grave e o óbito ocorreu no oitavo dia após o início dos sintomas. Na evolução, o paciente apresentou dor abdominal, petéquias, equimoses, icterícia, hepatomegalia, hipotensão/choque, número de plaquetas de 72.000/mm³ e um hematócrito de

40%. Exames histopatológicos revelaram necrose hepática multifocal com hemorragia, nefrite intersticial com necrose tubular aguda; miocardite aguda focal inespecífica; pneumonia intersticial focal sem elementos de especificidade. Laudo anátomo-patológico referia processo séptico de natureza viral e necrose hepática multifocal com hemorragia (MORAIS et al, 1996). Os testes sorológicos para dengue (IgM e IgG) foram positivos. Não houve isolamento de vírus, entretanto, foi observada uma conversão sorológica para DENV-2 no teste de inibição da hemaglutinação, apresentando uma resposta sorológica do tipo secundária.

No ano de 1997, foram notificados 32.627 casos (CI = 437/100.000), tendo sido confirmados 13 dos 55 casos notificados como FHD, que ocorreram nos meses de fevereiro a setembro, em cinco municípios: Recife, com nove casos e um caso em cada um dos seguintes municípios: Jaboatão, Palmares, Itaquitinga e Macaparana, sem ocorrência de óbitos. Dois desses casos ocorreram entre os quatro pacientes que contraíram a infecção pela primeira vez, inclusive com isolamento de DENV-1, nos outros cinco foi confirmada infecção do tipo secundária e nos demais não foi possível identificar o tipo de resposta. Havia circulação dos sorotipos 1 e 2, contudo 94% dos isolamentos foram de DENV-1. Na Tabela 3 são apresentados a idade e sexo dos casos confirmados, por ano de ocorrência.

Em 1998, foram notificados 52.633 casos (CI = 699/100.000), dos quais 131 casos eram suspeitos de dengue hemorrágica, porém apenas 47 foram confirmados de acordo com os critérios da OMS e ocorreram de fevereiro a outubro, em nove municípios: Recife com 37 casos, com ocorrência de um óbito (do sexo feminino, 55 anos, infecção secundária), Vitória de Santo Antão (2 casos), Jaboatão dos Guararapes (2 casos) e um caso nos seguintes municípios: Afogados da Ingazeira, Camaragibe, Caruaru, Olinda, Palmares e Paulista. Quanto ao tipo de resposta imune foram identificados 12 indivíduos com infecção primária e 25 com infecção secundária. Nesse ano foram isolados DENV-1 (62%) e DENV-2 (38%).

Em 1999, notificaram-se 35.099 casos (CI = 463/100.000), sendo 28 os casos de FHD confirmados (de 67 notificados), ocorridos entre fevereiro e dezembro, em cinco municípios do estado. Em Recife foram 24 casos, com ocorrência de um óbito e os demais casos foram registrados em Jaboatão, Caruaru, Lajedo e Tamandaré. Convém ressaltar que 50% (14 casos) desses indivíduos tinham contraído dengue pela primeira vez (infecção primária), em outros dez casos a resposta sorológica era de uma infecção do tipo secundária. Com relação ao sexo, chama a atenção o fato de que apenas cinco casos foram do sexo masculino e 23 (82%) do sexo feminino. O óbito foi de uma paciente do sexo feminino com 22 anos de idade, com infecção primária causada por DENV-1. Há registro de um óbito causado por DENV-1 no Rio

de Janeiro durante a epidemia de 1986 (NOGUEIRA et al. 1988). Neste ano em Pernambuco os vírus isolados foram DENV-1 (78%) e DENV-2 (22%).

No ano 2000, foram notificados 27.949 casos (CI = 353/100.000 habitantes) e confirmados 38 casos de FHD, em 10 municípios, porém 65,8% dos casos (25 casos) ocorreram em Recife. Os demais casos foram registrados em Cabo de Santo Agostinho (2 casos), Jaboatão dos Guararapes (2 casos), Olinda (2 casos), Ouricuri (2 casos), e em Floresta, Paulista, Pesqueira, Petrolina e São Lourenço, um caso em cada município.

Com relação ao tipo de resposta em 27 casos foram identificadas cinco infecções primárias (11%) e 23 infecções secundárias (89%), diferentemente do que aconteceu no ano anterior, quando 50% dos casos de FHD foram de infecção primária. Neste ano não foi registrado óbito por dengue hemorrágica, apesar do grande número de casos em indivíduos com infecção secundária. Apesar da circulação dos dois sorotipos, predominou o DENV-1, com 72% dos isolados.

Em 2001, houve uma redução do número de casos de dengue em relação aos anos anteriores, sendo notificados apenas 17.112 casos (CI = 214/100.000), porém houve confirmação de 49 casos de FHD, ocorridos de janeiro a julho, em quatro municípios. Em Recife, foram 15 casos, com um óbito (indivíduo do sexo masculino, 26 anos, infecção secundária) além de Olinda, Petrolina e Primavera, cada um com um caso. O DENV-1 foi o sorotipo predominante (76%) em 2001.

Em 2002, houve a introdução do DENV-3 no estado, ocorrendo uma epidemia de grande magnitude, com 116.245 casos notificados (CI = 1.438/100.000), como era de se esperar, após a introdução de um novo sorotipo na população. Neste ano, um grande número de casos de dengue hemorrágica foi notificado. Em relação ao total de casos de dengue, a incidência de casos de FHD em 2002 foi de 0,3%, enquanto a dos anos anteriores foi em média 0,1% (Tabela 2). Nessa epidemia, 43 municípios registraram a ocorrência de casos de dengue hemorrágica. Apenas 340 casos foram confirmados, pelos critérios da OMS, dos 643 casos notificados como suspeito de dengue hemorrágica.

Os municípios com maior número de casos foram: Recife, com 216 casos (13 óbitos), Jaboatão dos Guararapes, com 34 casos, Paulista (17 casos), Olinda (16 casos), Cabo de Santo Agostinho (11 casos e dois óbitos), Abreu e Lima, Camaragibe e Moreno com três casos cada, Araçoiaba, Caruaru, Chã de Alegria, Condado, Igarassu e Vertentes com dois casos cada, e outros municípios com um caso cada. No total, ocorreram 20 óbitos, todos em municípios da I Gerência Regional de Saúde: Recife (13 óbitos), Olinda (três), Cabo de Santo Agostinho (dois) e dois em Jaboatão dos Guararapes.

Neste ano verificou-se um maior número de casos em menores de 15 anos (69 casos), correspondendo a 20,3% dos casos; crianças até os nove anos de idade (39 casos) representaram 11,5% dos casos. Contudo, o maior percentual de casos (72,4%) ficou na faixa de 15 aos 59 anos (n = 246).

Com relação ao tipo de resposta sorológica, 50 casos apresentaram uma resposta característica de infecção primária e 52 de infecção secundária, nos demais casos não foi possível determinar o tipo de resposta sorológica. Em 2002 no total foram 219 casos (64,4%) do sexo feminino e 121 casos (35,6%) do sexo masculino. Apesar do percentual de casos em indivíduos do sexo feminino ser bem superior ao masculino, essa diferença não foi estatisticamente significativa, OR= 1,23; (IC 0,98 – 1,53); $\chi^2 = 3,29$; (p = 0,070).

No ano de 2003, o DENV-3 predominou, correspondendo a 98% dos vírus isolados. O número de casos caiu drasticamente em relação ao ano anterior, sendo notificados apenas 26.083 casos (CI = 320/100.000). Foram confirmados 21 casos de FHD e três óbitos, dois em Araripina e um em Recife. Os municípios que registraram casos foram: Recife (cinco casos), Araripina (dois casos), Caruaru (dois casos), Primavera, Jaboatão dos Guararapes, Olinda, Riacho das Almas, Arcoverde, Brejo da Madre de Deus, Capoeiras, Canhotinho, Garanhuns, Moreilândia, Petrolina e Santa Cruz da Baixa Verde. Os casos ocorreram nos meses de fevereiro a agosto. Quanto ao tipo de resposta sorológica, dez casos foram classificados como infecção primária e nove casos como infecção secundária, nos outros dois não foi possível identificar o tipo de resposta.

Em 2004, foram notificados poucos casos de dengue no estado (6.337 casos), com uma incidência de 77 casos por 100 mil habitantes. Entretanto, foram confirmados 16 casos de dengue hemorrágica, correspondendo a 0,25% em relação ao número total de infecções por dengue; não houve óbito. O DENV-3 foi o único sorotipo isolado. Os municípios com casos de FHD confirmados foram: Recife, Moreno, Paulista, Brejo da Madre de Deus, Cabo de Santo Agostinho, Ipojuca, Jaboatão dos Guararapes e Surubim. Neste ano 18 casos com manifestações hemorrágicas que não preencheram os critérios para FHD foram classificados como dengue clássica complicada.

No ano de 2005, o número de casos de dengue sofreu um aumento em relação a 2004 (CI = 154/100.000), tendo sido confirmado 21 casos de FHD, com dois óbitos ocorridos no município de Petrolina e uma taxa de letalidade de 9,5% (Tabela 2). A cidade de Recife apresentou 11 casos confirmados, Olinda notificou cinco casos, porém apenas três haviam sido confirmados. Os municípios de Paulista (dois casos), Camaragibe, Cabo de Santo Agostinho e Surubim, notificaram um caso de dengue hemorrágica em cada um deles.

Em 2006, foram notificados 18.595 casos de dengue em todo o estado e confirmados 33 casos de dengue hemorrágica, de acordo com os últimos dados do SINAN, registrados pelos municípios de: Recife (14 casos), Jaboatão dos Guararapes (quatro casos), Petrolina (8 casos notificados, quatro confirmados), São Lourenço da Mata (quatro casos), Olinda (cinco casos notificados, dois confirmados), Paulista (três notificados e um confirmado), Igarassu, Moreno, Catende, Palmares e Bom Conselho, um caso em cada município.

Dois óbitos ocorreram na cidade de Recife (42 anos, feminino; 32 anos, masculino) e outro óbito ocorreu em Olinda. Há uma divergência com relação ao número de óbitos porque a investigação epidemiológica de alguns casos notificados ainda não havia sido concluída.

O número de casos notificados de dengue aumentou em relação ao ano anterior permanecendo, porém em um nível relativamente baixo. Contudo houve um aumento na ocorrência de casos de FHD e na taxa de letalidade (12%). Outro fato chama a atenção nesse ano foi a ocorrência de dez casos de FHD (30,3%) em menores de 15 anos de idade.

Tabela 2 - Distribuição anual dos casos de FHD ocorridos no estado de Pernambuco, segundo gênero, número de óbitos, taxa de letalidade, percentual de casos de FHD em relação ao número de casos notificados e razão entre casos de FHD e dengue clássica no período de 1995-2006.

Ano	Casos Notificados	Nº Casos de FHD				Taxa Letalidade (%)	Casos FHD %	Razão FHD:DC
		Total	Sexo		Óbitos			
			MASC	FEM				
1995	9.982	-	-	-	-	-	-	
1996	22.722	6	3	3	1	16,7	0,03	1:3.787
1997	32.627	13	5	8	-	-	0,04	1:2.510
1998	52.633	47	21	26	1	2,1	0,09	1:1.120
1999	35.099	28	5	23	1	3,6	0,08	1:1.253
2000	27.949	38	17	21	-	-	0,14	1:735
2001	17.112	49	23	26	1	2,0	0,29	1:349
2002	116.245	340	121	219	20	5,9	0,29	1:342
2003	26.083	21	10	11	3	14,3	0,08	1:1.242
2004	6.337	16	7	9	-	-	0,25	1:396
2005	12.990	21	12	9	2	9,5	0,16	1:618
2006	18.595	33	12	21	4	12,1	0,18	1:563
Total	378.374	612	236	376	33	5,4	0,16	1:618

Nota: Dados obtidos na SES-PE/GGVS; LACEN-PE

Legenda: MASC = masculino; FEM = feminino; FHD = febre hemorrágica da dengue; DC = dengue clássica.

Tabela 3 - Distribuição anual dos casos de FHD e percentual (%) por faixa etária ocorridos no estado de Pernambuco no período de 1995-2006.

Idade (Anos)	ANO											T	%
	199	199	199	199	200	200	200	200	200	200	2006		
	6	7	8	9	0	1	2	3	4	5			
< 1	1	-	-	-	-	1	3	-	-	-	-	5	0,8
1 – 4	-	-	-	-	1	2	12	1	1	1	1	19	3,1
5 -- 9	-	-	1	-	2	2	24	1	2	1	4	37	6,0
10 – 14	-	1	1	1	2	5	30	1	1	4	5	51	8,3
15 – 19	-	1	-	2	3	4	38	4	4	2	4	62	10,1
20 – 29	1	1	9	9	5	10	73	6	1	4	9	128	20,9
30 – 39	2	3	5	7	8	7	59	2	5	4	5	107	17,5
40 – 49	-	1	10	3	7	9	41	2	1	3	4	81	13,2
50 – 59	-	3	11	4	7	4	35	1	-	1	-	66	10,8
60 – 69	1	1	7	1	3	1	12	2	1	-	1	30	4,9
70 – 79	1	2	2	1	-	4	9	1	-	1	-	21	3,4
≥ 80	-	-	1	-	-	0	4	-	-	-	-	5	0,8
Total	6	13	47	28	38	49	340	21	16	21	33	612	

Legenda: T = Número total de casos.

Fonte: SES-PE/SVS; LACEN-PE

Com relação à idade dos indivíduos que tiveram dengue hemorrágica em Pernambuco, no período de 1996 a 2006, a maior frequência de casos foi registrada entre os maiores de 15 anos (81,7%), principalmente na faixa etária de 20 a 49 anos (Tabela 3). Os casos de dengue hemorrágica em menores de 15 anos representaram apenas 18,3% (n = 112) do total no período. A idade média dos indivíduos com dengue hemorrágica foi de 47 anos. A idade mediana dos casos foi de 33 anos e a idade modal 23 anos.

Quanto ao sexo, dos 612 casos de dengue hemorrágica confirmados no período de 1996 a 2006, 236 casos (38,6%) eram do sexo masculino e 376 casos (61,4%) pertenciam ao sexo feminino; representando a razão de 1,6 caso feminino para 1 caso masculino. Entretanto, apesar da maior proporção de casos terem ocorrido em indivíduos do sexo feminino, estatisticamente essa diferença não foi significativa: [OR = 1,09 (IC 0,92 – 1,28); $\chi^2 = 1,01$ (p = 0,315)].

Como discutido anteriormente, nos países asiáticos a febre hemorrágica da dengue e a síndrome de choque da dengue acometem preferencialmente, crianças e adolescentes menores de 15 anos de idade (WICHMANN et al, 2004) diferentemente do que se observou no Brasil.

Dados da epidemia de 1994, no Ceará, mostram que os casos de dengue hemorrágica ocorreram em pacientes dos 13 aos 93 anos de idade, com uma média de idade de 42 anos e

com relação ao sexo, 42% eram do sexo masculino e 58% do sexo feminino (VASCONCELOS et al, 1995).

Um estudo prospectivo, com 56 casos de dengue hemorrágica ocorridos no estado do Rio de Janeiro, entre junho de 1990 e junho de 1991, realizado por Zagne et al. (1994) constatou que a idade dos indivíduos variou de 8 a 79 anos (a idade modal dos grupos variou de 31 a 45 anos) e quanto ao sexo, 57% eram do sexo masculino e 43% do sexo feminino. Entre os 56 casos, havia 40 indivíduos brancos, 12 negros e quatro de outras raças (ZAGNE et al., 1994).

Dados consolidados do Brasil (SIQUEIRA et al, 2005), demonstram que a média de idade dos casos de FHD ocorridos de 1998 a 2002, foi de 33 anos de idade. Entretanto, nos últimos anos o padrão de ocorrência dos casos de dengue hemorrágica com relação à idade da população atingida no país, está mudando gradualmente. Dados do estado do Amazonas mostram que 30,9% (17/55) e 28,8% (15/52) dos casos de dengue hemorrágica nos anos de 2001 e 2003, respectivamente, ocorreram na faixa etária de menores de 15 anos de idade (SIQUEIRA et al, 2005).

Casos de FHD em menores de 15 anos de idade foram confirmados em Pernambuco, principalmente a partir do ano de 2001 (20,4% dos casos); em 2002 ocorreram 69 casos (20,3%) e em 2006 foram 10 casos (30,3%) (Tabela 3). Durante a epidemia de 2002, convém ressaltar a ocorrência de 15 casos em crianças menores de cinco anos (4,4%), dos quais três foram em crianças menores de um ano de idade. Não foi possível identificar quais os fatores envolvidos nos casos de dengue hemorrágica, em menores de um ano de idade.

O relato de dois casos de FHD (grau II) em lactentes (de seis e cinco meses de idade), residentes em Manaus (Amazonas), com síndrome febril exantemática aguda, extravasamento capilar e manifestações hemorrágicas de pequena magnitude, confirmaram se tratar de infecções secundárias devido ao fenômeno da imunoamplificação dependente de anticorpos, pela presença de anticorpos maternos para dengue nos lactentes (MOURÃO et al., 2004).

No Vietnã, casos de dengue hemorrágica em crianças menores de um ano de idade foram estudados com o objetivo de investigar a associação entre sexo, estado nutricional, imunidade para algum sorotipo e a gravidade da doença (HUNG et al., 2005). O estado nutricional da criança é um fator importante na doença, pois é sabido que a desnutrição suprime a resposta imune celular. Entretanto este estudo não constatou qualquer tipo de associação significativa entre sexo, estado nutricional e a gravidade da FHD/SCD em 272 crianças com infecção primária por dengue. A produção de citocinas (IFN- γ , TNF- α e IL-6) e anticorpos para o vírus dengue foram semelhantes em todas as crianças, tanto nas crianças que

apresentavam um bom estado nutricional como naquelas com algum nível de desnutrição (HUNG et al. 2005).

6.2.1 Letalidade

A taxa de letalidade esperada nos casos de FHD é inferior a 1% (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, 1997). Em Pernambuco, no período de 1996 a 2006, ocorreram 33 óbitos (33/612 casos), uma taxa de letalidade média de 5,4%, considerada elevada para os padrões internacionais. Em alguns anos as taxas de letalidade foram bem superiores à média, sendo observados percentuais de 16,7%, 14,3%, e 12,1% nos anos de 1996, 2003 e 2006, respectivamente (Tabela 2).

Em 1991, em Niterói, foram confirmados 56 casos de FHD, com três óbitos uma letalidade de 5% (FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE, 1996). No Ceará em 1994, registrou-se a maior taxa de letalidade por FHD das Américas (48%), com 12 óbitos entre 26 casos notificados. Esta taxa elevada pode ter sido decorrente de uma subnotificação dos casos de dengue hemorrágica (graus I e II), já que todos os casos foram classificados como graus III e IV, elevando desta forma estes percentuais (SOUZA et al., 1995).

Dados do Brasil, de 1998 a 2002, confirmam uma taxa média de letalidade de 5,4% (SIQUEIRA et al, 2005), semelhante à encontrada no estado de Pernambuco.

Na epidemia de Cuba, em 1981, causada pelo DENV-2, a letalidade foi de 0,046%. Essa epidemia causou cerca de 10.000 casos de FHD/SCD, com 158 óbitos, dos quais 101 foram de crianças. O maior número de óbitos ocorreu em menores de 15 anos (3 a 14 anos) de idade, em indivíduos de ambos os sexos (GUZMÁN et al, 2002). Possivelmente esse número de casos esteja superestimado, em virtude da dificuldade de se classificar os casos de FHD com base nos critérios da OMS; mesmo assim, o número elevado de óbitos em crianças chama a atenção, quando comparados com os dados do Brasil.

Além da subnotificação de casos de dengue hemorrágica no estado, há outro fator importante que vale ressaltar. Trata-se da dificuldade de se classificar todos os casos de dengue hemorrágica, de acordo com os critérios da OMS, principalmente devido à falta de dados como, por exemplo, contagem do número de plaquetas e hematócrito.

Existe uma grande necessidade de se definir melhor a febre hemorrágica da dengue, de acordo com a realidade local, possivelmente estabelecendo-se novos pontos de corte de

plaquetopenia e hemoconcentração (RIGAU-PÉREZ, 2006). Deve-se ainda considerar a possibilidade de que as elevadas taxas de letalidade encontradas no estado de Pernambuco sejam decorrentes de problemas de atendimento no Sistema de saúde. Um atendimento médico adequado é imprescindível para evitar a ocorrência de óbito.

6.2.2 *Infecção secundária como fator de risco na febre hemorrágica da dengue.*

Com relação ao tipo de resposta imune, foram analisados laboratorialmente 225 casos, entre os 542 casos confirmados como dengue hemorrágica, no período de 1996 a 2003. Foram encontrados 96 casos (42,7%), com respostas sorológicas característica de infecção primária e 129 casos (57,3%), com respostas identificadas como infecção secundária. Análises estatísticas apontam uma diferença entre os percentuais estatisticamente significativa ($p=0.0279$). Portanto, analisados em conjunto, os dados reforçam a hipótese de que a infecção secundária é um fator de risco na febre hemorrágica da dengue, a um nível de significância de 5%.

Contudo, entre os 70 casos de dengue hemorrágica ocorridos durante o período de 2004 a 2006, quando predominou apenas o DENV-3, 29 deles foram caracterizados quanto ao tipo de resposta imune, sendo identificados 16 casos de infecção primária (55,2%) e 13 casos de infecção secundária (44,8%). Apesar do maior número de casos ter sido de infecção primária, não houve diferença estatisticamente significativa ($OR = 1,28$; $IC = 0.599 - 2.752$; $p=0.519$). Já com relação ao sexo, foi observada uma diferença estatisticamente significativa ($p = 0.007$), eram 22 casos do sexo feminino e sete do masculino. A média de idade desses 29 casos foi de 38 anos e a idade modal 21 anos (CORDEIRO et al., 2007a). Chama a atenção o fato de indivíduos com idade de 20 a 30 anos, não terem sido infectados pelos vírus dengue durante as epidemias anteriores.

Na epidemia de 1990-1991, no Rio de Janeiro, quando se deu a introdução do DENV-2 no Brasil, os seis casos de FHD e os óbitos registrados foram associados à infecção secundária (seqüencial) por dengue (NOGUEIRA et al., 1993).

Estudos realizados durante as epidemias asiáticas de FHD/SCD têm consistentemente demonstrado que pacientes com definição precisa de FHD/SCD tinham resposta de anticorpos do tipo secundária ou se eles tinham menos de um ano de idade, resposta tipo primária

(HALSTEAD, 1997). Existem evidências de que uma infecção subsequente por dengue constitui um fator de risco para a FHD/SCD, principalmente nos países asiáticos.

Um estudo prospectivo com duração de cinco anos desenvolvido na Tailândia comprovou que o risco para desenvolver a FHD/SCD é significativamente maior para os pacientes que sofrem uma infecção secundária do que uma infecção primária por dengue, principalmente quando a infecção secundária é causada pelo DENV-2 (THEIN et al., 1997).

Estudo soro-epidemiológico prospectivo de casos de dengue ocorridos em Bangkok (BURKE et al, 1988) revelou que os casos de FHD/SCD ocorreram somente durante infecções secundárias.

A epidemia de Cuba em 1981 causada por DENV-2 atingiu 45% de uma população parcialmente imune ao DENV-1, com base em estudos de soroprevalência (GUZMÁN et al, 2002). Todos os casos estudados de FHD/SCD apresentaram resposta de anticorpos do tipo secundária, inclusive os óbitos (BRAVO et al., 1987; GUZMÁN et al, 2002). A taxa de letalidade em crianças na faixa dos 3-4 anos de idade com infecção secundária por DENV-2 foi de 25,4 por 10.000 infecções secundárias (GUZMÁN et al, 2002).

De acordo com o estudo realizado em Cuba, a idade é uma importante variável a ser considerada nas infecções secundárias. Segundo os autores, o risco de uma criança vir a falecer durante uma infecção secundária por DENV-2 é quase 15 vezes maior do que o risco de óbito em adultos (GUZMÁN et al, 2002).

Os dados de Pernambuco, inclusive de outros estados brasileiros, são diferentes dos observados em Cuba. Não levando em consideração o surto de dengue em Roraima em 1982, que ficou restrito à região norte do país, convém lembrar que tanto em Cuba como no Brasil a primeira epidemia de dengue foi causada pelo DENV-1 e anos depois pelo DENV-2 e ainda assim não foi constatado um número elevado de casos de dengue hemorrágica.

Reforça-se a hipótese de que, além da infecção secundária (HALSTEAD, 1970), outros fatores de risco, tais como, hipertensão arterial (CUNHA et al. 1998b), a idade do paciente (HALSTEAD et al, 2001), o genótipo viral (LEITMEYER et al. 1999) e doenças pré-existentes estão associados a uma maior ocorrência da dengue hemorrágica e da síndrome de choque da dengue.

Com relação aos achados clínicos entre pacientes com dengue hemorrágica, de ambos os tipos de infecção, não foram observados diferenças importantes em estudo realizado em Fiji (Pacífico) durante epidemia de DENV-1 (KUBERSKI et al., 1977). A situação epidemiológica da dengue em Fiji assemelha-se em muitos aspectos a do Brasil, tendo sido

observado casos de dengue hemorrágica em pacientes com infecção primária por dengue (KUBERSKI et al., 1977).

Sem dúvida alguma, a infecção seqüencial por dengue representa um grande e importante fator de risco para a ocorrência das formas graves da dengue (FHD/SCD), o que também ficou constatado neste estudo. Contudo, não se pode desconsiderar o alto percentual (42,7%) de casos de dengue hemorrágica ocorrido em indivíduos com infecção primária, conforme constatado neste estudo.

6.2.3 Vigilância da febre hemorrágica da dengue

Em Pernambuco, um número bem superior de casos de dengue hemorrágica, além dos 612 confirmados deve ter ocorrido neste período, associados ou não à infecção secundária, decorrente da circulação simultânea dos três sorotipos identificados do vírus.

Uma dificuldade encontrada na vigilância da dengue hemorrágica, com relação à confirmação e classificação dos casos suspeitos, é que para se confirmar um caso se faz necessário a realização de exames laboratoriais para detectar plaquetopenia ($<100.000\text{mm}^3$) e hemoconcentração.

Por outro lado, a falta de documentação e realização de exames específicos faz com que os casos de FHD sejam subnotificados, uma vez que não preenchem os critérios de classificação para FHD da OMS (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL De SAÚDE, 1987; 1997; ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DE SAÚDE, 1995), que são febre, trombocitopenia, manifestações hemorrágicas e hemoconcentração.

Esse tipo de dificuldade não é exclusividade brasileira. Mesmo nos países onde há uma boa notificação e acompanhamento de casos, também ocorre subnotificação. Em Porto Rico, por exemplo, segundo Rigau-Pérez (1997), o número de casos de FHD das últimas epidemias, foi na realidade 2,85 vezes maior do que os notificados.

Outro fator limitante para se confirmar um caso de FHD, pelos critérios da OMS, é com relação à hemoconcentração, pois além da dificuldade de se preencher um ponto de corte superior a 20%, muitas vezes só se consegue fechar tal critério já na convalescença, por desconhecer o valor basal do hematócrito, o qual é definido, muitas vezes, quando foi superada a hemoconcentração. É importante ressaltar que a hemoconcentração pode ser

mascarada em determinadas situações, como uma administração precoce de fluídos intravenosos, e quando há perda excessiva de sangue devido a hemorragias.

O critério provisório sugerido pela OMS, de considerar como valor basal para o hematócrito a média da população, é uma alternativa para diferenciar e classificar os casos de FHD. Entretanto, há também o risco de uma supernotificação de casos, pela confirmação de casos de dengue clássica como sendo dengue hemorrágica (PHUONG et al., 2004).

Um estudo realizado na Tailândia (KALAYANAROOJ et al, 1997) em 172 crianças com doença febril, 32 (53%) com DC e 28 (47%) com FHD, visando à classificação de casos de FHD, levando-se em consideração a exigência de um aumento de 20% no valor do hematócrito, só foi possível confirmar 48% dos casos classificados como dengue hemorrágico. O extravasamento de plasma foi identificado nestes casos, mais frequentemente pelos achados de efusão pleural e também pela observação clínica de ascite, do que propriamente pelo valor do hematócrito.

Os estudos de Kalayanarooj et al (1997) corroboram a recomendação de outros pesquisadores (RIGAU-PÉREZ et al.,1999; PHUONG et al., 2004), de que outros achados clínicos, além da hemoconcentração, devam ser considerados na confirmação de um caso de FHD e reforçam a posição de que extravasamento de plasma e plaquetopenia são aspectos críticos para a diferenciação entre dengue clássico e hemorrágico.

Atualmente, há vários questionamentos sobre os critérios utilizados pela OMS para definição e classificação da febre hemorrágica da dengue, sugerindo que seja feita uma reavaliação desses critérios (RIGAU-PÉREZ, 2006; PHUONG, et al., 2004; RIGAU-PÉREZ et al, 1999; MARZOCHI, 1991). Como não há exames específicos para a FHD, essa forma da doença tem sido definida com base nesses critérios clínicos e laboratoriais. É provável que os critérios da OMS, apesar da alta especificidade tenham uma baixa sensibilidade e estejam subestimando a real incidência de casos de FHD, diagnosticando apenas os casos mais graves e os bem documentados.

Rigau-Pérez et al. (1999) analisando algumas modificações que poderiam ser feitas nos critérios da OMS, entre elas a hemoconcentração, avaliaram 915 pacientes, sendo 818 definidos como dengue clássico e 97 dengue hemorrágico. Após baixar o ponto de corte de hemoconcentração para $\geq 10\%$, conseguiram classificar 192 casos como FHD, praticamente duplicando o número de casos. Apesar de não terem empregado outros métodos de diagnóstico, capazes de caracterizar uma verdadeira alteração de permeabilidade capilar nos 95 novos casos de dengue hemorrágica encontrados após a mudança do ponto de corte, este estudo aponta para novas perspectivas de se rever os critérios de classificação de casos de

dengue hemorrágica. Considerando as dificuldades encontradas para confirmação de casos de febre hemorrágica da dengue, certamente após a realização de mais estudos esses critérios serão reavaliados.

6.3 Dengue clássica com manifestações neurológicas

Manifestações neurológicas foram observadas em vários pacientes com dengue clássica durante a epidemia de 1997 e, mais tarde, em 2002. Os casos que chegaram ao LACEN-PE para diagnóstico foram analisados exaustivamente por se tratar de uma forma clínica incomum na infecção pelo vírus dengue.

No período de março a julho de 1997, vários pacientes atendidos em hospitais públicos e privados do Recife, além de apresentarem os sinais e sintomas comuns à febre do dengue, também apresentavam sinais neurológicos que os levaram à internação. Nesse período foi observado no Serviço de Neurologia do Hospital da Restauração um aumento do número de casos de polirradiculoneurite aguda (PRNA), encefalite (E) e meningoencefalite (MGE) em pacientes com história clínica de dengue, despertando o interesse de profissionais médicos que passaram a investigar esses casos pela possibilidade de comprometimento neurológico associado à dengue (BRITO, 2000).

Dez destes pacientes foram investigados exaustivamente, tanto do ponto de vista neurológico como laboratorial (BRITO, 2000; CORDEIRO, 1997; CORDEIRO et al, 2007b). Os pacientes tinham entre 17 e 73 anos de idade, de ambos os sexos e sete deles foram confirmados, por critério laboratorial, como dengue (Tabela 4). Os resultados da análise destes casos serão apresentados a seguir.

Todos os pacientes apresentaram a forma clássica da dengue, predominando a febre e prostração, seguidos por cefaléia e mialgia, dor retroorbitária, exantema, artralgia (Tabela 5) Apenas um paciente apresentou plaquetopenia. As manifestações neurológicas se manifestaram entre o terceiro e o décimo dia após o início dos sintomas de infecção pelo vírus dengue (Tabela 6) e nenhum desses casos foi associado com quadro de febre hemorrágica da dengue.

A confirmação laboratorial dos casos de dengue (Tabela 6) foi realizada através da detecção de IgM específica nas amostras de soro (positiva nos sete casos) e no Líquido céfalo

raquidiano (LCR), sendo positiva em três casos e também pela pesquisa de anticorpos inibidores da hemaglutinação nas amostras de soro dos sete pacientes.

Tabela 4 - Identificação dos casos de dengue com quadro neurológico investigados na epidemia ocorrida no estado de Pernambuco em 1997

CASO	IDADE (Anos)	SEXO	DIAGNÓSTICO	
			Clínico	Neurológico
1	73	F	DC	MGE
2	45	F	DC	MGE
3	64	M	DC	E
4	17	M	DC	E
5	20	M	DC	E
6	34	M	DC	PRNA
7	54	F	DC	PRNA

Fonte: LABORATÓRIO CENTRAL DE PERNAMBUCO (2006); BRITO (2000)

Legenda: MGE – meningoencefalite; E - encefalite; PRNA - polirradiculoneurite aguda.

Com relação ao tipo de resposta imune, de acordo com os critérios da OMS, apenas o Caso 2 poderia ser considerada como infecção secundária, todos os demais casos apresentaram um resultado sorológico característico de infecção primária pelo vírus dengue. Os casos 1, 5 e 7 apresentaram resposta monotípica para DENV-1, inclusive com presença de IgM no LCR. A pesquisa de vírus e também de anticorpos para os arbovírus, São Luís, Ilhéus e Rocio foi negativa. A pesquisa de outros vírus no LCR também foi negativa, apresentando apenas uma sorologia positiva (IgG) para herpes simples no caso 4.

Tabela 5 - Principais manifestações clínicas dos casos de dengue com manifestações neurológicas investigados em Pernambuco em 1997

CASOS	1	2	3	4	5	6	7
Manifestações Clínicas							
Febre	+	+	+	+	+	+	+
Cefaléia	+	+	-	+	+	+	+
Dor Retroorbitária	-	+	-	+	+	+	+
Mialgia	+	+	-	+	+	+	+
Artralgia	-	-	-	+	-	-	-
Prostração	+	+	+	+	+	+	+
Exantema	+	-	-	-	+	+	-
Hemorragias	-	-	-	-	-	-	-
Manifestações Neurológicas	+	+	+	+	+	+	+

Fonte: LABORATÓRIO CENTRAL DE PERNAMBUCO, 2006; BRITO (2000)

Legenda - (+) Presença, (-) Ausência.

Tabela 6 - Resultados laboratoriais e evolução dos casos de dengue, com quadro neurológico, ocorridos e estudados na epidemia de dengue em Pernambuco, em 1997

CASO	Quadro Neurológico	Início do Quadro (dias)	Sorologia Dengue		LCR IgM Dengue	LCR IgM Outros vírus
			IgM	HI		
1	MGE	5	POS	DENV-1 1:80	POS	NEG
2	MGE	4	POS	DENV \geq 1:1280	NEG	NEG
3	E	3	POS	DENV 1:320	NEG	NEG
4	E	10	POS	DENV 1:320	NEG	IgG Herpes
5	EPIL	6	POS	DENV-1 1:40	POS	NEG
6	PRNA	5	POS	DENV 1:160	NEG	NEG
7	PRNA	5	POS	DENV-1 1:80	POS	NEG

Fonte: LABORATÓRIO CENTRAL DE PERNAMBUCO (2006); BRITO (2000)

Legenda: MGE – meningoencefalite; E - encefalite; PRNA - polirradiculoneurite aguda.

Os quadros neurológicos nos Casos 1 e 2 foram de meningoencefalite, com evolução favorável e sem seqüela; Casos 3 e 4 eram quadros de encefalite, que na evolução apresentaram sinais de parkinsonismo; Caso 5 apresentou crise tônica dimidiada à esquerda (epilepsia); Casos 6 e 7, quadros de PRNA (Tabela 6).

Ainda em 1997, dois outros pacientes com infecção por dengue foram internados em hospitais do Recife com quadros de encefalite e de mielite, também tiveram seus exames confirmados como dengue clássica (CORDEIRO, 1997). Nos casos analisados por Brito (1997), foi observado que as manifestações neurológicas ocorreram durante, ou logo após, o início do quadro de dengue e em nenhum deles houve confirmação de dengue hemorrágica.

Os quadros de polirradiculoneurite aguda e epilepsia são tidos como tardios (GUBLER, 1983), ou seja, que se iniciam da primeira à terceira semana do início do quadro de dengue, enquanto os acima estudados tiveram os sintomas iniciados entre o quinto e sexto dias da doença. Um caso de encefalite que levou o paciente ao óbito, relatado por Hommel et al. (1998) ocorrido na Guiana Francesa, também teve início na fase aguda da dengue, dois dias após o início da febre, com isolamento de DENV-2, tanto no LCR, quanto no sangue, corroborando os nossos dados.

No período de dezembro de 2001 a junho de 2002, durante a epidemia de DENV-3, foram analisados no LACEN-PE amostras de soro e/ou LCR de 37 pacientes com suspeita de infecção por dengue apresentando manifestações neurológicas, dos quais 23 casos foram confirmados como dengue clássico, tanto pela clínica como laboratorialmente. Eram pacientes hospitalizados, com os seguintes quadros neurológicos: encefalite (4 casos), mielite (3 casos), meningoencefalite (1 caso), crise convulsiva (4 casos), síndrome de Guillian Barré (5 casos),

paralisia (2 casos), paralisia facial (2 casos), espasmo facial (1 caso), lesão desmielinizante (1 caso) (CORDEIRO et al, 2007; 2002; GALVÃO, 2004).

Em 2004, Brito et al., (2007) relataram um caso de encefalomielite aguda em uma paciente de 37 anos de idade, com infecção por DENV-3, confirmado através de isolamento viral no LCR e também por RT-PCR.

A falta de uma evidência direta da invasão do cérebro pelos vírus dengue e também da replicação viral no local, justificava o emprego do termo “encefalopatia” (GUBLER et al, 1983), em vez de encefalite, usado para descrever as manifestações neurológicas observadas em indivíduos com dengue.

Acreditava-se que essas manifestações no sistema nervoso central eram devido ao extravasamento de plasma nos espaços serosos e homeostase anormal, resultando em choque hipovolêmico, hemorragia e distúrbios metabólicos no cérebro (LAM, 1996). Na maioria dos casos, a confirmação da infecção pelos vírus dengue era apenas sorológica, sem detecção direta do vírus no sistema nervoso central.

Entretanto relatos recentes vêm fornecendo evidências convincentes de que esses vírus podem invadir o sistema nervoso central. Vários casos de encefalite, e também de outros quadros neurológicos, estão fortemente associados à infecção pelos vírus dengue (PATEY et al., 1993; LUM et al., 1996; HOMMEL et al., 1998; SOLOMON et al., 2000; FONG et al., 2004).

Corroborando esses achados, a presença de antígeno viral no cérebro (NOGUEIRA et al, 2002) comprova que esses vírus podem romper a barreira hemato-encefálica e a detecção de infiltrado de macrófagos CD68+ no cérebro (MIAGOSTOVICH et al., 1997) sugere que esta pode ser uma das vias de entrada do vírus dengue no cérebro.

No Brasil as manifestações neurológicas associadas à dengue também foram relatadas por outros pesquisadores. Os primeiros casos suspeitos foram os estudados por Chimelli et al. (1990), que analisaram as alterações morfológicas no cérebro de cinco casos fatais, ocorridos em Niterói (RJ) na epidemia causada por DENV-1 em 1987. Em quatro indivíduos as alterações eram inespecíficas, porém em um dos casos as lesões eram sugestivas de encefalite.

Nogueira et al, (2002), também analisaram um caso de óbito por dengue ocorrido no estado do Rio Grande do Norte, em um indivíduo de 67 anos, com envolvimento do SNC do qual foi isolado DENV-2 diretamente do cérebro, confirmado por imunohistoquímica.

Leão et al. (2002), relataram um caso de um paciente do sexo masculino de 58 anos de idade com dengue clássica e envolvimento neurológico caracterizado por mielite transversa.

Esse paciente teve paralisia flácida dos membros inferiores, tendo se recuperado após seis meses do início da infecção por DENV-2.

As manifestações neurológicas foram observadas, tanto em casos de infecção primária por dengue (CORDEIRO, 1997), quanto nos de infecção secundária (NOGUEIRA et al, 2002).

Com relação aos sorotipos do vírus, parece não haver um sorotipo particular envolvido, uma vez que foram confirmados por sorologia, isolamento de vírus e/ou detecção do RNA viral por RT-PCR a presença de DENV-1 (CORDEIRO, 1997), de DENV-2 (HOMMEL et al., 1998; NOGUEIRA et al., 2002; LEÃO et al, 2002), de DENV-3 (LUM et al., 1996; FONG et al., 2004; BRITO et al., 2007) e DENV-4 (RAMOS et al., 1998) em vários casos relatados.

Muitos casos de dengue com manifestações neurológicas certamente deixam de ser notificados, ou passam despercebidos, por desconhecimento das manifestações atípicas da doença, entre elas as manifestações neurológicas.

REFERÊNCIAS

- BRAVO, J. R.; GUZMÁN, M. G.; KOURI, G. P. Why dengue haemorrhagic fever in Cuba? I. Individual risk factors for dengue haemorrhagic fever/dengue shock syndrome (DHF/DSS). **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 81, p. 816-820, 1987.
- BRITO, C. A. A. et al. Acute disseminated encephalomyelitis in classic dengue. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 40, n. 2, p. 236-238, 2007.
- BRITO, C. G. C. **Aspectos Neurológicos na Dengue**, 2000. Monografia (Residência Médica em Neurologia) - Hospital da Restauração, Secretaria de Saúde do Estado de Pernambuco, Recife, PE, 2000.
- BURKE, D. S. et al. A prospective study of dengue infections in Bangkok. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 38, p. 172-80, 1988.
- CHIMELLI, L. et al. Dengue: Neuropathological findings in 5 fatal cases from Brazil. **Clinical Neuropathology**, Munich, v. 9, p. 157-162, 1990.
- CLARKE, D H, CASALS, J. Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod-borne viruses. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 7, p. 561-73, 1958.
- CORDEIRO, M. T. et al. Characterization of a dengue patient cohort in Recife, Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 77, n. 6, p. 3328-3334, 2007a.
- CORDEIRO, M. T. et al. Dengue and dengue hemorrhagic fever in the state of Pernambuco, Brazil, 1995 – 2006. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 40, n. 6, p. 605-611, 2007b.
- CORDEIRO, M. T. Dengue in the State of Pernambuco, Brazil, 1995-1997. Virological, clinical and epidemiological aspects. **Virus Review & Research**, Rio de Janeiro, v. 2, p. 112-113, 1997.
- CUNHA, R. V. et al. Retrospective study on dengue in Fortaleza, State of Ceará, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 93, n. 2, p. 155-159, 1998a.
- CUNHA, R. V. et al. Arterial hypertension as a possible risk factor for dengue hemorrhagic fever/sengue shock syndrome in Niterói, Rio de Janeiro. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 31, p. 246-247, 1998b.

CUNHA, R. V. et al. Secondary dengue infection in schoolchildren in a dengue endemic area in the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 37, n. 6, p. 517-521, 1995.

DE SIMONE, T.S. et al. Dengue virus surveillance: the co-circulation of DENV-1, DENV-2 and DENV-3 in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 98, p. 553-562, 2004.

DIETZ, V. J. et al. Epidemic dengue 1 in Brazil, 1986: evaluation of clinically based dengue surveillance system. **American Journal of Epidemiology**, Baltimore, v. 131, p. 693-701, 1990.

ENDY, T. P. et al. Epidemiology of inapparent and symptomatic acute dengue virus infection: A prospective study of Primary School children in Kamphaeng Phet, Thailand. **American Journal of Epidemiology**, Baltimore, v. 156, p. 40-51, 2002.

FIGUEIREDO, R. M. P. et al. Doenças exantemáticas e primeira epidemia de dengue ocorrida em Manaus, Amazonas, no período de 1998-1999. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 37, n. 6, p. 476-479, 2004.

FONG, M. Y. et al. 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.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (Brasil). **Manual de Dengue: Vigilância Epidemiológica e Atenção ao Doente**. 2. ed. Brasília, 1996.

GALVÃO, S. L. Manifestações neurológicas na febre do dengue em pacientes de Recife-PE durante período epidêmico de dezembro de 2001 a junho de 2002. **Monografia** (Especialização) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade de Pernambuco, Recife, 2004.

GEORGE, R.; LUM, L. C. S. Clinical spectrum of dengue infection. In: GUBLER, D. J. e KUNO, G. (Ed.), **Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever**, New York : CAB International, 1997, p. 89-113, 1997.

GUBLER, D. J.; KUNO, G.; WATERMAN, S. H. Neurologic disorders associated with Dengue infection. In: **International Conference on Dengue/Dengue haemorrhagic fever**. Kuala Lumpur, Malasia, 1983.

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

HALSTEAD, S. B. et al. Haiti: Absence of dengue hemorrhagic fever despite hyperendemic dengue virus transmission. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 65, p. 180-183, 2001.

HALSTEAD, S. B. Epidemiology of dengue and dengue hemorrhagic fever. In: GUBLER, D. J. e KUNO, G. (Ed.), **Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever**, New York: CAB International, 1997, p. 23-44.

HALSTEAD, S. B. Observations related to pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. VI. Hypothesis and discussion. **Yale Journal of Biology and Medicine**, New Haven, v. 42, p. 350, 1970.

HALSTEAD, S. B.; NIMMANNITYA, S.; MARGIOTA, M. R. Dengue and chikungunya virus infection in man in Thailand, 1962-1964: II. Observations on disease in outpatients. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 18, p. 972-983, 1969.

HOMMEL, D. et al. Dengue encephalitis in French Guiana. **Research Virology**, Paris, v. 149, p. 235-238, 1998.

HUNG, N. T. et al. Association between sex, nutritional status, severity of dengue hemorrhagic fever, and immune status in infants with dengue hemorrhagic fever. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 72, n. 4, p. 370-374, 2005.

IGARASHI, A. Isolation of a Singh's *Aedes albopictus* cell clone sensitive to dengue and chikungunya viruses. **The Journal of General Virology**, London, v. 40, p. 531-544, 1978.

KALAYANAROOJ, S. et al. Early Clinical and Laboratory Indicators of acute Dengue illness. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 176, p. 313-321, 1997.

KOURY, D. et al. Reemergence of Dengue in Cuba: a 1997 epidemic in Santiago de Cuba. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 4, p. 89-92, 1998.

KUBERSKI, T. et al. Clinical and laboratory observations on patients with primary and secondary dengue type 1 infections with hemorrhagic manifestations in Fiji. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 26, n. 4, p. 775-783, 1977.

KUNO, G.; GÓMEZ, I.; GUBLER, D. J. Detecting artificial anti-dengue IgM immunocomplexes using an enzyme-linked immunosorbent assay. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 36, p. 153-159, 1987.

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

LABORATÓRIO CENTRAL DE PERNAMBUCO. **Banco de dados de dengue**. Recife, 2006.

LAM, S. K. Dengue infections with central nervous system manifestations. **Neurology Journal of Southeast Asia**, Bangkok, v. 1, p. 3-6, 1996.

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.

LEÃO, R. N. Q. et al. Isolation of dengue 2 virus from a patient with central nervous system involvement (transverse myelitis). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 35, p. 401-404, 2002.

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

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

MARZOCHI, K. B. F. Dengue – Classificação clínica. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 7, p. 409-415, 1991.

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

MORAIS, J. G. M.; CORDEIRO, M. T.; OLIVEIRA, M. J. C. Dengue Haemorrhagic Fever in the State of Pernambuco: a report of the first cases. In: **First International Seminar on Dengue**, Rio . 6-9/10/1996, anais p 72, Rio de Janeiro, RJ, 1996.

MOURÃO, M. P. G. et al. Febre hemorrágica do dengue em lactentes: relato de dois casos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 37, p. 175-176, 2004.

NOGUEIRA, R. M. R. et al. Dengue virus infection of the Central nervous system (CNS) a case report from Brazil. **The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, Bangkok, v. 33, p. 68-71, 2002.

NOGUEIRA, R. M. R. et al. Dengue type 2 outbreak in the south of the state of Bahia, Brazil: laboratorial and epidemiological studies. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 37, n. 6, p. 507-510, 1995.

NOGUEIRA, R. M. R. et al. Dengue epidemic in the state of Rio de Janeiro, Brazil, 1990-1: co-circulation of dengue 1 and dengue 2 serotypes **Epidemiology and Infection**, Cambridge, v. 111, p. 163-170, 1993.

NOGUEIRA, R. M. R. et al. Virological study of a Dengue type 1 epidemic at Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 83, p. 219-225, 1988.

NOGUEIRA, S. A. The challenge of diagnosing dengue in children. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 1, p. 191, 2005.

OLIVEIRA, M. J. C. Frequência de Sarampo, Rubéola, Dengue e Eritema infeccioso em casos suspeitos de sarampo e rubéola no estado de Pernambuco, no período de 2001 – 2004. **Dissertação** (Mestrado) – Departamento de Medicina Tropical, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2006.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Dengue haemorrhagic fever: Diagnosis, treatment, prevention and control. 2.ed. Geneva, 1997.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Dengue hemorrágico: diagnóstico, tratamento e controle. OMS, Genebra, 1987.

ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE. Dengue y Dengue hemorrágico en las Américas: guías para su prevención y control. **Publicación Científica n.548**, Washington, D.C., 1995.

PATEY, A. et al. Unusual neurologic manifestations occurring during dengue fever infection. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 48, p. 793-802, 1993.

PERNAMBUCO. Secretaria Estadual de Saúde. Diretoria de Epidemiologia e Vigilância Sanitária. **Informe Epidemiológico: Dengue e Endemias**, n.1, Recife, 1996. (Documento de circulação interna).

PHUONG, C. X. T. et al. 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 and Hygiene**, Baltimore, v. 70, n. 2, p. 172-179, 2004.

RAMOS, C. et al. Dengue virus in the brain of a fatal case of hemorrhagic dengue fever. **Journal of Neurovirology**, Philadelphia, v. 4, p. 465-468, 1998.

RIGAU-PÉREZ, J. G. Severe dengue: the need for new case definitions. **The Lancet**, London, v. 6, p. 297-302, 2006.

RIGAU-PÉREZ, J. G. et al. An Evaluation of modified case definitions for the detection of dengue hemorrhagic fever. **Puerto Rico Health Sciences Journal**, Puerto Rico, v. 18, p. 347-352, 1999.

RIGAU-PÉREZ, J. G.; GUBLER, D. J. Surveillance for dengue and dengue hemorrhagic fever. In: GUBLER, D. J.; KUNO, G. (Ed.), **Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever**, New York: CAB International, 1997, p. 405-423.

SABIN, A.B. Research on Dengue during World War II. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 1, n. 30, p. 30-50, 1952

SIQUEIRA, J. B. et al. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever, Brazil, 1981-2002. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 11, n. 1, p. 48-53, 2005.

SOLOMON, T. et al. Neurological manifestation of dengue. **The Lancet**, London, v. 355, p. 1053-1059, 2000.

SOUZA, L. J. et al. Aminotransferase changes and acute hepatitis with dengue fever: analysis of 1585 cases. **Brazilian Journal Infectious Diseases**, Salvador, v. 8, p. 156-163, 2004.

SOUZA, R. V. et al. An outbreak of dengue in the State of Ceará, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 90, n. 3, p. 345-346, 1995.

TEIXEIRA, M. G. et al. Dynamics of dengue virus circulation: a silent epidemic in a complex urban area. **Tropical Medicine and International Health**, Oxford, v. 7, n. 9, p. 757-762, 2002.

THEIN, S. et al. Risk factors in dengue shock syndrome. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 56, n. 5, p. 566-572, 1997.

UEHARA, P. M. et al. Envolvimento hepático em pacientes com dengue hemorrágico: manifestação rara? **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 39, n. 6, p. 544-547, 2006.

VASCONCELOS, P. F. C. et al. Epidemia de dengue em Fortaleza, Ceará: inquérito sorológico epidemiológico aleatório. **Revista de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 32, n. 5, p. 447-454, 1998.

VASCONCELOS, P. F. C. et al. A large epidemic of dengue fever with dengue hemorrhagic cases in Ceará state, Brazil, 1994. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 37, n. 3, p. 253-255, 1995.

VORNDAM, V.; KUNO, G. Laboratory Diagnosis of dengue virus infection. . In: GUBLER, D. J.; KUNO, G. (Ed.), **Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever**, New York: CAB International, 1997, p. 313-333.

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.

ZAGNE, S. M. O. 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.

**EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DE
DENV-1, DENV-2 E DENV-3
ISOLADOS EM PERNAMBUCO**

7 EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR DE DENV-1, DENV-2 E DENV-3 ISOLADOS EM PERNAMBUCO.

A caracterização genotípica dos vírus dengue é uma importante abordagem para a determinação da origem e dispersão dos vírus durante epidemias (LEITMEYER et al., 1999). A associação entre determinados genótipos e a ocorrência das formas graves da doença, e de epidemias explosivas, tem sido igualmente demonstradas (LEITMEYER et al., 1999; RICO-HESSE, 2003).

A evolução molecular dos vírus dengue é determinada por várias interações complexas, desde o nível celular, ao nível populacional, tanto em humanos, quanto nos mosquitos vetor (RICO-HESSE, 2003). Estudos sobre a evolução molecular desses vírus têm revelado um aumento na sua diversidade genética. Este fato, aliado às evidências de que existem cepas virais que podem, naturalmente, ser mais virulentas do que outras sugerem uma maior exposição a genótipos com maior potencial patogênico (HOLMES; BURCH, 2000).

A transmissão desses genótipos mais virulentos tem sido monitorada em vários países, e a necessidade de se reduzir, não apenas a população vetorial, mas também a transmissão dessas cepas para diminuir o seu impacto na população, já é compreendida como fator de grande importância (RICO-HESSE, 2003).

Como ocorrem com outros vírus RNA, algumas regiões do genoma dos vírus dengue são bem conservadas, de modo que o seqüenciamento parcial de algumas regiões genômicas tem sido utilizado para caracterização de genótipos, dentro dos quatro sorotipos (RICO-HESSE, 1990; RICO-HESSE et al, 1997; LANCIOTTI et al, 1994, 1997; GONCALVEZ et al, 2002).

Atualmente não existe uniformidade na classificação dos vírus dengue, em grupos genéticos, ou genótipos, como ocorre com a classificação em sorotipos, apesar de existir uma tentativa de se uniformizar essa classificação. A classificação em genótipos pode variar à medida que os métodos de seqüenciamento e os tipos de análises sobre a evolução molecular desses vírus se aperfeiçoam, e existe uma maior disponibilidade de novas seqüências genômicas no GenBank (NCBI) (RICO-HESSE, 2003).

Como observado em várias regiões do mundo, a cada surto e/ou epidemia da doença, um determinado sorotipo se sobrepõe aos demais sorotipos (THU et al, 2004), fato também observado em nosso estudo.

O DENV-2, introduzido em Pernambuco em 1995, foi o responsável pelas epidemias ocorridas no estado naquele ano e no ano seguinte. Por outro lado, o DENV-1 foi o sorotipo mais isolado durante as epidemias do biênio 1997-98, apesar da circulação simultânea de ambos os sorotipos.

A partir da epidemia de 2002, causada pelo DENV-3, este sorotipo se sobrepôs aos outros dois sorotipos e predominou entre os isolados nos diversos municípios do Estado, fato igualmente observado nas demais unidades federadas do país (SIQUEIRA et al., 2005).

Considerando-se a importância de se conhecer os genótipos dos vírus dengue responsáveis pelas epidemias ocorridas em várias regiões do estado de Pernambuco, estudamos amostras virais preservadas no banco de vírus pertencente ao Laboratório Central de Saúde Pública da Secretaria de Saúde do Estado.

Com esse objetivo procedeu-se a caracterização molecular de cinquenta amostras de DENV-1, quarenta de DENV-2 e quatro de DENV-3, aleatoriamente selecionadas por ano de ocorrência. As amostras virais analisadas foram isoladas a partir de amostras de sangue de indivíduos com dengue clássica e/ou dengue hemorrágica, residentes em vários municípios do Estado de Pernambuco e que tiveram a infecção durante períodos epidêmicos e/ou endêmicos, entre 1995 e 2003.

As árvores filogenéticas do DENV-1, DENV-2 e DENV-3, foram construídas utilizando o programa MEGA 3.1 (KUMAR; TAMURA; NEI, 2004). O cálculo da *distância p*, a média do conteúdo de G/C e o cálculo da taxa de transcrição e transversão foram analisados para a aplicação do método mais adequado. Foi utilizado o método “Neighbor-joining”, modelo Tajima Nei, com um bootstrap de 1000 pseudoréplicas.

7.1 Caracterização molecular do Dengue-1

Em 1977, o DENV-1 foi introduzido na Jamaica, dispersando-se pelo Caribe e países da América Tropical, e nos anos seguintes foi responsável por epidemias ocorridas em diferentes países das Américas. Contudo, no continente americano, este sorotipo vem sendo associado à forma clássica da dengue e, esporadicamente, com a febre hemorrágica da dengue (PINHEIRO, 1989).

De acordo com os estudos realizados por RICO-HESSE (1990), após análise de uma região de 240 pares de base (pb) na junção E/NS1 de 40 cepas de DENV-1 de diferentes

países, este sorotipo foi classificado em cinco genótipos, identificados por numerais romanos e distribuídos de acordo com a região geográfica de origem.

CHUNGUE et al. (1995), analisando um fragmento de 237 nucleotídeos do gene E de 35 cepas de DENV-1 isoladas em vários países, num período de 50 anos identificaram a existência de três genótipos, com uma divergência de 7% entre os grupos.

Com a evolução das pesquisas na área de biologia molecular, uma nova classificação foi proposta (GONCALVEZ et al., 2002), baseada na análise de seqüências completas do gene E (1485 nucleotídeos) de 44 amostras de DENV-1, evidenciando a existência de cinco genótipos, corroborando a classificação prévia de RICO-HESSE (1990).

Como não há uniformidade na classificação dos genótipos, para fins da caracterização molecular das amostras de DENV-1 isoladas em Pernambuco, neste estudo utilizamos a classificação de RICO-HESSE (2003), que estabelece cinco genótipos, denominados de acordo com sua origem geográfica: *silvestre/Malásia*, *Américas/África*, *Pacífico Sul*, *Ásia* e *Tailândia*.

Para a caracterização molecular do DENV-1 que circulou no estado de Pernambuco, foi analisada uma região de 240 pares de base, na junção E/NS1 do genoma do vírus, de cinquenta amostras isoladas nos anos de 1996 a 2002, em cultura de células do clone C6/36. Para amplificação e seqüenciamento dos produtos da RT-PCR foram utilizados os iniciadores (*primers*), D1-2162 e D1-2623, direcionados para a junção dos genes E/NS1 do vírus (RICO-HESSE, 1990; RICO-HESSE et al., 1997).

As amostras virais de DENV-1 que foram selecionadas para este estudo, são procedentes de municípios localizados nas diferentes regiões geográficas do estado, isoladas em diferentes anos, com o objetivo de monitorar a circulação e/ou a introdução de outros genótipos (Tabela 1). As seqüências nucleotídicas destas cepas foram depositadas no GenBank (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) e os respectivos números de acesso constam da Tabela 1.

A análise filogenética das amostras de DENV-1 foi realizada utilizando amostras disponíveis no GenBank (NCBI). Três amostras de DENV-1 (BR/97-233, BR/97-409 e BR/97-111) isoladas no LACEN-PE na epidemia ocorrida em Pernambuco em 1997 (DUARTE DOS SANTOS et al., 2002) foram incluídas para comparação. Seqüências de DENV-2, DENV-3 e DENV-4 foram utilizadas como grupos externos (Tabela 2).

A árvore filogenética do DENV-1 foi construída utilizando o método “Neighbor-joining”, modelo Tajima Nei, com um *bootstrap* de 1000 pseudoréplicas (Figura 1).

Tabela 1 - Amostras de DENV-1 isoladas em Pernambuco nos anos de 1996 a 2002 analisadas através do seqüenciamento de uma região de 240 pares de base da junção dos genes E/NS1.

Nome da Amostra*	Isolamento Ano/Mês	Procedência Município	Nº de acesso GenBank
12899/BR-PE/96	1996/3	Caruaru	EU259515
21814/BR-PE/96	1996/6	Caruaru	EU259516
24864/BR-PE/96	1996/7	Caruaru	EU259517
25153/BR-PE/96	1996/7	Caruaru	EU259518
31765/BR-PE/96	1996/12	Limoeiro	EU259519
38781/BR-PE/97	1997/3	Recife	EU259520
38862/BR-PE/97	1997/3	Caruaru	EU259521
38919/BR-PE/97	1997/2	Catende	EU259522
39333/BR-PE/97	1997/3	Igarassu	EU259523
39663/BR-PE/97	1997/4	Caruaru	EU259524
40411/BR-PE/97	1997/4	Afogados da Ingazeira	EU259525
40604/BR-PE/97	1997/4	Maraial	EU259526
41137/BR-PE/97	1997/4	Recife	EU259527
41802/BR-PE/97	1997/4	Maraial	EU259528
42735/BR-PE/97	1997/5	Recife	EU259529
42759/BR-PE/97	1997/5	Recife	EU259530
45847/BR-PE/98	1998/2	Caruaru	EU259531
46540/BR-PE/98	1998/3	Belo Jardim	EU259532
47874/BR-PE/98	1998/3	Timbaúba	EU259533
50856/BR-PE/98	1998/4	Pesqueira	EU259534
51985/BR-PE/98	1998/5	Belo Jardim	EU259535
52082/BR-PE/98	1998/5	Lagoa do Carro	EU259536
52120/BR-PE/98	1998/5	Amaraji	EU259537
52405/BR-PE/98	1998/5	Garanhuns	EU259538
57809/BR-PE/99	1999/3	Belo Jardim	EU259539
58023/BR-PE/99	1999/3	Passira	EU259540
58116/BR-PE/99	1999/3	Tabira	EU259541
58118/BR-PE/99	1999/3	Tabira	EU259542
58904/BR-PE/99	1999/4	Garanhuns	EU259543
59049/BR-PE/99	1999/4	Serra Talhada	EU259544
60054/BR-PE/99	1999/5	Salgueiro	EU259545

Nota: * Nome da amostra baseada na identificação no LACEN-PE, estado e ano de isolamento.

Tabela 1 - Amostras de DENV-1 isoladas em Pernambuco nos anos de 1996 a 2002 analisadas através do seqüenciamento de 240 pares de base da junção dos genes E/NS1 (continuação).

Nome da Amostra*	Isolamento Ano/Mês	Procedência Município	Nº de acesso GenBank
63427/BR-PE/99	1999/8	Limoeiro	EU259546
67028/BR-PE/00	2000/2	Floresta	EU259547
67073/BR-PE/00	2000/2	Arcoverde	EU259548
67643/BR-PE/00	2000/2	Arcoverde	EU259549
69680/BR-PE/00	2000/4	Garanhuns	EU259550
69910/BR-PE/00	2000/4	Riacho das Almas	EU259551
70019/BR-PE/00	2000/4	Garanhuns	EU259552
70189/BR-PE/00	2000/4	Floresta	EU259553
70260/BR-PE/00	2000/4	Brejo da Madre de Deus	EU259554
70521/BR-PE/00	2000/5	Caetés	EU259555
70523/BR-PE/00	2000/4	Caetés	EU259556
74488/BR-PE/01	2001/3	Cedro	EU259557
75067/BR-PE/01	2001/4	Garanhuns	EU259558
75749/BR-PE/01	2001/4	Caruaru	EU259559
75861/BR-PE/01	2001/4	Salgueiro	EU259560
79981/BR-PE/02	2002/1	Garanhuns	EU259561
80617/BR-PE/02	2002/1	Paulista	EU259562
88451/BR-PE/02	2002/3	Garanhuns	EU259563
88463/BR-PE/02	2002/3	Garanhuns	EU259564

Nota: * Nome da amostra baseada na identificação no LACEN-PE, estado e ano de isolamento.

Tabela 2 - Amostras de DENV-1 e dos grupos externos (DENV-2, DENV-3, DENV-4) obtidas no GenBank para análise filogenética.

Nome da Cepa	Nº de Acesso GenBank	Procedência	Ano	Referência
BR/97-233	AF311958	Brasil, Pernambuco	1997	Duarte et al, 2002
BR/97-409	AF311957	Brasil, Pernambuco	1997	Duarte et al, 2002
BR/97-111	AF311956	Brasil, Pernambuco	1997	Duarte et al, 2002
BR/90	AF226685	Brasil, Rio de Janeiro	1990	Duarte et al, 2002
BRA/PR/95	AY159268	Brasil, Paraná	1995	Pires Neto et al, 2005
BRA/MT/96	AY159262	Brasil, Mato Grosso	1996	Pires Neto et al, 2005
BRA/BA/97	AY159259	Brasil, Bahia	1997	Pires Neto et al, 2005
BRA/RJ/96	AY159270	Brasil, Rio de Janeiro	1996	Pires Neto et al, 2005
BRA/SP/01	AY159272	Brasil, São Paulo	2001	Pires Neto et al, 2005
BRA/PA/98	AY159265	Brasil, Pará	1998	Pires Neto et al, 2005
1412/México/83	M32902	México	1983	Rico-Hesse, 1990
1413/Haiti/83	M32903	Haiti	1983	Rico-Hesse, 1990
28973/Brasil/88	M32908	Brasil, Rio de Janeiro	1988	Rico-Hesse, 1990
351094/Colombia/87	M32911	Colombia	1987	Rico-Hesse, 1990
1916/El Salvador/87	M32905	El Salvador	1987	Rico-Hesse, 1990
816879/Suriname/81	M32918	Suriname	1981	Rico-Hesse, 1990
Mochizuki/Japan/43	M32929	Japão	1943	Rico-Hesse, 1990
779172/Taiwan/88	M32917	Taiwan	1988	Rico-Hesse, 1990
027/Philippines/88	M32892	Filipinas	1988	Rico-Hesse, 1990
T14/Australia/81	M32931	Austrália	1981	Rico-Hesse, 1990
d21409/Jamaica/83	M20558	Jamaica	1983	Deubel, 1988
d3Martinica 1243/99	AY099337	Martinica	1999	Peyrefitte et al, 2003
d4814669/Dominica/81	M14931	Dominica	1981	Zhao et al, 1986

Nota: Sequências obtidas no GenBank; Grupos externos em negrito.

A análise das seqüências nucleotídicas, de cinquenta amostras de DENV-1 de Pernambuco, revelou algumas mutações silenciosas⁵. Por outro lado, análises destas cinquenta seqüências em comparação com uma amostra de referência (28973/BR-RJ/88) isolada no Rio de Janeiro em 1988 (RICO-HESSE, 1990), revelaram a existência de substituições de aminoácidos entre resíduos da mesma classe. Esse tipo de mutação foi observado em apenas sete, das cinquenta amostras seqüenciadas, conforme detalhado na Tabela 3.

Todas as substituições de aminoácidos foram observadas na proteína NS1, que é menos conservada, porém esse tipo de mutação não resulta na perda ou alteração das funções biológicas da proteína, significando provavelmente a evolução molecular desses isolados (RICO-HESSE et al, 1997).

O seqüenciamento completo das três amostras de Pernambuco (BR/97-233, BR/97-409 e BR/97-111) e de um isolado do estado do Paraná de 2001 evidenciou um total de 27 substituições de aminoácidos nas proteínas não estruturais NS1, NS2A, NS3, NS4B e NS5, quando comparadas com a seqüência genômica de uma amostra de DENV-1 isolada em 1990 no Rio de Janeiro. Dessas substituições de aminoácidos, nove eram específicas das três amostras de Pernambuco, sugerindo a evolução *in situ* destas amostras (DUARTE DOS SANTOS et al., 2002).

Uma similaridade de 98,9% foi observada entre as cepas de DENV-1 de Pernambuco, e quando comparadas com as amostras de outros estados brasileiros, a similaridade foi 98,2%. A homologia entre os aminoácidos foi de 98,7%, em ambos os casos (Tabela 5).

As amostras de DENV-1 de Pernambuco, juntamente com outros isolados do Brasil e cepas de referência das Américas e Caribe (Colômbia, El Salvador, Suriname, México e Haiti) formaram um grande e único grupo que corresponde ao genótipo **Américas/África** (Figura 1). A cepa brasileira de referência isolada em 1988 (RICO-HESSE, 1990) parece formar um subgrupo do mesmo genótipo, com as cepas de referências de outros países das Américas e Caribe.

Pelos dados obtidos, um único genótipo do DENV-1 está circulando no país até o momento, desde a epidemia de Roraima (1981-1982), pertencente ao genótipo **Américas/África**, como constatado no estudo de Goncalvez et al. (2002) o qual incluía cepas de um período de 20 anos e de (PIRES NETO, et al, 2005). No estudo de GONCALVEZ et al., (2002), foi demonstrada uma similaridade de 96,7% entre as seqüências.

⁵ Mutações silenciosas são aquelas onde se observam mudanças nos nucleotídeos, mas que não acarretam mudanças nos aminoácidos, ou seja, quando o códon alterado codifica o mesmo aminoácido. A mutação em "missense" é aquela em que o códon alterado codifica um aminoácido diferente.

Tabela 3 - Substituição de aminoácidos na região da junção dos genes E/NS1 (nt: 2309-2548) de amostras de DENV-1 isoladas no estado de Pernambuco.

Posição no Genoma (aa) BR/97-233*	Gen	28973/ BR- RJ/88#	5204/ BR- PE/95	21814/ BR- PE/96	40604/ BR- PE/97	47874/ BR- PE/98	45847/ BR- PE/98	52082/ BR- PE/98	63427/ BR- PE/99	70523/ BR- PE/00	74488/ BR- PE/01	88451/ BR- PE/02
783	NS1	S	S	S	S	N	S	S	S	S	S	S
792	NS1	A	A	A	A	A	V	V	V	A	A	A
818	NS1	E	E	E	E	E	E	E	E	D	E	E
823	NS1	S	S	S	N	S	S	S	S	S	S	S
843	NS1	D	D	D	D	D	D	D	D	D	E	D
847	NS1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

Nota: * Genoma completo de DENV-1 utilizado como referência para posição no genoma (AF311958), Ref. Duarte dos Santos et al. (2002).

Cepa DENV-1 (E/NS1) isolada em 1988 (Brasil) utilizada para comparação (M32908), Ref. Rico-Hesse (1990).

E/NS1- Posição no genoma: nt 2309-2548 (nt: nucleotídeos)

Legenda: (aa) = Aminoácidos; S = Serina; A = Alanina; E = Glutamato ou Ácido glutâmico; D = Aspartato ou Ácido aspártico; R = Arginina; N = Asparagina; V = Valina. Aminoácidos divergentes da amostra de referência em vermelho.

Tabela 4 - Identidade entre seqüências de amostras de DENV-1 isoladas no estado de Pernambuco e em outros estados brasileiros.

	70523 BR PE/00	88451 BR PE/02	162923 BRMT 96	172708 BRPA 98	21814 BR- PE/96	74488 BR- PE/01	158615 BRPR 95	40604 BR- PE/97	47874 BR- PE/98	45847 BR- PE/98	63427 BR- PE/99	52082 BR- PE/98	SMRP01 BR SP-01	163743 BR RJ/96	28973HS BRRJ 88
70523/BR-PE/00	-	^a 98,7	98,7	97,5	98,7	97,5	98,7	97,5	97,5	97,5	97,5	97,5	98,7	98,7	98,7
88451/BR-PE/02	^b 99,5	-	100,0	98,7	100,0	98,7	100,0	98,7	98,7	98,7	98,7	98,7	100,0	100,0	100,0
162923/BRMT/96 (1)	99,5	100,0	-	98,7	100,0	98,7	100,0	98,7	98,7	98,7	98,7	98,7	100,0	100,0	100,0
172708/BRPA/98 (2)	99,1	99,5	99,5	-	98,7	97,5	98,7	97,5	97,5	97,5	97,5	97,5	98,7	98,7	98,7
21814/BR-PE/96	99,1	99,5	99,5	99,1	-	98,7	100,0	98,7	98,7	98,7	98,7	98,7	100,0	100,0	100,0
74488/BR-PE/01	99,1	99,5	99,5	99,1	99,1	-	98,7	97,5	97,5	97,5	97,5	97,5	98,7	98,7	98,7
158615/BRPR/95 (3)	99,1	99,5	99,5	99,1	99,1	99,1	-	98,7	98,7	98,7	98,7	98,7	100,0	100,0	100,0
40604/BR-PE/97	98,7	99,1	99,1	98,7	98,7	98,7	98,7	-	97,5	97,5	97,5	97,5	98,7	98,7	98,7
47874/BR-PE/98	98,7	99,1	99,1	98,7	98,7	98,7	98,7	98,3	-	97,5	97,5	97,5	98,7	98,7	98,7
45847/BR-PE/98	98,7	99,1	99,1	98,7	98,7	98,7	98,7	98,3	98,3	-	100,0	100,0	98,7	98,7	98,7
63427/BR-PE/99	98,7	99,1	99,1	98,7	98,7	98,7	98,7	98,3	98,3	99,1	-	100,0	98,7	98,7	98,7
52082/BR-PE/98	98,7	99,1	99,1	98,7	98,7	98,7	98,7	98,3	98,3	99,1	99,1	-	98,7	98,7	98,7
SMRP01/BRSP-01 (4)	98,7	99,1	99,1	98,7	98,7	98,7	98,7	98,3	98,3	98,3	98,3	99,1	-	100,0	100,0
163743/BRRJ/96 (5)	99,1	99,5	99,5	99,1	99,1	99,1	99,1	98,7	98,7	98,7	98,7	98,7	99,5	-	100,0
28973HS/BRJ/88 (6)	97,5	97,9	97,9	97,5	97,5	97,5	97,5	97,0	97,0	97,0	97,0	97,0	97,9	98,3	-

Nota: NCBI Nº de acesso das cepas utilizadas para comparação: (1) AY159262; (2) AY159265; (3) AY159268; (4) AY159272; (5) AY159270; (6) M32908.

^a Percentual de identidade entre aminoácidos (negrito), determinado usando BLAST; ^b Percentual de identidade entre nucleotídeos, determinado usando BLAST. Na cor azul estão representados isolados do estado de Pernambuco.

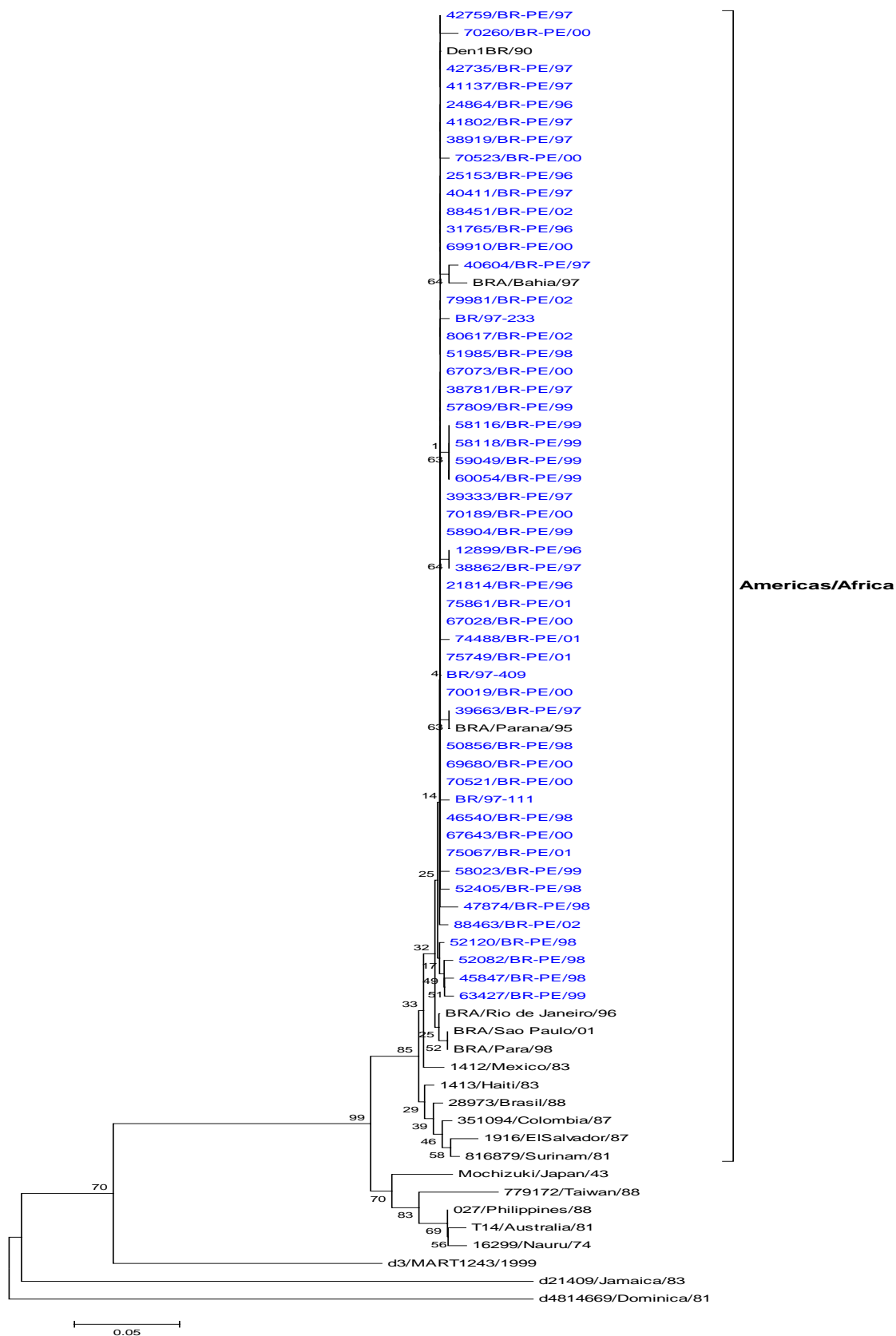


Figura 1 - Análise filogenética de cepas de DENV-1 baseada na seqüência da junção dos genes E/NS1 de cinquenta cepas provenientes do estado de Pernambuco (1996-2002) (em azul), através do método de *neighbor-joining*, modelo Tajima Nei e *bootstrap* de 1000 pseudoréplicas. Representantes de DENV-2, DENV-3 e DENV-4 foram utilizadas como grupos externos.

Em outros países da América do Sul, como Paraguai, Argentina, Colômbia, Peru e Venezuela as amostras de DENV-2 pertencem ao mesmo genótipo que circula no Brasil como demonstrado por vários estudos (RICO-HESSE et al.,1997; AVILÉS et al, 2002; 2003; BARRERO; MISTCHENKO, 2004).

Este genótipo é considerado de grande impacto epidemiológico, e segundo Gonçalves et al. (2002), com o potencial de causar a febre hemorrágica da dengue. Entretanto, se faz necessário um estudo completo e sistemático das amostras isoladas de DENV-1, para que se possa realmente estabelecer uma ligação entre determinados genótipos e a virulência desse vírus (RICO-HESSE, 2003).

Diferentemente do que se observa no Brasil, pode ocorrer circulação de múltiplos genótipos de cada sorotipo, como nos países Asiáticos. Amostras de DENV-1 que foram isoladas na Tailândia, durante um período de 30 anos, analisadas por Zhang et al (2005), pertenciam a dois genótipos: genótipo I, de origem Asiática e ao genótipo III, que congregava cepas de origem geográfica mais cosmopolita, incluindo vírus provenientes da Ásia, inclusive Tailândia, da África e das Américas.

Surto de dengue ocorridos no Pacífico, durante os anos de 2000 a 2003, foram causados pela introdução de diferentes genótipos do DENV-1 oriundos de vários países da Ásia. Curiosamente, apesar da existência dos quatro sorotipos do vírus na Ásia, apenas o DENV-1 circulou na região do Pacífico (NUEGOONPIPAT, et al., 2004).

Na Polinésia Francesa, as amostras de DENV-1 que foram isoladas nas epidemias ocorridas nos anos 1988 e 1989 pertenciam ao genótipo **Américas/África**, porém a introdução do genótipo do **Sudeste da Ásia**, em 2002, levou à ocorrência de febre hemorrágica da dengue em 45% dos casos, principalmente em crianças, sendo hospitalizadas 1.400 crianças, com 8 óbitos (LAILLE; ROCHE, 2004).

Fatores relacionados ao hospedeiro são também admitidos para a ocorrência de casos graves de dengue. Durante as epidemias ocorridas em Pernambuco foram observados casos de dengue clássica, casos de dengue hemorrágica e casos com manifestações neurológicas. A comparação de cepas de DENV-1 de Pernambuco isoladas em 1997 provenientes de caso de dengue hemorrágica e de casos de dengue clássica apresenta seqüências idênticas (DUARTE DOS SANTOS, et al, 2002).

Em Myanmar, no Sudeste da Ásia onde circulam de forma endêmica, os quatro sorotipos do dengue, em 2001 o DENV-1 se sobrepôs aos demais sorotipos e foi responsável pelo maior surto de FHD/SCD até então registrado. A análise filogenética de amostras isoladas dessa epidemia constatou que o genótipo ancestral do DENV-1 que havia circulado

antes do ano 1998 tinha desaparecido e dois novos grupos genéticos identificados co-circularam na epidemia de 2001 (THU et al., 2004).

Dessa forma, é possível constatar que qualquer sorotipo dos vírus dengue, inclusive o DENV-1, pode causar dengue hemorrágica ou outras manifestações atípicas, como as neurológicas e hepatite.

Em 1986, durante a epidemia ocorrida no Rio de Janeiro, o DENV-1 foi isolado de fragmentos de fígado de um caso de óbito por dengue (NOGUEIRA et al., 1988) e antígeno viral foi demonstrado em casos de envolvimento do sistema nervoso central (MIAGOSTOVICH et al., 1997).

7.2 Caracterização molecular do Dengue-2

O DENV-2 é um dos sorotipos mais bem estudados, através dos vários métodos moleculares disponíveis, principalmente devido a sua associação com as freqüentes epidemias e com a ocorrência de dengue hemorrágica. No Sudeste da Ásia, as primeiras descrições detalhadas sobre a doença e sobre as epidemias de dengue foram às relacionadas com esse sorotipo (BURKE et al, 1988).

Nas Américas, a introdução de um novo genótipo de DENV-2, foi associada à primeira epidemia de febre hemorrágica da dengue ocorrida em Cuba em 1981 (GUZMAN et al, 1990). Rico-Hesse (1990), analisando uma região de 240 pares de base na junção E/NS1 de quarenta cepas originárias de vários países, classificou cinco genótipos para o DENV-2. Nesse estudo, foi sugerida a provável rota de migração do DENV-2 na década de 80, do Sri-Lanka para as ilhas Seichelles, em seguida para a África oriental e finalmente para o oeste africano. Ficou evidenciado o papel insignificante do ciclo silvestre do DENV-2 nas epidemias urbanas africanas. A autora sugere a origem vietnamita do DENV-2 que causou a epidemia cubana de dengue hemorrágica em 1981, trazido por militares cubanos ao regressar do Vietnã, no sudeste asiático (RICO-HESSE, 1990).

Para o DENV-2, também não há uniformidade na classificação e denominação dos genótipos deste sorotipo. Lewis et al. (1993) identificaram cinco genótipos para este sorotipo através do seqüenciamento do gene que codifica a proteína E, e que correspondiam aos genótipos propostos por Rico-Hesse (1990). Entretanto, após a análise de um maior número de amostras, especialmente originárias do sudeste asiático, Rico-Hesse et al (1998) agruparam

os genótipos, Americano/Asiático e Sudeste Asiático, em um único denominado **Ásia/América-Ásia**.

As análises filogenéticas de seqüências do gene da proteína E de 147 amostras de DENV-2 realizadas por Twiddy et al. (2002), levaram à identificação de cinco genótipos distintos: Americano, Americano/Asiático, Asiático 1, Asiático 2 e o Cosmopolita.

Nesse estudo, será utilizada a classificação baseada na análise do gene E sugerida por Rico-Hesse (2003), que considera para o DENV-2 quatro genótipos: **África Ocidental, Américas, Sudeste da Ásia e Malásia/Índia Subcontinental**.

Para a caracterização molecular dos DENV-2 que circularam no estado de Pernambuco, entre 1995 e 2002, foram analisadas quarenta amostras, isoladas em cultura de células, clone C6/36. Para esta análise, foi seqüenciada uma região de 240 pares de base na junção E/NS1 do genoma. Para amplificação e seqüenciamento dos produtos da RT-PCR, foram utilizados os *primers*, D2 – 2170 e D2 – 2578 (RICO-HESSE et al (1997).

As quarenta amostras de DENV-2, selecionadas para este estudo, foram isoladas de pacientes com dengue clássica e dengue hemorrágica residentes em municípios localizados nas diferentes regiões geográficas de Pernambuco, em diferentes anos epidêmicos e/ou endêmicos (Tabela 5).

As seqüências nucleotídicas determinadas neste estudo foram depositadas no GenBank (NCBI) e os respectivos números de acesso apresentados na Tabela 5.

Para definir o genótipo do DENV-2 que circulou no estado de Pernambuco, durante o período de oito anos (1995 a 2002), foi realizada a análise filogenética desse sorotipo, juntamente com seqüências genômicas de amostras de DENV-2 de outros estados brasileiros, assim como de outros países, disponíveis no GenBank (NCBI). Seqüências de DENV-1, DENV-3 e DENV-4 foram utilizadas na análise como grupos externos (Tabela 6).

A árvore filogenética do DENV-2 foi gerada pelo método “Neighbor-joining”, modelo Tajima Nei, com um “*bootstrap*” de 1000 pseudoréplicas (Figura 2).

Tabela 5 - Amostras de DENV-2 isoladas em Pernambuco nos anos de 1995 a 2002, analisadas através do seqüenciamento de uma região de 240 pares de base da junção dos genes E/NS1.

Nome da Amostra*	Isolamento Ano/Mês	Localização Município	Nº de acesso GenBank
3278/BR-PE/95	1995/3	Recife	EU259565
3311/ BR-PE/95	1995/3	Recife	EU259566
3337/BR-PE/95	1995/3	Recife	EU259567
3785/BR-PE/95	1995/4	Recife	EU259568
3808/BR-PE/95	1995/4	Recife	EU259569
7642/BR-PE/95	1995/5	Recife	EU259570
13856/BR-PE/95	1996/3	Olinda	EU259571
13866/BR-PE/96	1996/3	Recife	EU259572
13869/BR-PE/96	1996/3	Jaboatão	EU259573
13969/BR-PE/96	1996/3	Recife	EU259574
31024/BR-PE/96	1996/12	Jaboatão	EU259575
31353/BR-PE/96	1996/12	Itambé	EU259576
31357/BR-PE/96	1996/12	Itambé	EU259577
32938/BR-PE/97	1997/1	Jaboatão	EU259578
33473/BR-PE/97	1997/1	Jaboatão	EU259579
38574/BR-PE/97	1997/3	Arcoverde	EU259580
38726/BR-PE/97	1997/3	Arcoverde	EU259581
46437/BR-PE/98	1998/3	Sertânia	EU259582
47913/BR-PE/98	1998/3	Riacho das Almas	EU259583
48246/BR-PE/98	1998/4	Cabo de Santo Agostinho	EU259584
49444/BR-PE/98	1998/4	Recife	EU259585
51248/BR-PE/98	1998/3	Recife	EU259586
51250/BR-PE/98	1998/3	Recife	EU259587
51347/BR-PE/98	1998/5	Recife	EU259588
57135/BR-PE/99	1999/1	Araripina	EU259589
59367/BR-PE/99	1999/4	Mirandiba	EU259590
59731/BR-PE/99	1999/4	Petrolina	EU259591
59998/BR-PE/99	1999/4	Carpina	EU259592
62425/BR-PE/99	1999/7	Mirandiba	EU259593
72174/BR-PE/00	2000/6	Petrolina	EU259584
72184/BR-PE/00	2000/6	Petrolina	EU259595
72322/BR-PE/00	2000/7	Floresta	EU259596
76862/BR-PE/01	2001/5	Canhotinho	EU259597
77526/BR-PE/01	2001/5	Mirandiba	EU259598
77754/BR-PE/01	2001/5	Petrolina	EU259599
87086/BR-PE/02	2002/1	Floresta	EU259600
87116/BR-PE/02	2002/2	Floresta	EU259601
87301/BR-PE/02	2002/2	Floresta	EU259602
91863/BR-PE/02	2002/3	Floresta	EU259603
92265/BR-PE/02	2002/4	Iguaraci	EU259604

Nota: * Nome da amostra baseada na identificação no LACEN-PE, estado e ano de isolamento.

Tabela 6 Amostras de DENV-2 e dos grupos externos (DENV-1, DENV-3, DENV-4) obtidas no GenBank para análise filogenética.

Nome da Cepa	Nº acesso GenBank	Localização	Ano	Referência
BRA/Pará/98	AY277245	Brasil, Pará	1998	Pires Neto et al., 2005
BR61321/RJ/98	AF529070	Brasil, Rio de Janeiro	1998	Miagostovich et al., 2003
BRA/MatoGrosso/97	AY159276	Brasil, Mato Grosso	1997	Pires Neto et al., 2005
BR52582/ES/95	AF529068	Brasil, Espírito Santo	1995	Miagostovich et al., 2002
BR64905/RJ/99	AF529075	Brasil, Rio de Janeiro	1999	Miagostovich et al., 2002
BR51502/BA/95	AF529066	Brasil, Bahia	1995	Miagostovich et al., 2002
41576/BRAZ90	U91863	Brasil, Rio de Janeiro	1990	Rico-Hesse et al, 1998
39056/BRAZ90	U91859	Brasil	1990	Rico-Hesse et al., 1998
38998/BRAZ90	U91860	Brasil	1990	Rico-Hesse et al, 1997
H506525/BRAZ91	U91867	Brasil	1991	Rico-Hesse et al., 1997
39325/RJ/90	AF529065	Brasil, Rio de Janeiro	1990	Miagostovich et al., 2002
BR66985/RJ/00	AF529078	Brasil, Rio de Janeiro	2000	Miagostovich et al., 2003
57S/Vietnam/87	M32948	Vietnam	1987	Rico-Hesse, 1990
Martinique/98-703	AF208496	Martinica	1998	Tolou, 2000
DR23/01/Rep Dominicana	AB122020	Rep.Dominicana	2001	Anzai, 2004
1409/Jamaica/83	M20558	Jamaica	1983	Deubel et al, 1988
Mara4/Venezuela	AF100466	Venezuela	1994	Leitmeyer et al, 1999
766635/Taiwan/87	M32949	Taiwan	1987	Rico-Hesse, 1990
028/Philippines/88	M32932	Filipinas	1988	Rico-Hesse, 1990
New Guinea C/44	M29095	Nova Guiné	1944	Putnak et al, 1988
ThNH-7/Thailand/93	AF022434	Tailândia	1993	Mangada; Igarashi, 1997
ThD2/0078/01/Thailand	DQ181797	Tailândia	2001	Zhang et al, 2006
MM-2 872/87/Myanmar	D44547	Myanmar	1987	Thant et al, 1995
ThD2/0038/74/Thailand	DQ181806	Tailândia	1974	Zhang et al, 2006
PR15951/Puerto Rico/69	M32968	Porto Rico	1969	Rico-Hesse, 1990
Ven2/Venezuela/87	AF100465	Venezuela	1987	Leitmeyer et al, 1999
IQT2913/Peru/1996	AF100468	Peru	1996	Leitmeyer et al, 1999
d1A88/Indonésia/88	AB074761	Indonésia	1988	Ishak et al, 2001
d3H87/Philippines/56	M93130	Filipinas	1956	Osatomi , 1990
d4 814669/Dominica/81	M14931	Dominica	1981	Zhao et al, 1986

Nota: Sequências obtidas no GenBank ; Grupos externos em negrito.

A análise das seqüências nucleotídicas das cepas de DENV-2, isoladas em Pernambuco, no período estudado, revelou mutações silenciosas, principalmente no terceiro códon, bem como substituição de aminoácidos em oito amostras, conforme detalhado na Tabela 7.

Quando comparadas com a seqüência nucleotídica de uma amostra de DENV-2, isolada no Rio de Janeiro, em 1990 (39056BRAZ 90), (RICO-HESSE et al., 1998), foram observadas substituições de aminoácidos, entre resíduos da mesma classe, em seis amostras e substituições de aminoácidos de classes diferentes, em dois isolados.

Em duas amostras isoladas em 1995, e em quatro de 1996, na posição NS1 (nt) 825 do genoma, substituições entre aminoácidos hidrofóbicos apolares foram observadas. Contudo, substituições de aminoácidos de diferentes classes, hidrofílicos e hidrofóbicos, também foram observadas (Tabela 7).

As substituições de aminoácidos foram observadas na proteína NS1, porém esse tipo de mutação não altera as funções biológicas da proteína e possivelmente representam a evolução *in situ* dessas cepas.

As seqüências nucleotídicas das quarenta amostras de DENV-2, isoladas em Pernambuco, apresentaram entre si, uma similaridade de 98,7% entre os nucleotídeos (nt) e de 98,7% entre os aminoácidos (aa); entre as amostras de Pernambuco e amostras do estado do Rio de Janeiro, a similaridade foi 97,9% (nt) e de 96,2% (aa) (Tabela 8). Nem sempre se observa 100% de similaridade seja nucleotídeos ou aminoácidos entre isolados virais do mesmo sorotipo, até mesmo entre amostras isoladas no mesmo ano e local.

A amostra considerada como referência para essa análise, isolada no Rio de Janeiro em 1990 (39056BR90), apresentou uma similaridade de 95,4% (nt) com as amostras de Pernambuco isoladas nos anos 1995 e 1996. Entre a amostra do Rio de Janeiro, de 2000, e uma isolada em Pernambuco (72174BR-PE/00), no mesmo ano, a similaridade observada foi de 96,2% (nt) (Tabela 8).

As amostras de DENV-2 isoladas em Pernambuco analisadas neste estudo juntamente com outras cepas de DENV-2 do Brasil e cepas de países das Américas, Caribe e Ásia formaram filogeneticamente um único grupo correspondente ao genótipo **Sudeste da Ásia** (RICO-HESSE, 2003) (Figura 2). Este genótipo é originário do Sudeste da Ásia e está fortemente associado às epidemias de dengue com ocorrência de grande número de casos de dengue hemorrágica. Segundo Rico-Hesse (2003), este genótipo possui um grande impacto epidemiológico e quando introduzido em uma região, geralmente se sobrepõe aos demais genótipos deste sorotipo.

No Brasil, o DENV-2 que foi introduzido em 1990, no Rio de Janeiro, pertence a esse genótipo e estudos evidenciaram que o sorotipo 2 introduzido no Brasil, Colômbia, Venezuela e México, possuem um progenitor em comum com isolados do Sudeste da Ásia, sugerindo a direção da transmissão, do Sudeste Asiático para as Américas (RICO-HESSE et al., 1997).

O seqüenciamento completo de uma amostra de DENV-2 (BR64022/98) isolada no Rio de Janeiro, realizado por dos Santos et al. (2002), apresentou maior proximidade com as cepas Americanas/Asiáticas (98% nt, 97% aa), seguida pelas cepas do Sudeste asiático (92% nt, 97% aa).

Todas as substituições de aminoácidos usadas para diferenciar o genótipo do Sudeste Asiático, do genótipo nativo Americano, foram observadas nesta cepa, confirmando a origem asiática da amostra brasileira (dos SANTOS et al., 2002).

Da mesma forma que o DENV-1, um único genótipo do DENV-2 encontra-se em circulação no país, até o momento. Nossos resultados estão de acordo com estudos que envolvem amostras de outros estados brasileiros (PIRES NETO et al., 2005; MIAGOSTOVICH et al., 1998).

Rico-Hesse et al. (1997), em estudo que incluiu entre as amostras analisadas de DENV-2 cepas brasileiras, caracterizaram estas últimas como pertencente ao genótipo **Sudeste da Ásia**. Amostras de DENV-2 isoladas no estado do Rio de Janeiro em 1990 e 1995, amostras do Ceará (1994) e da Bahia (1994), analisadas por Miagostovich et al., (1998), foram associadas também a este genótipo.

Amostras de DENV-2 oriundas dos estados do Maranhão (1996 e 1998), Mato Grosso (1997), Bahia (1999), Paraíba (1999), Sergipe (1999), Pará (1998), Espírito Santo (1995, 2000) e Rio Grande do Norte (1998) e que foram analisadas por Pires Neto et al., (2005), confirmam este mesmo genótipo.

Nas Américas os primeiros casos de dengue hemorrágica só ocorreram após a introdução do genótipo Sudeste da Ásia na epidemia de Cuba (1981), cuja virulência é maior do que o genótipo nativo das Américas (LEITMEYER et al., 1999; RICO-HESSE et al., 1997).

Tabela 7 - Substituição de aminoácidos na região da junção dos genes E/NS1 de cepas de DENV-2 isoladas no estado de Pernambuco, 1995-2002.

Posição Genoma (aa) BR64022*	Gene	39056 BRAZ 90#	3278/ BR- PE/95	7642/ BR- PE/95	13856/ BR- PE/96	13866/ BR- PE/96	13869/ BR- PE/96	13969/ BR- PE/96	31353/ BR- PE/96	38574/ BR- PE/97	77526/ BR- PE/01	87086/ BR- PE/02
770	E	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
780	NS1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
802	NS1	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
815	NS1	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
816	NS1	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
817	NS1	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
822	NS1	G	G	G	G	G	G	G	G	G	V	G
825	NS1	I	M	M	M	M	M	M	I	I	I	I
836	NS1	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
841	NS1	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	L	Q	Q	Q

Nota: *Genoma completo de DENV-2 utilizado como referência para posição no genoma: BR64022 (AF489932), Dos Santos et al (2002).

Cepa DENV-2 (E/NS1), isolada em 1990 (Brasil) utilizada para comparação (U91859), Rico-Hesse et al.(1998).

E/NS1 – Posição no genoma: 2311-2550 (nucleotídeos); Aminoácidos divergentes da amostra de referência em vermelho.

Legenda: (aa) = Aminoácidos; I = Isoleucina; N = Asparagina; A = Alanina; K = Lisina; G = Glicina; E = Ácido glutâmico; Q = Glutamina; M = Metionina; L = Leucina; V = Valina.

Tabela 8 - Identidade entre seqüências de cepas de DENV-2 isoladas no estado de Pernambuco e em outros Estados da Federação.

	13869/	13969/	13866/	13856	7642/	3278/	32938/	57135/	46437/		72174/	87086/		76862/		31353/		
	BR- PE/96	BR- PE/96	BR- PE/96	BR- PE/96	BR- PE/95	BR- PE/95	BR- PE/97	BR- PE/99	BR- PE/98	H506525 BR91	39056 BR90	BR- PE/00	BR- PE/02	BR64905 RJ/99	BR- PE/01	BR66985 RJ/00	BR- PE/96	
13869/BR-PE/96	-	^a 100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	98,7	98,7	98,7	97,5	98,7	98,7	98,7	92,5	98,7	93,7	97,5	
13969/BR-PE/96	^b 100,0	-	100,0	100,0	100,0	100,0	98,7	98,7	98,7	97,5	98,7	98,7	98,7	92,5	98,7	93,7	97,5	
13866/BR-PE/96	100,0	100,0	-	100,0	100,0	100,0	98,7	98,7	98,7	97,5	98,7	98,7	98,7	92,5	98,7	93,7	97,5	
13856/BR-PE/96	100,0	100,0	100,0	-	100,0	100,0	98,7	98,7	98,7	97,5	98,7	98,7	98,7	92,5	98,7	93,7	97,5	
7642/BR-PE/95	100,0	100,0	100,0	100,0	-	100,0	98,7	98,7	98,7	97,5	98,7	98,7	98,7	92,5	98,7	93,7	97,5	
3278/BR-PE/95	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	-	98,7	98,7	98,7	97,5	98,7	98,7	98,7	92,5	98,7	93,7	97,5	
32938/BR-PE/97	99,5	99,5	99,5	99,5	99,5	99,5	-	100,0	100,0	98,7	100,0	100,0	100,0	93,7	100,0	95,0	98,7	
57135/BR-PE/99	99,1	99,1	99,1	99,1	99,1	99,1	99,5	-	100,0	98,7	100,0	100,0	100,0	93,7	100,0	95,0	98,7	
46437/BR-PE/98	99,5	99,5	99,5	99,5	99,5	99,5	100,0	99,5	-	98,7	100,0	100,0	100,0	93,7	100,0	95,0	98,7	
H506525/BR91 (1)	95,8	95,8	95,8	95,8	95,8	95,8	96,2	95,8	96,2	-	98,7	98,7	98,7	92,5	98,7	93,7	97,5	
39056/BR90 (2)	98,8	95,8	95,8	95,8	95,8	95,8	96,2	95,8	96,2	99,1	-	100,0	100,0	93,7	100,0	95,0	98,7	
72174/BR-PE/00	97,9	97,9	97,9	97,9	97,9	97,9	97,9	97,9	97,9	95,0	95,8	-	100,0	93,7	100,0	95,5	98,7	
87086/BR-PE/02	97,9	97,9	97,9	97,9	97,9	97,9	97,9	97,9	97,9	95,0	95,8	100,0	-	93,7	100,0	95,0	98,7	
BR64905/RJ/99 (3)	96,2	96,2	96,2	96,2	96,2	96,2	96,2	95,8	96,2	93,3	93,3	97,5	97,5	-	93,7	91,2	93,7	
76862/BR-PE/01	97,9	97,9	97,9	97,9	97,9	97,9	97,9	97,9	97,9	95,8	96,6	99,1	99,1	96,6	-	95,0	98,7	
BR66985/RJ/00 (4)	95,8	95,8	95,8	95,8	95,8	95,8	95,8	95,8	95,4	95,8	92,9	92,9	96,2	96,2	95,0	96,2	-	93,7
31353/BR-PE/96	98,3	98,3	98,3	98,3	98,3	98,3	98,3	97,9	98,3	95,4	95,4	98,7	98,7	97,5	98,7	96,6	-	

Nota: Número de acesso das cepas utilizadas para comparação: (1) U91867; (2) U91859; (3) AF29075; (4) AF529078.

^a Percentual de identidade entre aminoácidos (negrito), determinado usando BLAST; ^b Percentual de identidade entre nucleotídeos, determinado usando BLAST. Isolados de Pernambuco estão representados na cor azul.

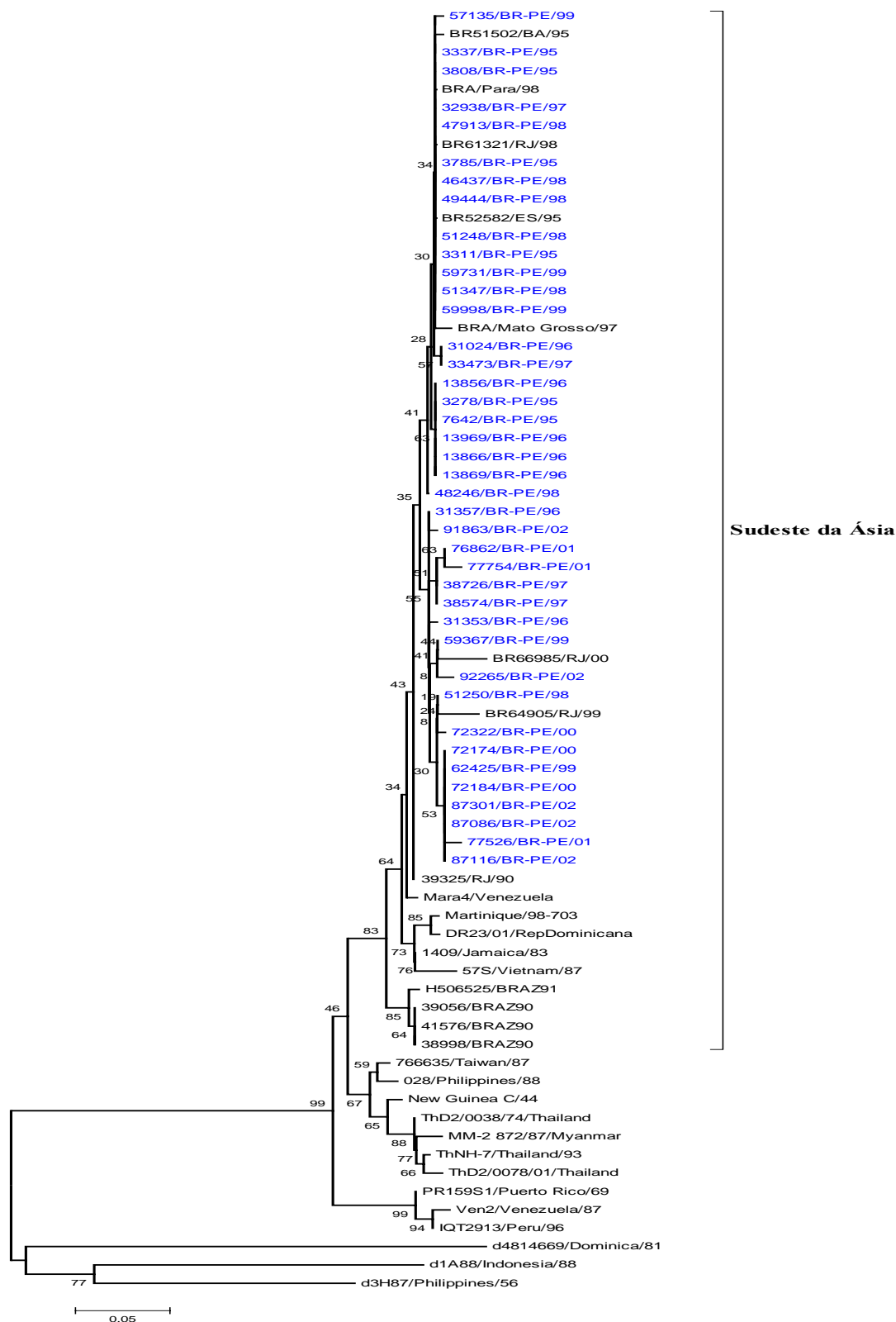


Figura 2 - Análise filogenética de cepas de DENV-2 baseada na seqüência da junção dos genes E/NS1 de quarenta cepas provenientes do estado de Pernambuco (1995-2002) (em azul), através do método de *neighbor-joining*, modelo Tajima Nei e *bootstrap* de 1000 pseudoréplicas. Representantes de DENV-1, DENV-3 e DENV-4 foram utilizadas como grupos externos.

Um outro exemplo que corrobora a importância de fatores virais para a ocorrência de casos graves vem dos estudos epidemiológicos realizados no Peru. Durante um período de quatro anos não houve registro de casos de dengue hemorrágica, apesar de 75% dos casos serem de infecção secundária. Provavelmente porque somente o genótipo Americano estava circulando no país (WATTS et al., 1999). A introdução do genótipo Sudeste da Ásia (RICO-HESSE, 2003) de grande impacto epidemiológico é preocupante porque poderá alterar a epidemiologia do dengue no Peru.

Na Venezuela entre 1993 e 1997 o genótipo Americano foi responsável por epidemias de dengue clássica. Entretanto, segundo Uzcategui et al. (2001), após a entrada do genótipo Sudeste Asiático no país, ocorreu importantes epidemias, inclusive com grande número de casos de dengue hemorrágica.

Em resumo admite-se que dois genótipos circulam nas Américas e Caribe. Alguns países com dois genótipos circulantes como, por exemplo, Trinidad, El Salvador, Honduras, Venezuela, Peru, México (FOSTER et al., 2004) e outros como Brasil, Bolívia, Equador, Suriname, República Dominicana e Porto Rico e Cuba com apenas um genótipo (MIAGOSTOVICH et al., 1998; UZCATEGUI et al., 2001; RODRIGUEZ-ROCHE, et al. 2005a; LORONO-PINO et al., 2004; FOSTER et al., 2004).

Como em nosso estudo um número significativo de amostras de DENV-2 foi analisado molecularmente, em um período de sete anos entre 1995 a 2002 no mesmo estado e em diferentes municípios, os resultados encontrados confirmam a existência de um único genótipo do DENV-2 em circulação no país, até o momento. Entretanto, é importante o monitoramento dos genótipos, para detectar a eventual entrada e dispersão de novos grupos genéticos.

7.3 Caracterização molecular do Dengue-3

Nas duas últimas décadas, o sorotipo 3 dos vírus dengue tem causado epidemias de febre hemorrágica da dengue no Sri Lanka, leste da África e América Latina (MESSER et al., 2003). Com relação à interpretação filogenética do dengue-3, ela é mais complexa porque as distâncias ou divergências entre os grupos genéticos são bem menores do que as observadas nos sorotipos 1 e 2 (RICO-HESSE, 2003).

A análise filogenética realizada por Lanciotti et al. (1994) baseada na análise da sequência nucleotídica do gene E distinguiu quatro grupos genéticos distintos para o DENV-3: Indonésia, Malásia, Filipinas e ilhas do Pacífico Sul (genótipo I), Tailândia (genótipo II), Sri-Lanka, Índia, África e Samoa (genótipo III), Porto Rico e Tahiti (genótipo IV).

Esta classificação do DENV-3 permanece inalterada, e a maioria dos genótipos pode ser identificada pela sua origem geográfica, como ocorre com os genótipos do DENV-1 e DENV-2. Mais recentemente, Rico-Hesse (2003) analisando a mesma região descreveu quatro genótipos para o DENV-3: **Sudeste da Ásia/Pacífico Sul, Tailândia, Índia Subcontinental e Américas.**

O DENV-3 que foi introduzido no Brasil, no ano 2000 (NOGUEIRA et al., 2001), foi responsável pelo maior número de casos de dengue até então registrado no país (SIQUEIRA et al., 2005). Em Pernambuco, a maior epidemia de dengue também se deve a este sorotipo (CORDEIRO et al., 2007).

Para a caracterização molecular de amostras de DENV-3 isoladas no estado, foram selecionadas quatro amostras, duas de casos de dengue clássica e duas de casos de febre hemorrágica da dengue. As amostras de DENV-3 pertencem ao banco de vírus do Laboratório de Virologia do LACEN-PE, obtidas de casos durante a epidemia de 2002 (85460/BR-PE/02 e 85469/BR-PE/02) (81257/BR-PE/02) e um caso de 2003 (101874/BR-PE/03) (Tabela 9).

Para o sequenciamento das amostras de DENV-3 foram utilizados *primers* desenhados para amplificar fragmentos sobrepostos de aproximadamente 500 pares de base ao longo da sequência dos genes que codificam as proteínas prM, M e E (MIAGOSTOVICH et al, 2006).

As seqüências nucleotídicas determinadas neste estudo foram depositadas no GenBank (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), números de acesso estão apresentados na Tabela 9.

Para a análise filogenética dos DENV-3 foram utilizadas seqüências genômicas de cepas de outros estados brasileiros, assim como de outros países, para fins de comparação com as amostras de Pernambuco. As seqüências genômicas de DENV-3 de outros estados

foram provenientes do Laboratório de Flavivírus do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), Fiocruz, Rio de Janeiro. Sequências de DENV-1, DENV-2 e DENV-4 foram utilizadas como grupos externos (Tabela 10).

Tabela 9 - Amostras de DENV-3 isoladas em Pernambuco nos anos de 2002 e 2003 analisadas através do seqüenciamento dos genes prM, M e E

Nome da Amostra	Isolamento Ano/Mês	Localização Município	Clínica	Nº de acesso GenBank
81257/BR-PE/02	2002/2	Recife	FHD	EU259605
85460/ BR-PE/02	2002/2	Recife	DC	EU259606
85469/BR-PE/02	2002/2	Recife	DC	EU259607
101874/BR-PE/03	2003/2	Camaraçibe	FHD	EU259608

Nota: Amostras do Banco de vírus do LACEN-PE

Os resultados obtidos com a análise das seqüências genômicas, das amostras de DENV-3 de Pernambuco, estão apresentados nas Tabelas 11 e 12. As análises das seqüências genômicas das regiões prM, M e E dessas amostras, revelaram mutações silenciosas nos nucleotídeos, assim como mutações que levaram à substituição de aminoácidos, principalmente no gene que codifica a proteína E (Tabela 11). As seqüências genômicas das amostras de Pernambuco foram comparadas com seqüências genômicas de DENV-3 isolados ao longo de vários anos no estado do Rio de Janeiro.

As substituições em E399 (Q→P), E556 (Q→P) e E630 (T→V) observadas na cepa BR/RJ/68784/00, não foram detectadas nas demais cepas, do Rio de Janeiro e de Pernambuco (Tabela 11). As seqüências genômicas deduzidas de aminoácidos, revelaram substituições entre aminoácidos não conservados, da mesma classe: na posição prM176 (I→N) em duas amostras de Pernambuco; na posição E630 (V→I) nos quatro isolados de Pernambuco e em três cepas do Rio de Janeiro nas posições E635 e E701 (K→R).

Substituições entre aminoácidos de classes diferentes foram detectadas em (T→P) apenas no isolado 85469/BR-PE/02, em E399 e E556 (P→Q), nas quatro amostras isoladas e em E698 (N→H) em três amostras de Pernambuco, de 2002, e uma amostra do Rio de Janeiro, de 2006 (Tabela 11).

As substituições de aminoácidos ocorreram, na sua maioria, no gene que codifica a proteína E, principal proteína estrutural do genoma viral, responsável por importantes atividades biológicas do ciclo viral, entre elas, a interação com receptores celulares do hospedeiro, além de ser o principal alvo dos anticorpos neutralizantes (CHANG, 1997).

Tabela 10 - Sequências genômicas de DENV-3 e grupos externos (DENV-1, DENV-2 e DENV-4) obtidas no GenBank e sequências de outros isolados do Brasil, para comparação com as amostras de Pernambuco e utilizadas na análise filogenética

País/Amostra	Ano	Nº de acesso GenBank	Referência
Sri Lanka	1981	L11431	Lanciotti et al, 1994
Sri Lanka	1985	L11436	Lanciotti et al, 1994
Samoa	1986	L11435	Lanciotti et al, 1994
India	1984	L11424	Lanciotti et al, 1994
Sri Lanka	2000	AY099336	Peyrefitte et al, 2003
Sri Lanka	1989	L11437	Lanciotti et al, 1994
Sri Lanka	1991	L11438	Lanciotti et al, 1994
Martinique	1999	AY099337	Peyrefitte et al, 2003
Mozambique	1985	L11430	Lanciotti et al, 1994
Thailand	1987	L11442	Lanciotti et al, 1994
Thailand	1986	L11441	Lanciotti et al, 1994
Thailand	1973	L11620	Lanciotti et al, 1994
Thailand	1962	L11440	Lanciotti et al, 1994
Philippines	1956	L11423	Lanciotti et al, 1994
Philippines	1983	L11432	Lanciotti et al, 1994
Indonésia	1985	L11428	Lanciotti et al, 1994
Indonésia	1978	L11426	Lanciotti et al, 1994
Indonésia	1973	L11425	Lanciotti et al, 1994
Tahiti	1989	L11619	Lanciotti et al, 1994
Tahiti	1965	L11439	Lanciotti et al, 1994
Fiji	1992	L11422	Lanciotti et al, 1994
Puerto Rico	1963	L11433	Lanciotti et al, 1994
Puerto Rico	1977	L11434	Lanciotti et al, 1994
Malaysia	1974	L11429	Lanciotti et al, 1994
BR/RJ/68784/00	2000	AY038605	Miagostovich et al., 2001
BR/RJ/74886/02	2002	AY679147	Miagostovich et al., 2006
BR/RJ/78670/04	2004	#	#
BR/ES/78668/04	2004	#	#
BR/ES/77433/03	2003	#	#
BR/RJ/82790/06	2006	#	#
BR/RJ/79941/05	2005	#	#
BR/ES/79950/05	2005	#	#
BR/GO/80940/06	2006	#	#
BR/RJ/82627/06	2006	#	#
BR/RJ/81286/06	2006	#	#
BR/RJ/72772/01	2001	#	#
BR/RJ/77711/03	2003	#	#
D1Japan/03	2003	AB195673	Nukui et al, 2006
D2/Dominica Republic/01	2001	AB122021	Anzai et al, 2004
D4/Dominica/81	1981	AF326573	Durbin et al, 2001

Nota: Sequências genômicas obtidas do GenBank. (NCBI)

Sequências genômicas de isolados de DENV-3 (ainda não submetidas ao GenBank) cedidas do banco de sequências do Laboratório de Flavivírus do Instituto Oswaldo Cruz / Fiocruz.

Tabela 11 - Substituição de aminoácidos na região prM / M / E de cepas de DENV-3 isoladas no estado de Pernambuco em 2002 e 2003, comparadas com isolados no estado do Rio de Janeiro.

Posição Genoma (aa) Mart/1999*	Gene	BR/RJ/ 68784/00 #	BR/RJ/ 72772/01	81257 BR- PE/02	85469 BR- PE/02	85460 BR- PE/02	BR/RJ/ 74886/02 §	101874 BR- PE/03	BR/RJ/ 77711/03	BR/RJ/ 78670/04	BR/RJ/ 79941/05	BR/RJ 81286/06	BR/RJ/ 82627/06
150	prM	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
176	prM	I	N	N	N	I	N	I	N	N	N	N	N
231	M	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	H
265	M	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	I
344	E	T	T	T	P	T	T	T	T	T	T	T	T
399	E	P	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q
429	E	K	K	K	K	K	K	K	R	K	K	K	K
556	E	P	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q	Q
630	E	V	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I	I
635	E	K	K	R	R	R	K	K	K	K	K	K	R
690	E	I	I	I	I	I	I	I	I	T	I	I	I
693	E	N	N	N	N	N	K	N	K	K	K	N	N
698	E	N	N	H	H	H	N	N	N	N	N	N	H
701	E	K	K	R	R	R	R	K	R	R	R	R	R
769	E	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V	V

Nota: * Genoma completo de DENV-3 (Martinique 1999), utilizado como referência para posição no genoma (AY099337), Peyrefitte et al (2003).

Sequência genômica de DENV-3, Rio de Janeiro (2000), utilizada para comparação (AY038605), Miagostovich et al. (2001);

§ DENV-3 (AY679147) Miagostovich et al.(2006); Demais seqüências de DENV-3 do Rio de Janeiro cedidas do banco de seqüências do Laboratório de Flavivírus do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), Fiocruz.

Legenda: (aa) Aminoácidos; S = Serina; I = Isoleucina; R = Arginina; V = Valina; T = Treonina; P = Prolina; K = Lisina; N = Asparagina; Q = Glutamina;

H = Histidina; Posição no genoma (prM, M e E) = 437 – 2413;

Aminoácidos divergentes da amostra de referência estão em vermelho.

Seqüências genômicas de DENV-3 do estado de Pernambuco estão representadas na cor Azul.

Tabela 12 - Identidade entre seqüências genômicas de amostras de DENV-3 isoladas no estado de Pernambuco (2002-2003) e no estado do Rio de Janeiro.

	101874/ BR- PE/03	BR/RJ/ 72772/01	BR/RJ/ 68784/00	BR/RJ/ 78670/04	BR/RJ/ 74886/02	BR/RJ/ 77711/03	BR/RJ/ 79941/05	85469/ BR- PE/02	85460/ BR- PE/02	81257/ BR- PE/02	BR/RJ/ 82627/06
101874/BR-PE/03	-	^a 100,0	99,5	99,3	99,6	99,5	99,6	99,3	99,5	99,5	99,3
BR/RJ/72772/01 (*)	^b 99,8	-	99,5	99,3	99,6	99,5	99,6	99,3	99,5	99,5	99,3
BR/RJ/68784/00 (*)	99,2	99,3	-	98,9	99,2	99,0	99,2	98,9	99,0	99,0	98,9
BR/RJ/78670/04 (*)	99,1	99,1	98,6	-	99,6	99,5	99,6	99,0	99,2	99,2	99,0
BR/RJ/74886/02 (*)	99,5	99,5	99,0	99,3	-	99,8	100,0	99,3	99,5	99,5	99,3
BR/RJ/77711/03 (*)	99,2	99,3	98,7	99,2	99,6	-	99,8	99,2	99,3	99,3	99,2
BR/RJ/79941/05 (*)	99,1	99,2	98,6	99,1	99,4	99,2	-	99,3	99,5	99,5	99,3
85469/BR-PE/02	99,1	99,1	98,6	98,8	99,1	99,0	99,0	-	99,8	99,8	99,6
85460/BR-PE/02	99,1	99,2	98,7	98,9	99,2	99,0	99,0	99,9	-	100,0	99,8
81257/BR-PE/02	99,2	99,3	98,8	99,0	99,3	99,1	99,1	99,7	99,7	-	99,8
BR/RJ/82627/06 (*)	99,0	99,0	98,5	98,7	99,0	99,0	99,0	99,4	99,5	99,6	-

Nota: (*) Seqüências genômicas de isolados do Rio de Janeiro, utilizadas para comparação (não publicadas), cedidas do banco de seqüências do Laboratório de Flavivírus do Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz;

^a Percentual de identidade entre aminoácidos (negrito), determinado usando BLAST; ^b Percentual de identidade entre nucleotídeos, determinado usando BLAST. Seqüências genômicas de DENV-3 das amostras de Pernambuco estão representadas na cor azul.

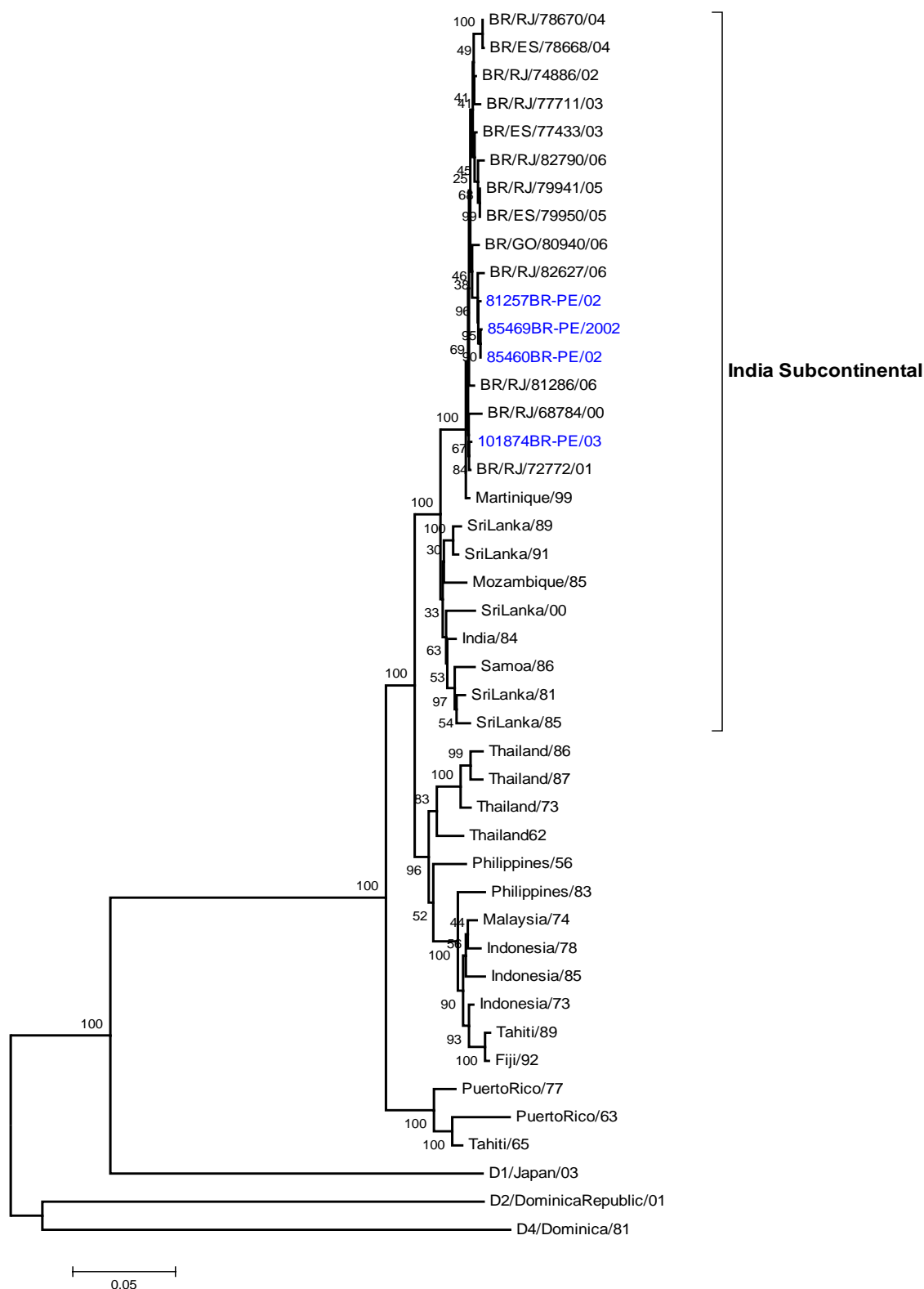


Figura 3 Análise filogenética de cepas de DENV-3 baseada na seqüência da região prM, M, E de quatro amostras provenientes do estado de Pernambuco (2002-2003) (em azul), através do método de *neighbor-joining*, modelo Tajima Nei e *bootstrap* de 1000 pseudoréplicas. Representantes de DENV-1, DENV-2 e DENV-4 foram utilizadas como grupos externos.

Mudanças na proteína E, em particular, segundo Lanciotti et al. (1994), poderiam alterar a suscetibilidade celular do hospedeiro, afetar a replicação viral e aumentar o potencial de gravidade da doença.

Possivelmente, as mutações observadas nas nossas amostras não interferem nas funções e propriedades biológicas da proteína, mas representam a evolução molecular que comumente se observa entre as cepas dos vírus dengue, até mesmo pela pressão induzida pela replicação do vírus no homem e no mosquito.

A similaridade entre as cepas de Pernambuco foi de 99,6% e de 99,5%, entre nucleotídeos e aminoácidos, respectivamente. A similaridade dos nucleotídeos, e de aminoácidos, entre as cepas de Pernambuco e as demais analisadas, estão apresentadas na Tabela 12.

A análise filogenética das amostras de DENV-3 isoladas em Pernambuco analisadas nesse estudo, juntamente com outros isolados do Brasil (Rio de Janeiro, Espírito Santo e Goiás), e cepas de referência de outros países (Martinique, Sri-Lanka, Mozambique, Índia e Samoa) demonstrou a formação de um único grupo filogenético, correspondente ao genótipo Índia Subcontinental (RICO-HESSE, 2003), (Figura 3).

O genótipo do DENV-3 (Índia Subcontinental) identificado em alguns estados é o único detectado até o momento, no país e atualmente, circula também no continente Americano (MESSER et al., 2003).

No período compreendido entre 1980 e 1990, ocorreu nas Américas e no Pacífico Sul, a introdução independente de dois genótipos do DENV-3 (RICO-HESSE, 2003).

O genótipo **Sudeste Asiático** foi associado a grandes epidemias de dengue inclusive dengue hemorrágica no Tahiti e Fiji (CHUNGUE et al, 1993). O genótipo **Índia Subcontinental** foi introduzido na Nicarágua (América Central) na metade dos anos 90 (USUKU et al., 2001). O genótipo **Americano**, que circulava nessas regiões, foi então substituído por esses novos genótipos, em ambas as áreas (RICO-HESSE, 2003).

Na Venezuela, onde circulam os quatro sorotipos do vírus, a primeira epidemia de DENV-3 ocorreu em 1964 e foi causada pelo genótipo Americano. No ano 2000 o sorotipo 3 reapareceu causando uma expressiva epidemia no país. Uzcategui et al., (2003) analisaram filogeneticamente as amostras de DENV-3 isoladas desta epidemia, caracterizando-as como pertencente ao genótipo Índia Subcontinental (UZCATEGUI et al., 2003).

O genótipo Índia Subcontinental também foi responsável pela epidemia da Guatemala, em 1996-1998 (USUKU et al., 2001), foi também identificado durante a epidemia de 2003 e

2004, em San Martin, no Caribe (PEYREFITTE, et al., 2005) e em Cuba, (2000 e 2002) (RODRIGUES-ROCHE et al, 2005b).

Um recente estudo, envolvendo análise filogenética de amostras de DENV-3 isoladas no Sri Lanka, 10 anos depois do aparecimento de casos de febre hemorrágica da dengue, amostras do leste da África e da América Latina, demonstrou que este genótipo, que teve origem na Índia Subcontinental se deslocou nos anos 80 e foi introduzido no leste da África, de onde seguiu em direção à América Latina, em 1994 (MESSER et al., 2003). Além disso, este genótipo estaria associando à ocorrência de epidemias de dengue hemorrágica no Sri Lanka e na Índia em 1989-1991 (MESSER et al., 2003). Recentemente, no norte da Índia, uma nova epidemia de DENV-3 ocorreu em 2003 e 2004, sendo constatada a re-emergência do genótipo Índia Subcontinental na região (DASH et al., 2006).

No Brasil, Miagostovich et al. (2006), através do sequenciamento completo de uma amostra de DENV-3, isolada de um caso fatal ocorrido durante a epidemia de 2002 no Rio de Janeiro, identificou o mesmo genótipo (Índia Subcontinental), porém nenhuma diferença em relação a amostras isoladas de casos de dengue clássica foi observada.

As análises filogenéticas de amostras de DENV-3 isoladas no Rio de Janeiro (MIAGOSTOVICH et al., 2002; 2006; NOGUEIRA et al, 2005); Ceará (ARAÚJO et al, 2006); Espírito Santo e Goiás (dados não publicados) e das amostras de Pernambuco, desse estudo, sugerem a circulação apenas do genótipo Índia Subcontinental de DENV-3 no país.

Pesquisas desenvolvidas por Lanciotti et al, (1994), já apresentaram evidências de que o genótipo Índia Subcontinental vem evoluindo, desde 1989, e aumentando a sua virulência. Ao analisar a árvore filogenética do DENV-3, em conjunto com dados epidemiológicos, foi observada uma correlação entre a gravidade da doença e o genótipo do vírus, uma vez que este genótipo foi associado às epidemias de dengue hemorrágica, no Sri Lanka e Índia, e com casos de dengue hemorrágica e óbitos, no México e em países da América Central.

Alguns genótipos dos vírus dengue possuem uma ampla distribuição geográfica, por isso mesmo, são considerados cosmopolitas, enquanto que outros, ficam restritos a uma determinada região. A maior diversidade genética dos vírus dengue é encontrada no Sudeste Asiático, um forte indicativo de que essa região é a fonte da origem da maioria dos vírus responsáveis por muitos surtos de dengue, particularmente os registrados nas Américas nos últimos anos (ZHANG et al, 2005).

Em algumas regiões, circulam, simultaneamente, mais de um genótipo de um mesmo sorotipo, enquanto que em outras, parece haver predominância de um genótipo específico. Embora a eficiência da transmissão dos vírus dengue seja um fenômeno complexo, o deslocamento de um genótipo, por outro tipo mais “virulento” foi documentado no passado e, atualmente, vem ocorrendo em alguns países (RICO-HESSE, 2003).

Para que se possa entender esse processo, é importante manter um sistema de vigilância epidemiológica contínua, com um suporte laboratorial, para que se possa detectar a entrada e dispersão dos diversos genótipos virais.

Os genótipos do DENV-2 e do DENV-3 em circulação no estado parecem estar associados às formas graves da doença (LANCIOTTI et al. 1994; LEITMEYER et al, 1999).

Convém ressaltar que os genótipos identificados no país, do DENV-2 (Sudeste da Ásia) e o genótipo do DENV-3 (Índia Subcontinental) são considerados de grande impacto epidemiológico (RICO-HESSE, 2003).

Além da presença destes genótipos, as grandes epidemias e o aumento do número de casos de dengue hemorrágica observado no estado nos últimos anos também estão associados com a introdução de novos sorotipos e com as infecções secundárias decorrentes da co-circulação dos sorotipos 1, 2 e 3.

Análises filogenéticas de vírus isolados durante as epidemias de dengue que ocorreram no estado de Pernambuco, confirmaram a existência de um único genótipo, para cada um dos três sorotipos circulantes: genótipo Américas/África (DENV-1), o Sudeste da Ásia (DENV-2) e Índia subcontinental (DENV-3).

Parece evidente, que os mesmos genótipos estão circulando em todo o país, durante as duas últimas décadas, com pequenas variações genéticas. Porém, não se pode descartar a possibilidade da introdução/circulação de outros genótipos do vírus dengue no país. Neste contexto visa-se, portanto, dar continuidade aos estudos filogenéticos de um maior número de amostras virais, através do seqüenciamento do genoma destes vírus.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, F. M. et al. Concurrent infection with dengue virus type-2 and DENV-3 in a patient from Ceará, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 101, n.8, p. 925-928, 2006.
- AVILÉS, G. et al. Complete coding sequences of dengue-1 viruses from Paraguay and Argentina. **Virus Research**, Amsterdam, v. 98, p. 75-82, 2003.
- AVILÉS, G. et al. Phylogenetic relationships of dengue-1 viruses from Argentina and Paraguay. **Archives of Virology**, Heidelberg, v. 147, p.2075-2087, 2002.
- BARRERO, P. R.; MISTCHENKO, A. S. Complete genome sequencing of dengue virus type 1 isolated in Buenos Aires, Argentina. **Virus Research**, Amsterdam, v. 101, p. 135-145, 2004.
- BURKE, D. S. et al. A prospective study of dengue infections in Bangkok. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 38, p. 172-80, 1988.
- CHANG, G. J. Molecular biology of Dengue virus. In: GUBLER, D. J. e KUNO, G. (Ed.), **Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever**, New York: CAB International, 1997, p.175-197.
- CHUNGUE, E. et al. Molecular epidemiology of dengue-1 and dengue-4 viruses. **The Journal of General Virology**, London, v. 76, p. 1877-1884, 1995.
- CHUNGUE, E. et al. Molecular epidemiology of dengue 3 viruses and genetic relatedness among dengue 3 strains isolated from patients with mild or severe form of dengue fever in French Polynesia. **The Journal of General Virology**, London, v. 74, p. 2765-2770, 1993.
- CORDEIRO, M. T. et al. Dengue and dengue hemorrhagic fever in the state of Pernambuco, Brazil, 1995 – 2006. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 40, n. 6, nov-dez, p. xxx, 2007. (no prelo)
- DASH, P. K. et al. Reemergence of dengue virus type-3 (subtype-III) in India: implications for increased incidence of DHF & DSS. **Virology Journal**, London, v.3:55, p. 1-10, 2006.
- DOS SANTOS, F. B. et al. Complete nucleotide sequence analysis of a Brazilian Dengue virus type 2 strain. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 7, p. 991-995, 2002.
- DUARTE DOS SANTOS, C. N. et al. Genome analysis of dengue type-1 virus isolated between 1990 and 2001 in Brazil reveals a remarkable conservation of the structural proteins but amino acid differences in the non-structural proteins. **Virus Research**, Amsterdam, v. 90, p. 197-205, 2002.

FOSTER, J. E. et al. Phylogeography and molecular evolution of dengue 2 in the Caribbean basin, 1981-2000. **Virology**, New York, v. 324, p. 48-49, 2004.

GONCALVEZ, A. P. et al. Diversity and Evolution of the Envelope Gene of Dengue Virus Type 1. **Virology**, New York, v. 303, p.110-119, 2002.

GUZMÁN, M. G. et al. Dengue hemorrhagic fever in Cuba, 1981: a retrospective seroepidemiologic study. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 42, p. 179-184, 1990.

HOLMES, E. C.; BURCH, S. S. The causes and consequences of genetic variation in dengue virus. **Trends in Microbiology**, Cambridge, v. 8, p. 74-77, 2000.

KUMAR, S.; TAMURA, K.; NEI, M. MEGA 3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. **Briefings in Bioinformatics**, Tempe, v. 5, p. 150-163, 2004.

LAILLE, M.; ROCHE, C. Comparison of dengue-1 virus envelope glycoprotein gene sequences from French Polynesia. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 71, n. 4, p. 478-484, 2004.

LANCIOTTI, R. S.; GUBLER, D. J.; TRENT, D. W. Molecular evolution and phylogeny of dengue-4 viruses. **The Journal of General Virology**, London, v. 78, p. 2279-2286, 1997.

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

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

LEWIS, J. A. et al. Phylogenetic Relationships of dengue-2 viruses. **Virology**, New York, v. 197, p. 216-224, 1993.

LORONO-PINO, M. A. et al. Introduction of the American/Asian genotype of dengue 2 virus into the Yucatan state of Mexico. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 71, n.4, p. 485-492, 2004.

MESSER, W. B. et al. Emergence and Global spread of a Dengue serotype 3, subtype III viruses. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 9, p. 800-809, 2003.

MIAGOSTOVICH, M. P. et al. Complete genetic characterization of a Brazilian dengue virus type 3 strain isolated from a fatal outcome. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 3, p. 307-313, 2006.

MIAGOSTOVICH, M. P. et al. Genetic characterization of dengue virus type 3 isolates in the State of Rio de Janeiro, 2001. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, São Paulo, v. 35, p. 869-872, 2002.

MIAGOSTOVICH, M. P. et al. Molecular epidemiology of DEN 2 virus in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 93, n. 5, p. 625-626, 1998.

MIAGOSTOVICH, M. P.; RAMOS, R. G.; NICOL, A. F.; NOGUEIRA, R. M. R.; SCHATZMAYR, H. G. Retrospective study on dengue fatal cases. **Clinical Neuropathology**, v.16, p.204-208, 1997.

NOGUEIRA, R. M. R. et al. Dengue virus type 3, Brazil, 2002. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 11, p. 1376-1380, 2005.

NOGUEIRA, R.M.R.; MIAGOSTOVICH, M.P.; FILIPPIS, A.M.B.; PEREIRA, M.A.S.; SCHATZMAYR, H.G. Dengue virus type 3 in Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.96, p. 925-926, 2001.

NOGUEIRA, R. M. R. et al. Virological study of a Dengue type 1 epidemic at Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.83, p. 219-225, 1988.

NUEGOONPIPAT, A .A. et al. Sustained transmission of dengue virus type 1 in the Pacific due to repeated introductions of different Asian strains. **Virology**, New York, v. 329, p. 505-512, 2004.

PEYREFITTE, C. N. et al. Dengue type 3 virus, Saint Martin, 2003-2004. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 11, p. 757-761, 2005.

PINHEIRO, F. P. Dengue in the Americas, 1980-1987. **Epidemiological Bulletin**, Washington, v. 10, p. 1-8, 1989.

PIRES NETO, R. J. et al. Molecular epidemiology of type 1 and 2 dengue viruses in Brazil from 1988 to 2001. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, São Paulo, v. 38, p. 843-852, 2005.

RICO-HESSE, R. Microevolution and virulence of dengue viruses. **Advances in virus Research**, New York, v. 59, p. 315-341, 2003.

RICO-HESSE, R. et al. Molecular evolution of dengue type 2 virus in Thailand. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 58, p. 96-101, 1998.

RICO-HESSE, R. et al. Origins of dengue type 2 viruses associated with increased pathogenicity in the Americas. **Virology**, New York, v. 230, p. 244-251, 1997.

RICO-HESSE, R. Molecular evolution and distribution of dengue viruses type 1 and 2 in nature. **Virology**, New York, v. 174, p. 1-15, 1990.

RODRIGUEZ-ROCHE R. et al. Dengue virus type 2 in Cuba, 1997: conservation of E gene sequence in isolates obtained at different times during the epidemic. **Archives of Virology**, Heidelberg, v. 150, p. 415-425, 2005a.

RODRIGUEZ-ROCHE, R. et al. Dengue virus type 3, Cuba, 2000-2002. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 11, p. 773-774, 2005b.

SIQUEIRA, J. B. et al. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever, Brazil, 1981-2002. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 11, n. 1, p. 48-53, 2005.

THU, H. M. et al. Myanmar Dengue outbreak associated with displacement of serotypes 2, 3 and 4 by dengue 1. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 10, n. 4, p. 593-597, 2004.

TWIDDY, S. S. et al. Phylogenetic relationships and differential selection pressures among Genotypes of Dengue-2 virus. **Virology**, New York, v. 298, p. 63-72, 2002.

USUKU, S. et al. Phylogenetic analysis of dengue 3 viruses prevalent in Guatemala during 1996-1998. **Archives of Virology**, Heidelberg, v. 146, p. 1381-1390, 2001.

UZCATEGUI, N. Y. et al. Molecular epidemiology of dengue type 2 virus in Venezuela: evidence for in situ virus evolution and recombination. **The Journal of General Virology**, London, v. 82, p. 2945-2953, 2001.

UZCATEGUI, N. Y. et al. Molecular epidemiology of dengue virus type 3 in Venezuela. **The Journal of General Virology**, London, v. 84, p. 1569-1575, 2003.

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

ZHANG, C. et al. Clade replacements in Dengue virus serotypes 1 and 3 are associated with changing serotype prevalence. **Journal of Virology**, Baltimore, v. 79, n. 24, p. 15123-15130, 2005.

**VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA
DA DENGUE**

8 VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA DA DENGUE

A vigilância epidemiológica consiste na coleta, análise e interpretação continuada e sistemática de dados de saúde essenciais para o planejamento, a implementação e a avaliação das práticas de saúde pública, integrada à disseminação de informações relevantes para aqueles que necessitam conhecê-la em tempo adequado (PEREIRA, 1995).

O Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica foi instituído pelo Ministério da Saúde em 1975 através de legislação específica (Lei 6.259 de 30/10/1975 e Decreto 78.231 de 1976). Esses instrumentos tornaram obrigatória em todo território nacional, a notificação de doenças transmissíveis selecionadas (BRASIL, 2001a, 2001b). De acordo com o texto, “é dever de todo cidadão comunicar à autoridade sanitária local a ocorrência de fato comprovado ou presumível, sendo obrigatória a médicos e outros profissionais de saúde, no exercício da profissão, bem como aos responsáveis por organizações e estabelecimentos, públicos e particulares de saúde e ensino, a notificação de casos suspeitos ou confirmados das doenças de notificação compulsória” (BRASIL, 2001a, 2001b).

A promulgação da Lei Federal 8.080 de 19/09/90, que instituiu o Sistema Único de Saúde (SUS) teve importantes desdobramentos na área da vigilância epidemiológica, incorporando o Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica. No texto legal a vigilância epidemiológica é definida como: “um conjunto de ações que proporciona o conhecimento, a detecção ou prevenção de qualquer mudança nos fatores determinantes e condicionantes de saúde individual ou coletiva, com a finalidade de recomendar e adotar as medidas de prevenção e controle das doenças e agravos” (BRASIL, 1990, 2001a).

Desde a implantação do SUS, o Sistema Nacional de Vigilância Epidemiológica vem passando por profunda reestruturação conceitual e operacional com a finalidade de se adequar aos princípios de descentralização e de integralidade da atenção à saúde. A política de descentralização do sistema de saúde gerou a expectativa de reorganização dos sistemas de vigilância epidemiológica em todos os níveis, local (município), intermediário (estadual) e central (federal) (BRASIL, 2001a). Entretanto, ainda hoje, a vigilância epidemiológica apresenta uma série de deficiências decorrentes de dificuldades políticas, administrativo-financeiras e da insuficiência, qualitativa e quantitativa de recursos humanos.

A vigilância epidemiológica é um sistema criado para detectar situações anormais no campo da saúde pública e promover intervenção rápida de controle; no entanto muitas vezes ela se torna apenas um mecanismo passivo de notificação de casos.

Por outro lado, os dados coletados cobrem apenas uma parte da população, quase sempre à atendida nos serviços públicos. O fluxo de informações em muitos serviços não é adequado: a coleta de dados que é realizada no nível local é compilada pelo nível intermediário, para envio ao nível central. Quando os dados são finalmente analisados e divulgados já ocorreu uma considerável perda de tempo. Sabe-se que as informações precisam chegar, no menor tempo possível, para a tomada de decisões pelos gestores do sistema de vigilância epidemiológica. Deve ser ressaltadas a necessidade da análise local dos dados, e a sua utilização para a imediata tomada de decisões (TEIXEIRA; RISI; COSTA, 2003).

A atual política de descentralização do sistema de saúde no Brasil pode significar a oportunidade, para a vigilância epidemiológica se reestruturar, em todas as instâncias de gestão e se adequar às transformações que estão ocorrendo.

A dengue está incluída entre as doenças de notificação compulsória, sendo uma doença que demanda grande complexidade de ações dentro da vigilância epidemiológica. A urgência e o rigor das medidas e intervenções mudaram os rumos da vigilância epidemiológica no sentido de evitar a disseminação de doenças como a dengue.

Na ausência de uma vacina preventiva e de tratamento quimioprolático, a prevenção da doença ainda é um desafio visto ser centrada principalmente na atuação sobre o elo aparentemente mais vulnerável, o mosquito *Aedes aegypti*, seu principal vetor. Não sendo possível evitar a transmissão de casos de dengue em áreas infestadas pelo *Aedes aegypti* é possível prevenir a ocorrência de epidemias, por meio do aprimoramento da vigilância epidemiológica (TAUIL, 2002; MARZOCHI, 2004) e os casos fatais, pela melhoria da assistência médica ao paciente (MARZOCHI, 2004).

A dengue, por sua magnitude e gravidade, tornou-se um sério problema de saúde pública no Brasil, razão pela qual mereceu atenção especial por parte das três instâncias de governo, Federal, Estadual e Municipal, e a intensificação das ações de prevenção e controle da doença. Como toda doença transmitida por artrópode, os programas instituídos visavam essencialmente o combate ao vetor, desse modo foram criados programas de governo com esse objetivo.

O primeiro plano intitulado Plano de Erradicação do *Aedes aegypti* (PEAa) foi elaborado em 1996 visando a erradicação do *Aedes aegypti*. Este plano foi organizado e dividido em nove componentes: Entomologia; Operações de campo de combate ao vetor;

Vigilância de Portos, Aeroportos e Fronteiras; Saneamento; Informação, Educação e Comunicação Social; Vigilância Epidemiológica e Sistema de Informação; Laboratório; Desenvolvimento de Recursos Humanos e Legislação de Suporte (BRASIL, 1996).

Estudos confirmam que o *Aedes aegypti* já foi erradicado duas vezes do território urbano brasileiro: em 1957, sendo reintroduzido em 1967 e novamente eliminado em 1973 e finalmente reintroduzido em 1976, vindo a reocupar o seu antigo habitat (TAUIL, 2002; PENNA, 2003). Acreditava-se então que a erradicação era factível, daí a opção pela proposta de um plano de erradicação, também fundamentada no argumento de que o custo seria mais reduzido no longo prazo, e cujos benefícios, principalmente a prevenção de gastos decorrentes de epidemias de febre hemorrágica da dengue, justificariam plenamente os esforços das fases iniciais de execução do plano (BRASIL, 1996).

O processo de implantação do PEAa previa quatro fases distintas. Entretanto na prática, o programa concentrou-se quase que exclusivamente no componente “Operações de campo de combate ao vetor” e outros importantes componentes como saneamento, educação e comunicação social, não foram implementados (BRASIL, 2001a).

Diante de todo um contexto de infestação por *Aedes aegypti* na quase totalidade do continente americano e a grande facilidade para a dispersão passiva do vetor, advindo da maior disponibilidade, frequência e rapidez dos meios de transporte (GUBLER, 2002), finalmente ficou constatado o fracasso deste primeiro plano, porque era impossível a erradicação do *Aedes aegypti*, como previsto no PEAa. O Programa passou por ajustes, mas mesmo assim não obteve o sucesso esperado.

Acredita-se que as principais causas do insucesso do PEAa tenham sido a não universalização das ações em cada município e a descontinuidade na execução das ações de combate ao vetor (BRASIL, 2001a). Contudo, outras causas podem ser citadas: a verticalização do programa, a falta de informação para mobilização da população; a escassez e o uso inadequado de recursos financeiros e, sobretudo a ausência de ações intersetoriais (PENNA, 2003; SANTOS; AUGUSTO, 2005). Apesar de todos os equívocos ocorridos, na prática o PEAa contribuiu para fortalecer o controle do *Aedes aegypti* no país (TAUIL, 2002).

Ainda no final da década de 90 até 2004, vale destacar o grande aporte de recursos propiciados pelo Projeto de Vigilância em Saúde no SUS (VIGISUS), também visando o fortalecimento da estruturação da vigilância epidemiológica em todos os níveis do SUS (BRASIL, 1999). Entretanto, este não alcançou os objetivos e as metas esperadas de reestruturação da vigilância epidemiológica no país.

Em julho de 2001, a Fundação Nacional de Saúde (FUNASA) abandonou oficialmente a meta de erradicar o *Aedes aegypti* do país, passando a trabalhar com o objetivo de controlar o vetor. Foi implantado então o Plano de Intensificação das Ações de Controle do Dengue no Brasil (PIACD), que tem como objetivo geral reduzir a incidência da dengue, evitar a ocorrência de epidemias, reduzir a letalidade por febre hemorrágica da dengue e a infestação pelo *Aedes aegypti* (BRASIL, 2001a).

Este novo plano tinha como metas reduzir em 50%, até dezembro de 2002, a incidência da dengue em relação ao ano 2000; reduzir a letalidade por febre hemorrágica da dengue a menos de 1% e reduzir a menos de 1% a infestação predial de 25% dos 657 municípios com maior transmissão da doença no país. Esse plano previa sincronismo de ações, interagindo as ações de educação em saúde, mobilização social, vigilância epidemiológica, abastecimento de água, coleta e destino adequado de resíduos sólidos e controle direto do vetor (BRASIL, 2001a).

Essa nova estratégia de controle do vetor deveria ser implementada por intermédio de dez componentes. O primeiro deles, era a Vigilância epidemiológica: integração e fortalecimento de vigilância e diagnóstico laboratorial. De acordo com o PIACD a vigilância epidemiológica deveria ser estruturada com capacidade para produzir informações de maneira oportuna e precisa sobre sua atividade. O Sistema Nacional de Agravos de Notificação já implantado em todas as vigilâncias epidemiológicas estaduais e em praticamente todos os municípios do país melhoraria a qualidade do sistema de vigilância da dengue.

Outro aspecto da vigilância da dengue a ser considerado referia-se ao fortalecimento do componente laboratorial, fundamental para se monitorar a ocorrência de casos, o conhecimento dos sorotipos circulantes e a detecção da introdução de novos sorotipos. Foi também proposta a vigilância clínico-epidemiológica, em virtude da situação de hiperendemicidade da dengue com a circulação de três sorotipos (BRASIL, 2001a).

Sabe-se que o controle das doenças transmissíveis baseia-se em intervenções que, atuando sobre um ou mais elos conhecidos da cadeia epidemiológica de transmissão, são capazes de interrompê-la. Entretanto, a interação entre o homem e o meio ambiente é bastante complexa, envolvendo fatores diversos que podem interferir no momento em que se desencadeiam as ações. Desse modo, os métodos de intervenção tendem a ser aprimorados ou substituídos, na medida em que novos conhecimentos são adquiridos. A evolução desses conhecimentos contribui também para a modificação de conceitos e de formas organizacionais dos serviços de saúde, na permanente procura pelo seu aprimoramento.

Com base nesses conceitos, em 2002 foi implantado o Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD), que dá continuidade a algumas propostas do PIACD e enfatiza a necessidade de mudanças nos modelos anteriores, inclusive em alguns aspectos essenciais como: elaboração de programas permanentes de combate ao vetor; desenvolvimento de campanhas de informação e de mobilização da população a fim de que cada família se empenhe na manutenção de seu ambiente doméstico livre de potenciais criadouros do vetor; o fortalecimento da vigilância epidemiológica, e entomológica, ampliando a capacidade de detecção precoce de surtos da doença; melhoria da qualidade do trabalho de campo, no controle do vetor; integração das ações de controle da dengue na atenção básica, com a mobilização do Programa de Agentes Comunitários de Saúde (PACS) e do Programa Saúde da Família (PSF); destinação adequada para os resíduos sólidos e aperfeiçoamento no armazenamento de água; enfim, a criação de instrumento eficiente de acompanhamento e supervisão das ações desenvolvidas pelo Ministério da Saúde, estados e municípios (BRASIL, 2002).

Apesar do caráter verticalizado do programa ter permanecido, houve um avanço relativo no PNCD com a possibilidade de elaboração de planos sub-regionais, visando atender as diferenças regionais, desde que estejam em sintonia com os objetivos, metas e métodos propostos no plano nacional. Assim, dentro do PNCD a Secretaria de Saúde do Estado de Pernambuco criou em 2002 o “Plano Estadual de contingência para epidemias de febre hemorrágica do dengue (FHD)”, tendo como objetivo geral reduzir a taxa de letalidade por dengue hemorrágica abaixo de 1% no estado de Pernambuco (PERNAMBUCO, 2002).

Para atingir esse objetivo, se propôs a estruturar as unidades de referência para diagnóstico e tratamento de dengue hemorrágica; capacitar profissionais de saúde (médicos e enfermeiros) para diagnóstico e tratamento da febre hemorrágica da dengue; garantir assistência médica aos pacientes suspeitos de dengue hemorrágica; garantir hemocomponentes e hemoderivados para os casos graves e também descentralizar os testes sorológicos específicos para dengue. Outra meta a ser atingida seria manter o índice de infestação predial abaixo de 1% em 100% dos municípios com presença do vetor (PERNAMBUCO, 2002).

Entretanto, essas metas não foram atingidas na sua totalidade, como visto no presente estudo. A taxa de letalidade por dengue hemorrágica no estado, de 1996 a 2006 foi de 5,4%, atingindo 14,3% em 2003. Com exceção do ano de 2004 em que não houve óbitos, nos anos seguintes a taxa de letalidade foi superior a 10%. Da mesma forma, não foi alcançada a meta

de menos de 1% para o índice de infestação predial, apesar dos esforços despendidos pela Coordenação Estadual do Programa. Admite-se que se forem reduzidos os índices de infestação predial a menos de 1%, a doença estaria controlada (PONTES et al., 2000) e assim não mais ocorreriam surtos de dengue. Contudo não é possível assegurar que casos esporádicos de dengue e infecção assintomática deixem de ocorrer, mesmo com baixos índices de infestação vetorial (TAUIL, 2002).

As atividades da vigilância epidemiológica da dengue não substituem as demais ações de controle da doença, as quais devem ser desenvolvidas de forma concomitante e integradas às ações de educação em saúde, comunicação e mobilização social (MARZOCHI, 2004). A mobilização da população para auxiliar no controle do vetor pode ser feita através dos meios de comunicação, entretanto ações educativas permanentes, principalmente junto às crianças e aos jovens nas escolas, se mostraram eficazes em países como Cuba e Tailândia (SWADDIWUDHIPONG, 1992).

No Brasil esse tipo de estratégia ainda não obteve o resultado esperado, principalmente porque quando ocorre redução no número de casos da doença, se verifica também a desmobilização da população pela não incorporação da mudança de hábitos (TAUIL, 2002). A motivação e participação da comunidade só são observadas durante os surtos e epidemias devido à divulgação do problema nos meios de comunicação (FRANÇA; ABREU; SIQUEIRA, 2004). Grande parte da responsabilidade pela descontinuidade das ações é dos próprios gestores, que também se desmobilizam quando constatarem a redução do nível de infestação do vetor e da baixa ocorrência de casos (TAUIL, 2002).

Avaliação feita sobre a cobertura dada à doença, pelos meios de comunicação, constatou que o número de notícias do principal jornal diário de Belo Horizonte (MG) guardou relação estreita com o número de casos registrados, com picos de cobertura coincidindo com a ocorrência de ondas epidêmicas. Os resultados dessa pesquisa indicam que os meios de comunicação também priorizam a doença quando esta se manifesta de forma epidêmica, ou quando ocorrem casos graves e óbitos, sendo a mesma praticamente esquecida pelo noticiário quando diminuem os casos (FRANÇA; ABREU; SIQUEIRA, 2004).

Os problemas e as possibilidades de participação da comunidade no controle da dengue foram estudados por Dias (1998), sendo lembrado que o controle do vetor depende do controle larvário, o qual demanda muito trabalho dos agentes de controle de vetores. Como os principais focos do mosquito são encontrados no ambiente peridomiciliar ou dentro das habitações, somente a população organizada e motivada, em articulação permanente com os

serviços de saúde, poderá acabar definitivamente com esses criadouros, mercê de ação contínua e de longo prazo, introdução de hábitos preventivos relacionados com a limpeza do ambiente residencial e recolhimento adequado de resíduos sólidos (DIAS, 1998; TAUIL, 2002).

A participação da comunidade também deve ser avaliada. Estudo sobre estratégias de controle do vetor realizado em um bairro do município de Catanduva (São Paulo), demonstrou que a comunidade pode participar ativamente desse processo, apenas mudando a estratégia de atuação dos agentes de controle de vetores. Uma vez conhecendo a realidade local, os problemas foram discutidos, com a própria comunidade e levando em conta as suas prioridades, os agentes construíram, em conjunto com ela, a melhor estratégia de ação para reduzir os potenciais criadouros do vetor o que resultou no aperfeiçoamento das práticas preventivas. Os agentes usaram apenas material educativo demonstrando o uso de medidas preventivas e como a comunidade pode participar com ações coletivas efetivas. Os agentes não usaram larvicida e a retirada de recipientes inservíveis foi realizada pela própria comunidade, reduzindo de forma satisfatória os níveis de infestação do vetor naquela localidade, com a conscientização da população sobre o problema e incorporação de novos hábitos (CHIARAVALLOTI NETO et al, 2003).

Outro aspecto importante também analisado, diz respeito à participação do agente comunitário de saúde, do Programa de Saúde da Família (PSF) no programa tradicional de controle do vetor. Esse agente poderá atuar como multiplicador em suas visitas domiciliares, já que conhece a realidade da comunidade onde atua. A participação desses agentes no programa de controle do vetor se mostrou eficaz e teve um impacto positivo nas áreas onde foi estudada, demonstrando que a integração entre os dois programas é viável. Esta integração representa uma otimização de recursos ao evitar a duplicidade das visitas, além de possibilitar um maior envolvimento da comunidade no controle do vetor através da eliminação dos possíveis criadouros (CHIARAVALLOTI NETO et al., 2006).

Já se tornou evidente que as ações baseadas exclusivamente no combate vetorial através do uso de inseticidas se mostraram insuficientes para impedir a circulação viral (TAUIL, 2002). Desde 2001 vários pesquisadores vêm alertando para o desenvolvimento de resistência do *Aedes aegypti* aos produtos químicos utilizados no combate ao vetor (AUGUSTO et al., 2005a). O emprego desses produtos vem sendo criticado e se tem sugerido a sua substituição por outros métodos de controle, por exemplo, o uso de “ovitrampas” e de larvicida biológicos como o *Bacillus thuringiensis var israelensis* (Bti) (RÉGIS et al, 2001; SANTOS et al., 2003).

No combate ao vetor é fundamental se levar em conta o ambiente, atuando de forma consciente e responsável, sem agredi-lo com o uso indiscriminado de produtos químicos (AUGUSTO et al, 2005b). A abordagem ecossistêmica propõe a substituição do modelo químico dependente por um modelo mais eficaz de controle que respeite os sistemas ambientais de suporte à vida e é resultante da ação inteligente e contínua das redes sociais que operam em benefício da coletividade e da preservação ambiental, representando uma alternativa ecológica e pró-ativa (ABRAHÃO, 2005).

A atuação sobre o vetor, considerando-o como o único elo vulnerável da cadeia de transmissão da doença, não levando em conta outros elementos do sistema, segundo alguns especialistas é a razão do fracasso dos programas de controle da endemia no país (AUGUSTO, 2005a). Pela complexidade da dengue esta deve ser abordada em todas as suas dimensões: biológica (vírus, vetor, ser humano); da conduta (comportamento cultural das sociedades); econômica; política e ecológica. Estes elementos são subsistemas interdependentes que produzem e reproduzem o sistema social, gerando as condições da existência da dengue como um problema sanitário (AUGUSTO et al, 2005b).

Uma análise crítica ao modelo clássico de controle da dengue desenvolvido no país, embasada na observação empírica e na reflexão interdisciplinar (SANTOS; AUGUSTO, 2005), destaca alguns aspectos relevantes que, segundo os autores poderiam ser aperfeiçoados, como a vigilância epidemiológica centrada na notificação de casos e que deveria ampliar o apoio ao diagnóstico, realizar a vigilância ao doente, melhorar a assistência médica aos doentes e aumentar a notificação. Deveriam melhorar ainda os indicadores de vigilância ambiental e entomológica, em articulação com os da vigilância epidemiológica. Também deveria ser concedido ao município, condições para equacionar o controle da dengue segundo seu contexto sócio-ambiental, adotando-se ações integradas, estimulando propostas alternativas e criativas (SANTOS; AUGUSTO, 2005).

Tornou-se importante compreender a saúde num contexto de maior complexidade onde estão inseridas as condições de vida e trabalho da população, bem como a identificação das diferenças existentes entre os municípios para que medidas apropriadas a cada caso sejam adotadas. Cabe ao Estado a decisão de intervir de forma apropriada, de modo a reduzir o impacto das epidemias de dengue.

Entretanto, nos períodos endêmicos é que estão os maiores desafios a ser enfrentado pela vigilância epidemiológica, manter a população motivada para auxiliar no controle do *Aedes aegypti*; os médicos permanecerem atentos quanto ao surgimento de possíveis casos de dengue, conscientes de sua responsabilidade como sentinelas individuais da vigilância

epidemiológica, notificando os casos suspeitos; a mídia continuar dando a sua contribuição na divulgação das medidas preventivas, para que todos os grupos sociais permaneçam atentos ao problema da dengue.

O desafio das estratégias de vigilância seria manter a dengue no nível endêmico, o que seria uma meta aceitável de controle nas regiões metropolitanas, diante das deficiências de urbanização, saneamento e mobilização da população (MARZOCHI, 2004). É imprescindível que a vigilância epidemiológica da dengue se constitua em um sistema sensível e específico, sobretudo em períodos endêmicos e que sejam implementadas medidas efetivas, com o suporte laboratorial e da clínica médica, dando continuidade às ações públicas e de incentivo à colaboração da sociedade em geral (TAUIL, 2002; MARZOCHI, 2004).

Até agora se vê que muitas das estratégias que deveriam, ou pelo menos, poderiam ter sido adotadas na vigilância epidemiológica da dengue no país, não estão sendo executadas de forma adequada. Resultados de vários estudos, alguns aqui mencionados desenvolvidos no país têm apontado algumas estratégias de ação para o controle da dengue, que poderão ter êxito se adequadamente empregadas pelo poder público (RÉGIS et al., 2001; SANTOS et al., 2003; CHIARAVALLOTI NETO et al., 2003; MARZOCHI, 2004; CHIARAVALLOTI NETO et al., 2006).

Algumas recomendações continuam sendo importantes:

- Estimular a notificação de casos suspeitos, principalmente no período endêmico;
- Melhorar a qualidade dos dados da vigilância epidemiológica da dengue;
- Incentivar a notificação de internamento de casos suspeitos, não apenas dos casos graves que vão a óbito superestimando a taxa de letalidade;
- Implantar unidades sentinelas para investigar a etiologia das doenças febris agudas, realizando o diagnóstico diferencial;
- Melhorar a assistência médica dos casos graves evitando a ocorrência de óbitos e acompanhar os casos com a realização dos testes laboratoriais necessários para a classificação da forma clínica da doença;
- Confirmar laboratorialmente os casos suspeitos especificamente em período endêmico;
- Realizar o monitoramento virológico visando identificar os sorotipos e os genótipos circulantes;

- Realizar o monitoramento entomológico, buscando conhecer os níveis de infestação pelo vetor;
- Realizar inquéritos epidemiológicos, em áreas estratégicas, para se avaliar a imunidade e suscetibilidade de grupos etários aos sorotipos circulantes;
- Uma vez que não temos ainda uma vacina, nem um controle de mosquito que seja eficaz e considerando a rápida evolução dos casos de dengue a formas mais graves, uma maior ênfase deverá ser dada à assistência médica aos pacientes com re-treinamento de pessoal como foi feito nas primeiras epidemias.

REFERÊNCIAS

ABRAHÃO, C. E. C. Dengue: abordagem ecossistêmica. In: AUGUSTO, L. G. S.; CARNEIRO, R. M.; MARTINS, P. H. (Org.) **Abordagem ecossistêmica em saúde. Ensaios para o controle de dengue**. Ed. Universitária da UFPE, Recife, 2005, p. 137-145.

AUGUSTO, L. G. S. Considerações para uma profunda mudança no modelo de controle do dengue. In: AUGUSTO, L. G. S.; CARNEIRO, R. M.; MARTINS, P. H. (Org.) **Abordagem ecossistêmica em saúde. Ensaios para o controle de dengue**. Ed. Universitária da UFPE, Recife, 2005a, p. 373-382.

AUGUSTO, L. G. S. et al. Dengue: a doença e o vetor – contribuições técnicas para medidas de controle. In: AUGUSTO, L. G. S.; CARNEIRO, R. M.; MARTINS, P. H. (Org.) **Abordagem ecossistêmica em saúde. Ensaios para o controle de dengue**. Ed. Universitária da UFPE, Recife, 2005b, p. 107-114.

BRASIL. **Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD)**, Brasília, DF, 2002.

BRASIL. **Plano de Intensificação das Ações de controle do dengue no Brasil**. Brasília, DF, 2001a.

BRASIL. Portaria nº 1943 de 18 de outubro de 2001. Define a relação de doenças de notificação compulsória para todo território nacional. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, DF, 24 out. 2001, Disponível em: <<http://www.in.gov.br>>. 2001b.

BRASIL. **Projeto de Vigilância em Saúde no SUS (VIGISUS), estruturação do Sistema Nacional de Vigilância em Saúde**. Brasília, DF, 1999.

BRASIL. **Plano Diretor de Erradicação do *Aedes aegypti* do Brasil**. Brasília, DF, 1996.

BRASIL. Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, DF, de 20 set. 1990 (155; Seção 1, Pt.1): 10731-3, 1990.

CHIARAVALLOTI NETO, F. et al. Controle do dengue em uma área urbana do Brasil: avaliação do impacto do Programa Saúde da Família com relação ao programa tradicional de controle. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 22, n. 5, p. 987-997, 2006.

CHIARAVALLOTI NETO, F. et al. Controle do vetor e participação da comunidade em Catanduva, São Paulo, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 6, p. 1739-1749, 2003.

DIAS, J. C. P. Problemas e possibilidades de participação comunitária no controle das grandes endemias no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 2, p. 19-37, 1998.

FRANÇA, E.; ABREU, D.; SIQUEIRA, M. Epidemias de dengue e divulgação de informações pela imprensa. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 20, n. 5, p. 1334-1341, 2004.

GUBLER, D. J. Epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health, social and economic problem in the 21st century. **Trends in Microbiology**, Cambridge, v.10, p.100-103, 2002.

MARZOCHI, K. B. F. Dengue endêmico: o desafio das estratégias de vigilância. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. Uberaba, v. 37, n. 5, p. 413-415, 2004.

PEREIRA, M. G. Vigilância epidemiológica. In: PEREIRA, M. G. **Epidemiologia: Teoria e prática**. Ed. Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro, 1995, p. 449-479.

PENNA, M. L. F. Um desafio para a saúde pública brasileira: o controle do dengue. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 1, p. 305-309, 2003.

PERNAMBUCO. Secretaria Estadual de Saúde. **Plano Estadual de Contingência para epidemias de Febre hemorrágica do Dengue**, Recife, 2002. Documento de circulação interna.

PONTES, R. J. S. et al. Vector densities that potentiate dengue outbreaks in a Brazilian city. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v.62, n.3, p. 378-383, 2000.

REGIS, L. et al. Bacteriological larvicides of dipteran disease vectors. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 17, n. 8, p. 377-381, 2001.

SANTOS, S. L.; AUGUSTO, L. G. S. Modelo de controle de dengue, pontos e contrapontos. In: AUGUSTO, L. G. S.; CARNEIRO, R. M.; MARTINS, P. H. (Org.) **Abordagem ecossistêmica em saúde. Ensaio para o controle de dengue**. Ed. Universitária da UFPE, Recife, 2005, p. 115-136.

SANTOS, S. R. A. et al. Field evaluation of ovitraps consorciated with grass infusion and *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* to determine oviposition rates of *Aedes aegypti*. **Dengue Bulletin**, Brasília, DF, v. 27, p. 156-162, 2003.

SWADDIWUDHIPONG, W. et al. Effect of Health education on community participation in control of dengue hemorrhagic fever in an urban area of Thailand. **The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, Bangkok, v.23, n.2, p.200-206, 1992.

TAUIL, P.L. Aspectos críticos do controle do dengue no Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 18, p. 867-871, 2002.

TEIXEIRA, M. G.; RISI JUNIOR, J. B.; COSTA, M. C. N. Vigilância epidemiológica. *In*: ROUQUAYROL, M. Z.; ALMEIDA FILHO, N. **Epidemiologia & Saúde**. 6. ed., Rio de Janeiro, Ed. MEDSI, 2003, p. 313- 356.

CONCLUSÕES

9 CONCLUSÕES

Tendo em vista os objetivos propostos e os resultados obtidos no estudo, para o período de 1987 a 2006, concluímos que:

1. A primeira epidemia de dengue do estado de Pernambuco foi causada pelo DENV-1, em 1987, tendo sido controlada no mesmo ano.
2. Entre 1988 e 1994, houve um período de silêncio epidemiológico, sem ocorrência de casos autóctones.
3. Foram identificadas as seguintes epidemias no estado: 1995-1996, causada pelo DENV-2, 1997-1999, causada pelo DENV-1 e 2002, pelo DENV-3.
4. A Região Metropolitana do Recife foi a mais atingida durante as epidemias, ocorrendo a disseminação do vírus do litoral, para o interior.
5. O maior número de casos de cada epidemia foi notificado durante os meses de março a maio, no verão, estação seca, com ocorrência de chuvas intermitentes, evidenciando a sazonalidade da doença.
6. A maior incidência de casos de dengue foi observada na faixa etária de 20 a 49 anos, tanto na forma clássica, quanto na forma hemorrágica da doença.
7. A infecção pelo vírus dengue foi mais freqüente nas mulheres do que nos homens, ocorrendo em todas as faixas etárias, incluindo crianças com menos de um ano de idade, bem como maiores de 80 anos. A partir de 2003 os menores de 15 anos foram mais atingidos do que em anos anteriores.
8. A infecção seqüencial (secundária) esteve associada a uma maior freqüência de casos de febre hemorrágica da dengue. Entretanto, a dengue hemorrágica, inclusive óbitos, ocorreu em ambos os tipos de infecção, primária e secundária, sendo causadas por qualquer um dos sorotipos circulantes.

9. A taxa de letalidade por dengue hemorrágica no estado foi muito elevada (5,4%), muito superior à esperada pela Organização Mundial de Saúde.
10. Formas atípicas da doença, como manifestações neurológicas, ocorreram tanto em casos de infecção primária, como em infecção secundária e foram causadas pelos sorotipos 1, 2 e 3 do vírus.
11. Foi possível e adequado, em consonância com os objetivos do estudo, realizar o estudo epidemiológico utilizando dados secundários, principalmente do banco de dengue do LACEN-PE.
12. A utilização do banco de vírus do LACEN-PE permitiu a adequada caracterização molecular dos vírus isolados ao longo dos anos.
13. As análises filogenéticas, dos vírus isolados no período estudado, confirmaram a existência de um único genótipo para cada um dos três sorotipos circulantes: genótipo Américas/África (DENV-1), Sudeste da Ásia (DENV-2) e Índia Subcontinental (DENV-3).
14. As mutações observadas nas amostras de DENV-3 merecem ser investigada com mais profundidade, para conhecer melhor o seu significado.
15. Os genótipos identificados foram responsáveis tanto por infecções inaparentes, como pelas formas graves, como a dengue hemorrágica, hepatites, manifestações neurológicas, e óbitos.

RECOMENDAÇÕES

- Melhorar a qualidade dos dados epidemiológicos dos casos notificados.
- Melhorar a vigilância epidemiológica e a assistência à saúde, a visando reduzir a incidência da doença e a taxa de letalidade.
- Investir no diagnóstico diferencial das doenças febris agudas e das exantemáticas.
- Investir em testes moleculares (PCR) para o diagnóstico da dengue, nos laboratórios da rede pública, pois, á medida que aumentarem os casos de infecção seqüencial, os testes sorológicos poderão não ser suficientes para a confirmação dos casos.
- Dar continuidade ao monitoramento dos genótipos que circulam no estado, a fim de detectar a possível introdução de outros genótipos, assim como detectar possíveis mutações que possam vir a ocorrer. Investigar o significado das mutações observadas no DENV-3.

ANEXOS



Centro de Pesquisas
ACQUE MAGALHÃES



Ministério da Saúde

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO CPqAM/FIOCRUZ

Título do Projeto: "Dengue no estado de Pernambuco 1987-2003: Epidemiologia e caracterização molecular dos sorotipos

Pesquisador responsável: Marli Tenório Cordeiro

Instituição onde se realizará o projeto: CPqAM/FIOCRUZ

Data de apresentação ao CEP: 21/11/2005

Registro no CEP/CPqAM/FIOCRUZ: 62/05

Registro no CAEE: 0759.0.095.000-05

PARECER

O Comitê avaliou e considera que os procedimentos metodológicos do Projeto em questão estão condizentes com a conduta ética que deve nortear pesquisas envolvendo seres humanos, de acordo com o Código de Ética, resolução CNS 196/96, e complementares.

O projeto está aprovado para ser realizado em sua última formatação apresentada ao CEP e este parecer tem validade até 05 de dezembro de 2008. Em caso de necessidade de renovação do Parecer, encaminhar relatório e atualização do projeto.

Recife, 05 de dezembro de 2005

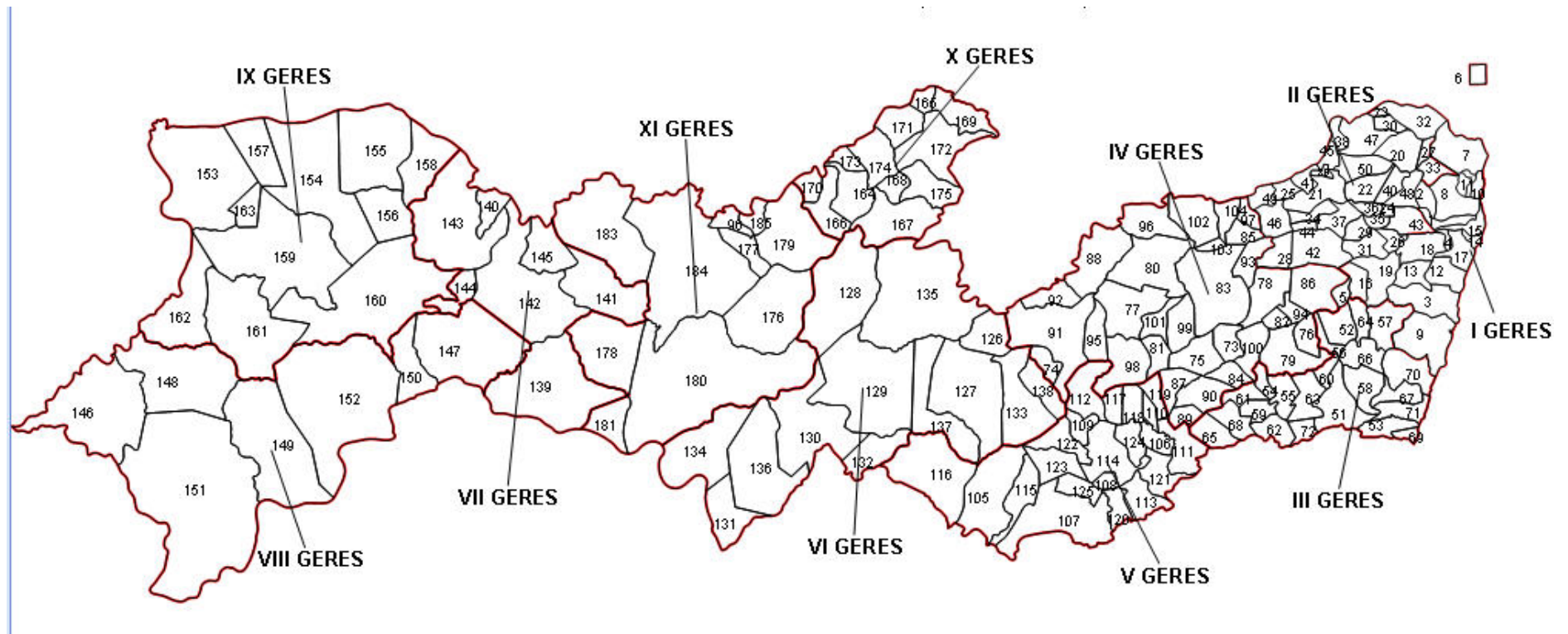
Ana Maria A. Santos

Dr^a Ana Maria Aguiar dos Santos
Médica
Coordenação
CEP/CPqAM/FIOCRUZ

Observação:

Qualquer modificação realizada no projeto final aprovado e não submetida à nova avaliação deste Comitê de Ética em Pesquisa (CEP/CPqAM), o pesquisador- responsável estará assumindo total responsabilidade pelo descumprimento da Resolução N^o 196/96 vigente, que trata do assunto Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos, e demais códigos Cíveis e Penais que garantam a proteção à vida humana e à cidadania daqueles que se sentirem lesados em quaisquer um de seus direitos.

ANEXO B



Mapa do estado de Pernambuco, divisão por municípios e por Gerência Regional de Saúde (GERES); o nome do município está representado por numeral arábico, cujo nome está identificado na Tabela B.

Fonte: Fonte: SES-PE/Gerência Geral de Vigilância em Saúde

ANEXO B (Tabela)

Municípios que integram cada GERÊNCIA REGIONAL DE SAÚDE (GERES) do estado de Pernambuco

I GERES –Sede: RECIFE				Nº de municípios: 19					
1	Abreu e Lima	5	Chã Grande	9	Ipojuca	13	Moreno	17	Recife
2	Araçoiaba	6	Fernando de Noronha	10	Itamaracá	14	Olinda	18	São Lourenço da Mata
3	Cabo	7	Goiana	11	Itapissuma	15	Paulista	19	Vitória de Santo Antão
4	Camaragibe	8	Igarassu	12	Jaboatão dos Guararapes	16	Pombos		

II GERES – Sede: LIMOEIRO				Nº de municípios: 31					
20	Aliança	26	Chã de Alegria	32	Itambé	38	Macaparana	44	Salgadinho
21	Bom Jardim	27	Condado	33	Itaquitinga	39	Machados	45	São Vicente Férrer
22	Buenos Aires	28	Cumaru	34	João Alfredo	40	Nazaré da Mata	46	Surubim
23	Camutanga	29	Feira Nova	35	Lagoa de Itaenga	41	Orobó	47	Timbaúba
24	Carpina	30	Ferreiros	36	Lagoa do Carro	42	Passira	48	Tracunhaém
25	Casinhas	31	Glória do Goitá	37	Limoeiro	43	Paudalho	49	Vertente do Lério
								50	Vicência

III GERES – Sede: PALMARES				Nº de municípios: 22					
51	Água Preta	56	Cortês	61	Lagoa dos Gatos	66	Ribeirão	71	Tamandaré
52	Amaraji	57	Escada	62	Maraial	67	Rio Formoso	72	Xexéu
53	Barreiros	58	Gameleira	63	Palmares	68	São Benedito do Sul		
54	Belém de Maria	59	Jaqueira	64	Primavera	69	São José da Coroa Grande		
55	Catende	60	Joaquim Nabuco	65	Quipapá	70	Sirinhaém		

Fonte: Fonte: SES-PE/Gerência Geral de Vigilância em Saúde

ANEXO B (continuação)

Municípios que integram cada GERÊNCIA REGIONAL DE SAÚDE (GERES) do estado de Pernambuco (continuação)

IV GERES – Sede: CARUARU										Nº de municípios: 32	
73	Agrestina	79	Bonito	85	Frei	91	Pesqueira	98	São Bento do Una		
74	Algoíinha	80	Brejo da Madre de Deus	86	Miguelinho	92	Poçoão	99	São Caetano		
75	Altinho	81	Cachoeirinha	87	Gravatá	93	Riacho das Almas	100	São Joaquim do Monte		
76	Barra de Guabiraba	82	Camocim de São Félix	88	Ibirajuba	94	Sairé	101	Tacaimbó		
77	Belo Jardim	83	Caruaru	89	Jataúba	95	Sanharó	102	Taquaritinga do Norte		
78	Bezerros	84	Cupira	90	Jurema	96	Santa Cruz do Capibaribe	103	Toritama		
					Panelas	97	Santa Maria do Cambucá	104	Vertentes		
V GERES – Sede: GARANHUNS										Nº de municípios: 21	
105	Águas Belas	109	Caetés	113	Correntes	117	Jucatí	121	Palmerina		
106	Angelim	110	Calçados	114	Garanhuns	118	Jupi	122	Paranatama		
107	Bom Conselho	111	Canhotinho	115	Iatí	119	Lajedo	123	Saloá		
108	Brejão	112	Capoeiras	116	Itaíba	120	Lagoa do Ouro	124	São João		
								125	Terezinha		
VI GERES – Sede: ARCOVERDE										Nº de municípios: 13	
126	Arcoverde	129	Ibimirim	132	Manari	135	Sertânia	138	Venturosa		
127	Buíque	130	Inajá	133	Pedra	136	Tacaratu				
128	Custódia	131	Jatobá	134	Petrolândia	137	Tupanatinga				
VII GERES – Sede: SALGUEIRO										Nº de municípios: 7	
139	Belém de São Francisco	141	Mirandiba	143	Serrita	145	Verdejante				
140	Cedro	142	Salgueiro	144	Terra Nova						

Fonte: SES-PE/Gerência Geral de Vigilância em Saúde

ANEXO B (continuação)

Municípios que integram cada GERÊNCIA REGIONAL DE SAÚDE (GERES) do estado de Pernambuco (continuação).

VIII GERES – Sede: PETROLINA						Nº de municípios: 7			
146	Afrânio	148	Dormentes	150	Orocó	152	Santa Maria da Boa Vista		
147	Cabrobó	149	Lagoa Grande	151	Petrolina				
IX GERES – Sede: OURICURI						Nº de municípios: 11			
153	Araripina	156	Granito	159	Ouricuri	162	Santa Filomena		
154	Bodocó	157	Ipubi	160	Parnamirim	163	Trindade		
155	Exu	158	Moreilândia	161	Santa Cruz				
X GERES – Sede: AFOGADOS DA INGAZEIRA						Nº de municípios: 12			
164	Afogados da Ingazeira	167	Iguaraci	170	Quixaba	172	São José do Egito	174	Tabira
165	Brejinho	168	Ingazeira	171	Santa Terezinha	173	Solidão	175	Tuparetama
166	Carnaíba	169	Itapetim						
XI GERES – Sede: SERRA TALHADA						Nº de municípios: 10			
176	Betânia (VI)	178	Carnaubeira da Penha (VII)	180	Floresta (VII)	182	Santa Cruz da Baixa Verde (X)	184	Serra Talhada (X)
177	Calumbi (X)	179	Flores (X)	181	Itacuruba (VII)	183	São José do Belmonte (VII)	185	Triunfo (X)

Fonte: SES-PE/Gerência Geral de Vigilância em Saúde

XI GERES – Formada por municípios que foram desmembrados de outras GERES, destacados entre parêntese, na cor azul (VI, VII e X).

ANEXO C

ESTADO DE PERNAMBUCO: MAPA DAS MESORREGIÕES

Fonte: www.pernambuco.gov.br



Figura 1 PE: Mesorregião Metropolitana do Recife



Figura 2 PE: Mesorregião da Mata

ANEXO C (continuação)



Figura 3 PE: Mesorregião do Agreste

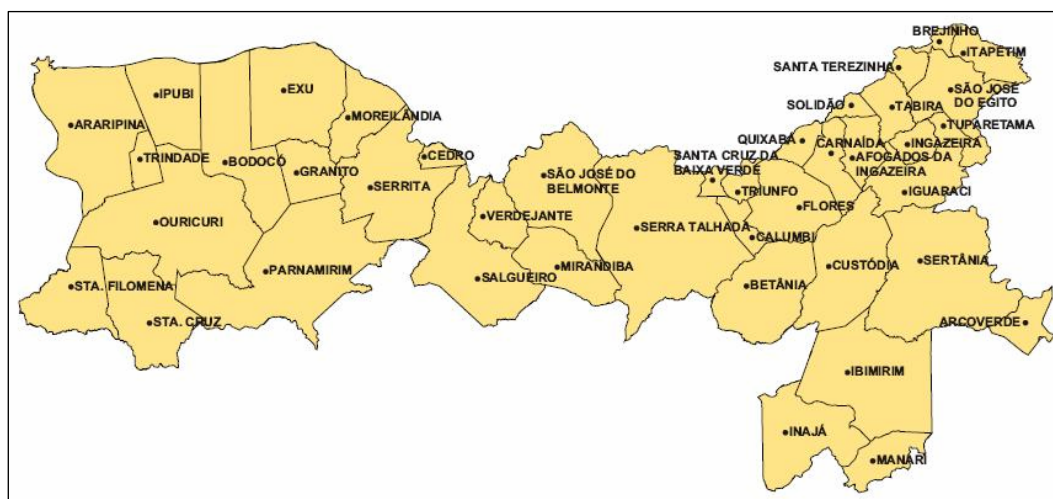
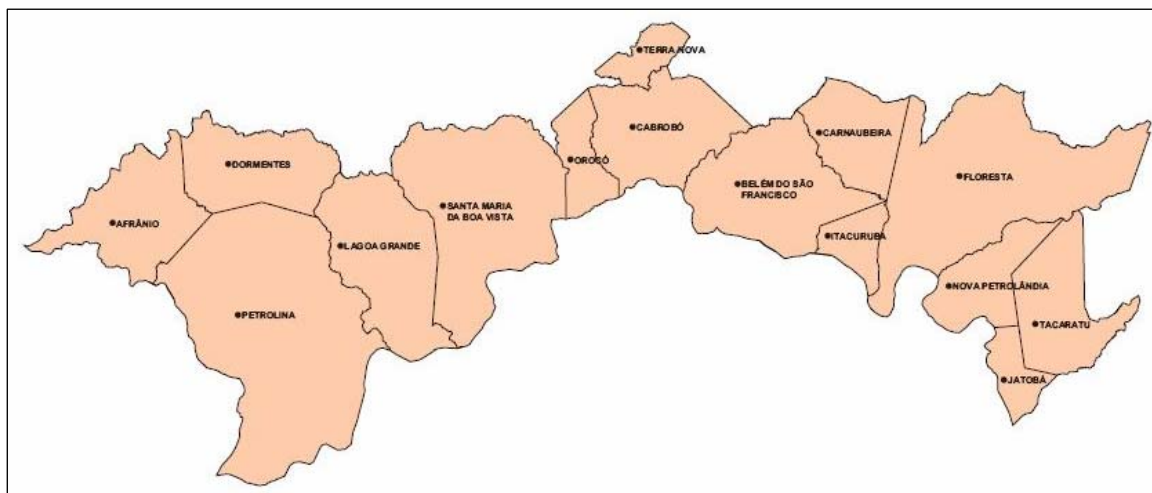


Figura 4 PE: Mesorregião do Sertão

ANEXO C (continuação)**Figura 5 Mesorregião do São Francisco**Fonte: www.pernambuco.gov.br