

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL  
ÉVENY CRISTINE LUNA DE OLIVEIRA**

**ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS EM PACIENTES COM QUADRO CLÍNICO DE  
DENGUE ATENDIDOS NO HOSPITAL DIA PROFESSORA ESTERINA CORSINI DE  
JANEIRO A MAIO DE 2007**

**CAMPO GRANDE  
2009**

**ÉVENY CRISTINE LUNA DE OLIVEIRA**

**ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS EM PACIENTES COM QUADRO CLÍNICO DE DENGUE ATENDIDOS NO HOSPITAL DIA PROFESSORA ESTERINA CORSINI DE JANEIRO A MAIO DE 2007**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito parcial para a obtenção de grau de mestre em Doenças Infecciosas e Parasitárias, sob orientação da Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elenir Rose Jardim Cury Pontes e coorientação do Prof. Dr. Rivaldo Venâncio da Cunha.

**CAMPO GRANDE  
2009**



Serviço Público Federal  
Ministério da Educação  
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

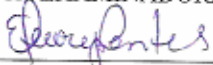
Programa de Pós Graduação em  
Doenças Infecciosas e Parasitárias




## TERMO DE APROVAÇÃO

A dissertação intitulada ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS EM PACIENTES COM QUADRO CLÍNICO DE DENGUE ATENDIDOS NO HOSPITAL DIA PROFESSORA ESTERINA CORSINI DE JANEIRO A MAIO DE 2007, apresentada à banca examinadora por ÉVENY CRISTINE LUNA DE OLIVEIRA, como exigência para a obtenção do título de Mestre em Doenças Infecciosas e Parasitárias, na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, obteve aprovação.

BANCA EXAMINADORA:

  
Elenir Rose Jardim Cury Pontes – UFMS

  
Marcia Maria Ferrairo Janini Dal Fabbro – SESAUCEDIP

  
Rivaldo Venâncio da Cunha – UFMS

Campo Grande, 28 de julho de 2009.

Aos que, com muito amor, estiveram sempre presentes em minha vida, querendo o meu bem, alegrando-se com minhas conquistas, consolando-me nas minhas tristezas e ensinando-me a ser melhor.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus em quem deposito toda minha fé e sem o qual nada existiria. Obrigada Senhor pelo auxílio e por permitir a conclusão deste objetivo.

Agradeço à minha família pelo apoio e ensinamento cotidiano.

Agradeço aos colegas Íris Bucker Fróes e Delso Nascimento pela dedicação no árduo trabalho de levantamento de dados nos prontuários e pelo auxílio na resolução de problemas.

Agradeço a todos os funcionários do Hospital Dia que sempre se mantiveram prestativos, realizando suas atividades com zelo e respeito tanto pelos pacientes quanto pelos profissionais que por ali passam.

Agradeço aos bioquímicos e demais funcionários do laboratório de hematologia e de análises clínicas pelo grande trabalho durante a epidemia de dengue, realizando incontáveis coletas e exames sem perder a qualidade do serviço.

Agradeço à Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elenir Rose Jardim Cury Pontes pela orientação na realização desse trabalho. Sempre com serenidade, bom ânimo e palavra amiga.

Agradeço ao Prof. Dr. Rivaldo Venâncio da Cunha pela orientação, apoio e incentivo na realização desse trabalho.

Agradeço à Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Sônia Maria Oliveira de Andrade por saber ensinar o apreço à qualidade de um trabalho, mostrando que sempre devemos buscar o melhor.

Agradeço à Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Maria de Fátima Cepa Matos pela inestimável contribuição técnica ao trabalho.

Agradeço a todos os professores do programa de pós-graduação em doenças infecciosas e parasitárias por proporcionarem a aquisição de novos conhecimentos e colaborarem na construção desse trabalho.

Agradeço a todos os colegas de sala de aula que, além de serem divertidos, companheiros e generosos, compartilharam conhecimentos e permitiram que a experiência do mestrado fosse muito mais agradável.

Sede como os pássaros que, ao pousarem um instante sobre ramos muito leves, sentem-nos ceder, mas cantam! Eles sabem que possuem asas.

Victor Hugo

## RESUMO

Apesar de sua longa história na humanidade, o dengue é um patógeno temido que provoca o que hoje é considerada uma das principais arboviroses do mundo. Manifesta-se como uma doença epidêmica com grande importância na morbidade e mortalidade de crianças e adultos, ocorrendo predominantemente nas regiões tropicais e subtropicais. Dentre os vários comprometimentos orgânicos evidenciados nessa doença, há as alterações hematológicas associadas às modificações da celularidade sanguínea e aos distúrbios de hemostasia. Este trabalho objetivou analisar as alterações hematológicas de pacientes infectados pelo DEN3 na epidemia de 2007 em Campo Grande, Mato Grosso do Sul através do estudo retrospectivo de 543 prontuários e determinação da evolução plaquetária e leucocitária a partir do primeiro dia de instalação dos sintomas. Utilizaram-se os programas Epi-info 3.4.1 e Bioestat para análise estatística. O maior número de pacientes foi classificado como dengue clássico (90,2%) com gravidade clínica leve. As principais alterações hematológicas observadas foram a leucopenia (68,3%), plaquetopenia (66,5%), linfocitopenia (67,2%) e presença de linfócitos atípicos (67,0%). A FHD apresentou linfopenia e plaquetopenia mais acentuadas e maior número de linfócitos atípicos. As alterações hematológicas apresentaram evolução diária semelhante às encontradas no DC, exceto a plaquetopenia, que ocorreu mais precocemente na FHD. As alterações hematológicas observadas no dengue apresentaram-se de acordo com a evolução clínica e gravidade da doença.

Palavras-chave: dengue, leucopenia, plaquetopenia



## ABSTRACT

Despite its long history in humanity, dengue virus is a harmful pathogen that causes what nowadays is considered one of the most important Arboviruses in the world. It is manifested as an epidemic disease with high morbidity and mortality in children and adults, occurring mostly in tropical and subtropical regions. Among the various organic commitments shown in this disease, there are changes associated with modifications in blood cell count and blood disorders of hemostasis. This study aimed to examine the hematological abnormalities of patients infected by the epidemic DEN3 on the beginning of 2007 in Campo Grande, Mato Grosso do Sul through the retrospective study of 543 medical records. It had been determined the platelet and leukocyte changes from the first day of the symptoms and used Epi-info 3.4.1 and Bioestat for statistical analysis. The largest number of patients was classified as classic dengue (90.2%) with mild clinical severity. The main abnormalities observed were leukopenia (68.3%), thrombocytopenia (66.5%), lymphocytopenia (67.2%) and atypical lymphocytes (67.0%). DHF showed lymphopenia and thrombocytopenia more pronounced and larger number of atypical lymphocytes. Hematological changes daily showed similar trends to those found in DC, except for thrombocytopenia, which occurred earlier in DHF. Hematological changes observed in dengue presented in accordance with the clinical course and disease.

Keywords: dengue, leukopenia, thrombocytopenia.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - (A) Representação esquemática do Flavivírus. (B) Representação esquemática do genoma viral.....	22
Figura 2 - Esquematização da replicação do dengue vírus.....	24
Figura 3 - Esquematização do ciclo de transmissão do dengue vírus pelo mosquito <i>Aedes aegypti</i> .....	26
Figura 4 - Espectro clínico de apresentação do dengue.....	27
Figura 5 - Plaquetas (mediana) segundo o tipo de dengue (classificação da OMS), Campo Grande – 2007.....	45
Figura 6 - Leucócitos (mediana) segundo o tipo de dengue (classificação da OMS), Campo Grande – 2007.....	45
Figura 7 - Linfócitos atípicos (mediana) segundo o tipo de dengue (classificação da OMS), Campo Grande – 2007.....	46
Figura 8 - Linfócitos (mediana) segundo o tipo de dengue (classificação da OMS), Campo Grande – 2007.....	46
Figura 9 - Neutrófilos (mediana) segundo o tipo de dengue (classificação da OMS), Campo Grande – 2007.....	47
Figura 10 - Monócitos (mediana) segundo o tipo de dengue (classificação da OMS), Campo Grande – 2007.....	48
Figura 11 - Componentes do hemograma (mediana) segundo o tipo de dengue “clássico” (classificação da OMS), Campo Grande – 2007.....	49
Figura 12 - Componentes do hemograma (mediana) segundo o tipo de dengue “febre hemorrágica” (classificação da OMS), Campo Grande – 2007.....	49

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Número e porcentagem de pacientes segundo sexo, faixa etária e tipo de dengue (classificação da OMS), Campo Grande – 2007 .....	41
Tabela 2 – Número e porcentagem de pacientes segundo a classificação da OMS para a gravidade da febre hemorrágica, Campo Grande – 2007 .....	41
Tabela 3 – Número e porcentagem de pacientes segundo prova do laço, presença de sangramento e o tipo de dengue (classificação da OMS), Campo Grande – 2007 .....	42
Tabela 4 – Número e porcentagem de pacientes que apresentaram hemorragia segundo o tipo de sangramento e o tipo de dengue (classificação da OMS), Campo Grande – 2007.....	43
Tabela 5 – Número e porcentagem de pacientes segundo os sinais e sintomas e o tipo de dengue (classificação da OMS), Campo Grande – 2007 .....	44

## LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

ADP – Adenosina Difosfato

CD – Cluster of Differentiation (Cluster de diferenciação celular)

DC – Dengue Clássico

DEN 1 – Vírus do dengue 1

DEN 2 – Vírus do dengue 2

DEN 3 – Vírus do dengue 3

DEN 4 – Vírus do dengue 4

DIC – Disseminated Intravascular Coagulation (Coagulação Intravascular disseminada)

ELISA – Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (Ensaio imunoenzimático)

FHD – Febre Hemorrágica do Dengue

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IC – Intervalo de Confiança

IgG – Imunoglobulina G

IgM – Imunoglobulina M

IL – Interleucina

INF – Interferon

NS – Non Structural (Proteína não estrutural)

NK – Natural Killer (linfócitos)

OMS – Organização Mundial da Saúde

PCR – Polimerase Chain Reaction (Reação de cadeia de polimerase)

PAF – Platelet Ativation Factor (Fator de ativação plaquetária)

RER – Retículo Endoplasmático Rugoso

RNA – Ribonucleic Acid (cido ribonucléico)

SDC – Síndrome do Choque do Dengue

TNF – Tumor Necrose Factor (Fator de necrose tumoral)

WHO – World Health Organization

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	18
<b>2.1 Aspectos históricos do dengue</b> .....	18
<b>2.2 Agente etiológico</b> .....	20
2.2.1 <u>Classificação</u> .....	20
2.2.2 <u>Estrutura proteica viral</u> .....	21
2.2.3 <u>Ciclo celular do vírus</u> .....	23
<b>2.3 Transmissão</b> .....	25
<b>2.4 Doença</b> .....	26
2.4.1 <u>Apresentação clínica</u> .....	26
2.4.2 <u>Apresentação laboratorial</u> .....	30
<b>2.5 Patogenia</b> .....	31
2.5.1 <u>Aspectos imunológicos</u> .....	31
2.5.2 <u>Aspectos hematológicos</u> .....	34
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	37
<b>3.1 Objetivo geral</b> .....	37
<b>3.2 Objetivos específicos</b> .....	37
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	38
<b>4.1 Tipo de pesquisa</b> .....	38
<b>4.2 Local e período</b> .....	38
<b>4.3 Sujeitos</b> .....	38
4.3.1 <u>Critérios de inclusão</u> .....	38
4.3.2 <u>Critérios de exclusão</u> .....	39
<b>4.4 Coleta e análise de dados</b> .....	39
<b>4.5 Aspectos éticos</b> .....	40
<b>5 RESULTADOS</b> .....	41
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	50
<b>7 CONCLUSÕES</b> .....	56
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	57

## 1 INTRODUÇÃO

O dengue coexiste com a humanidade há séculos, sendo a doença transmitida por mosquito que mais se alastra pelo mundo, acarretando importante morbidade, grande proporção de crianças acometidas, aumento progressivo da gravidade da doença e consequente aumento de mortalidade. É um sério problema de saúde pública, uma vez que seu controle está diretamente relacionado à melhoria dos determinantes de saúde dos indivíduos suscetíveis. A cada ano notificam-se 50 milhões de casos de dengue clássico e aproximadamente 500.000 casos de dengue hemorrágico com mortalidade variando de 1,0 a 4,5% e com mais de 2.5 bilhões de pessoas sob risco de infecção por dengue no mundo (WHO, 2003a; MCBRIDE; BIELEFELDT-OHMANNB, 2000).

Sua ocorrência é verificada principalmente nas áreas tropicais e subtropicais da Ásia, Oceania, África e das Américas e sua disseminação é restringida apenas pela distribuição do principal vetor, a fêmea do *Ae. aegypti*, que se difunde largamente no planeta e adapta-se preferencialmente a climas quentes e úmidos, o que favorece sua permanência, e consequentemente, a manutenção do vírus na natureza. Em áreas com grande atividade vetorial e alta densidade populacional um ou mais tipos virais podem se manter endêmicos. De outra forma, especialmente em populações pequenas e insulares, as epidemias resultam de introdução de uma nova cepa viral (TORRES, 2005a; MCBRIDE; BIELEFELDT-OHMANNB, 2000).

Nas áreas tropicais a transmissão do dengue ocorre durante todo o ano, no entanto, durante as estações chuvosas há um aumento na transmissão. Acredita-se que temperatura e umidade favorecem a sobrevivência de mosquitos adultos além do seu período extrínseco de incubação, que varia de 8 a 12 dias, aumentando a probabilidade de ocorrência de transmissão. Também é verificado que o aumento de temperatura reduz esse período de incubação. (MCBRIDE; BIELEFELDT-OHMANNB, 2000).

A patologia decorrente da infecção pelo vírus dengue é definida como uma doença febril de curso autolimitado que, já em suas primeiras descrições, há centenas de séculos, caracterizava-se como um quadro de grande morbidade devido à apresentação em forma de epidemias sequenciais em diversas localidades do mundo. Progressivamente, foram surgindo epidemias cada vez mais importantes e com quadros clínicos mais graves, associados a maior frequência de óbitos. Várias regiões do mundo tornaram-se endêmicas para o dengue e, ainda assim, a despeito de todo

conhecimento que se tem sobre essa enfermidade, ela persiste re-emergindo periodicamente e sendo negligenciada sem perspectivas de controle em curto prazo. (SCHATZMAYR, 2001; WHO, 1997b).

Esse pequeno patógeno desencadeia uma moléstia que interfere na economia de países, pois afeta milhares de pessoas, gera hospitalizações e traz prejuízos não apenas à saúde pública, mas também à cadeia produtiva trabalhista. Quando presente no organismo humano, provoca uma gama de alterações que se enquadram em um espectro clínico que vai desde um quadro leve, assintomático, com resolução média em sete dias, até presença de falência hemodinâmica e óbito. (WHO, 1997b).

Devido às interações complexas entre o vírus e o sistema imunológico humano, constantemente observam-se repercussões hematológicas nos pacientes com dengue. São comuns as alterações no hemograma, como hemoconcentração, leucopenia, plaquetopenia e alterações de hemostasia sanguínea com presença frequente de manifestações hemorrágicas. Algumas dessas alterações estão relacionadas com a gravidade da doença e indicam a necessidade de intervenção terapêutica com finalidade de reduzir a mortalidade (WHO, 1997b).

Apesar da febre do dengue ser relatada há muitos séculos, a FHD parece ser um fenômeno bem mais recente. Epidemias de FHD têm se tornado mais frequente, desde os anos cinquenta, no sudeste da Ásia e, desde os anos oitenta, na América Central. Isso coincide com a mudança de padrão da infecção pelo dengue. A infecção pelo dengue hoje causa mais doença e óbito do que qualquer outra arbovirose, tornando-se a principal causa de morbidade e mortalidade pediátrica em alguns países do Sudeste da Ásia (GUBLER, 1998).

Os fatores biológicos de risco associados ao desenvolvimento de FHD são a origem geográfica da cepa viral, especialmente DEN-2, a presença do “reforço” dos anticorpos originados na primeira infecção, idade, sexo, raça, estado nutricional, condições de saúde do hospedeiro humano, assim como a competência e densidade vetorial (GUBLER, 1998).

Por ser uma doença que apresenta risco elevado de disseminação no Brasil, todo caso suspeito e /ou confirmado deve ser notificado às autoridades sanitárias. Todo indivíduo que reside ou que, por algum motivo, esteve em área de transmissão de dengue ou que tenha presença do vetor *Aedes aegypti* é considerado caso suspeito de dengue se apresentar doença febril aguda acompanhada de dois ou mais dos seguintes sintomas: cefaleia, dor retro-orbital, mialgia, artralgia, prostração e/ou exantema (BRASIL, 2006a).

A confirmação do caso é feita por exame laboratorial específico, porém no curso de uma epidemia, após confirmação dos primeiros casos da área, a confirmação de dengue clássico é feita por critérios clínico-epidemiológicos. Suspeita-se de febre hemorrágica quando o caso suspeito de dengue apresenta manifestações hemorrágicas. Além disso, é necessária a presença de plaquetopenia menor que  $100.000/\text{mm}^3$ , indícios de extravasamento plasmático e confirmação laboratorial específica (BRASIL, 2006a).

No entanto, a variabilidade em estimar taxas de infecção subclínica em diferentes populações tem implicações importantes no modo de conduzir pesquisa interepidêmica. Em populações com altas taxas de infecção subclínica estimada, a pesquisa sorológica tem grande importância, enquanto a pesquisa clínica (com confirmação sorológica) é apropriada onde taxas de infecção subclínica são baixas (MCBRIDE; BIELEFELDT-OHMANNB, 2000).

Em estudos prospectivos de infecção por dengue em escolares em Bangkok, observou-se que 87% dos infectados eram assintomáticos ou minimamente sintomáticos e nenhum dos que tiveram infecção primária por dengue necessitou internação, no entanto, a presença de infecção secundária pelo dengue foi fator significativo para o desenvolvimento de febre hemorrágica (BURKE et al., 1988a). No entanto, quando avaliada população adulta a porcentagem de assintomáticos diminuiu. Como evidenciado nas epidemias de 1982 e 1991 em Porto Rico, nas quais respectivamente cerca de 35% e 13% dos indivíduos infectados foram considerados assintomáticos (MCBRIDE; BIELEFELDT-OHMANNB, 2000).

Estudos brasileiros evidenciam alta soroprevalência do vírus dengue na população e subnotificação dos casos, seja por infecções inaparentes ou pelas manifestações clínicas inespecíficas. Ainda assim, no Brasil, observa-se contínua expansão do número de casos de dengue ao longo dos últimos anos, sem haver real expectativa de mudança em futuro próximo. As epidemias de dengue já alteraram os indicadores de morbidade e a magnitude da sua incidência ultrapassou todas as outras doenças de notificação (TEIXEIRA et al., 2005a; SCHATZMAYR, 2001; VASCONCELOS et al., 1999; CUNHA et al., 1995a).

Alguns fatores são considerados para iniciação e manutenção de uma epidemia: as cepas virais, que podem influenciar a magnitude e duração da viremia em humanos; a densidade, o comportamento e a competência da população de mosquitos; a suscetibilidade da população humana (tanto fatores genéticos e imunidade pré-



existente); e a introdução do vírus dentro de uma comunidade receptiva (MCBRIDE; BIELEFELDT-OHMANN, 2000).

Os determinantes sociais de re-emergência da doença envolvem o aumento populacional com urbanização relacionada à oferta precária de saneamento, favorecendo a expansão das áreas de criadouro do mosquito, assim como a maior possibilidade de circulação através do aumento da capacidade de movimentação de indivíduos de diversas áreas do mundo (GUZMÁN; KOURÍ, 2002).

No Brasil, o dengue apresenta um padrão sazonal, com maior incidência de casos nos primeiros cinco meses do ano, período mais quente e úmido, típico dos climas tropicais. Em 2007, 79% dos casos suspeitos de dengue foram notificados no período de janeiro a maio, predominando o sorotipo DEN-3 que representou 77% das amostras isoladas no país (BRASIL, 2008b).

Circulam, até o momento, no país e no estado do Mato Grosso do Sul, os sorotipos virais 1, 2 e 3. Até 2006 circulavam no estado apenas os vírus DEN-1 e DEN-2, responsáveis por epidemias em anos anteriores, quando, a partir de então, foi detectada a introdução do vírus DEN-3 (BRASIL, 2004c; BRASIL, 2009d). O Mato Grosso do Sul é considerado um estado com alta incidência de dengue, verificando-se que o número de casos da doença tem aumentado progressivamente no decorrer dos anos, evoluindo de 253,74 casos novos confirmados/100 mil habitantes em 1997 para 404,96/100 mil em 1999 e para 517,61/100 mil habitantes em 2001, com taxa de incidência acima da verificada no Brasil (BRASIL, 2004c).

Em 2007, durante a epidemia, foram registradas 69.378 notificações da doença no estado. O DEN-3 foi o único vírus circulante identificado nessa epidemia, que foi a maior em número de casos já observada no estado. Campo Grande, com uma população, no período, estimada em 724.524 habitantes, foi um dos municípios mais atingidos pela epidemia com 44.695 casos notificados da doença apenas no período de janeiro a maio, o que implicou em aproximadamente 1 caso para cada 16 habitantes. Em decorrência do grande número de doentes foram necessárias estratégias de atendimento e acompanhamento desses pacientes o que propiciou a documentação da evolução clínica e laboratorial da doença, possibilitando a avaliação diária das alterações apresentadas pelos pacientes (BRASIL, 2009d; BRAZUNA, 2008; IBGE, 2007).

Este estudo acrescenta conhecimento quanto aos parâmetros hematimétricos, evidenciados nos hemogramas de indivíduos infectados, do primeiro dia de sintomatologia até o décimo dia de evolução. A presença de alterações hematológicas

é demonstrada em vários estudos, porém a evolução dessas alterações durante o transcorrer da doença e a ocorrência de diferenças entre pacientes com dengue clássico e febre hemorrágica do dengue são aspectos pouco enfocados e que são apresentados neste trabalho com a finalidade de proporcionar novos dados que auxiliem na melhor compreensão do processo patológico envolvido no dengue.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Aspectos históricos do dengue

O dengue foi assim denominado, no século XIX, pelos espanhóis que, provavelmente, adaptaram a palavra da expressão africana “ka dinga pepo”. Muitos eram os termos utilizados para a doença, “el dengue” e “quebranta ossos” pelos espanhóis, “break-bone-fever” e “dandy fever” pelos norteamericanos e colonizadores britânicos, “ka dinga pepo” pelos escravos africanos que chegavam à América e “polka” ou “febre reumática eruptiva” no Brasil. Na Índia foi chamada de febre de Aden, pois se supunha que era originária de Aden na Arábia, e em Meca, carregada pelos peregrinos mulçumanos, chamava-se “aburunka-bah” que significa “pai do joelho” e se referia à dor articular produzida pela doença. Em sua primeira aparição nas ilhas britânicas do Caribe, por alguma razão, acreditava-se que havia sido trazida pelos escravos e por isso foi também chamada febre Africana, suscitando que sua origem estaria relacionada a esse continente (REGO, 1872; RIGAU-PEREZ, 1998; THOMAS, 1880).

No entanto, o relato mais antigo compatível com um possível quadro de dengue ocorreu na China entre os anos de 265 d.C. e 992 d.C., com descrição de uma doença chamada de “veneno da água” pois naquela época já se acreditava ser transmitida por insetos voadores associados à água. Esse fato fortaleceu a hipótese de que, na verdade, a doença originou-se na Ásia. Os relatos posteriores de doença semelhante só ocorreram em 1635 nas Índias Ocidentais Francesas, ou Caribe, e em 1699 no Panamá (GUBLER, 1998; SCHNEIDER; DROLL, 2001).

As epidemias dos séculos XVIII e XIX ocorreram em períodos históricos de grande movimentação marítima, de descobertas territoriais e incremento populacional que propiciaram a introdução e disseminação da doença nas Américas. As primeiras epidemias atribuídas ao dengue ocorreram em 1779-1780 simultaneamente na Ásia, África e América do Norte, havendo também relatos de uma epidemia denominada “quenturas benignas de Sevilha” na Espanha em 1784 e uma epidemia em Cuba no ano de 1782 (TORRES, 2005a).

Após um período de silêncio epidemiológico, ocorreram, no século XIX, uma epidemia no Peru em 1818 e três pandemias nas Américas do Norte e Central, uma no Caribe e na costa atlântica dos Estados Unidos em 1827, uma em Havana e Nova Orleans entre 1846 e 1850 e outra, novamente no Caribe, entre 1879 e 1880. Também

ocorreram, por essa época, algumas epidemias na Austrália, Grécia e África e surtos no Egito (SCHNEIDER; DROLL, 2001; TORRES, 2005a).

Epidemias e surtos subsequentes foram descritos com um curso mais grave e com manifestações hemorrágicas. Assim foram com a epidemia de 1897 em Havana e os surtos no Texas no mesmo ano e na Flórida no ano seguinte. No início do século XX, epidemias graves com quadros hemorrágicos e óbitos foram evidenciadas no Panamá, na Austrália e na Grécia. Porém, além das epidemias, o dengue era observado esporadicamente em várias regiões do mundo, o que lhe conferiu um caráter endêmico, principalmente após a Segunda Guerra Mundial no sudeste da Ásia (HENCHAL; PUTNAK, 1990; TORRES, 2005a).

Foi também no século XX que aconteceram importantes descobertas científicas sobre a doença. Em 1906, Ashburn e Craig fizeram o primeiro relato sobre o caráter microscópico do agente etiológico do dengue, porém a identificação viral não ocorreu até antes de 1944-1945, período em que, estimulado pela demanda da guerra no sul do Pacífico, Sabin e colaboradores isolaram cepas virais inoculando soro infectado em voluntários humanos (HENCHAL; PUTNAK, 1990).

Já a suspeita de que havia um mosquito transmissor da doença ocorreu em 1906, com resultados promissores ratificados por Bancroft, em que Graham testou, em estudo na Síria, a transmissão tanto por *Culex fatigans* e por *Stegomyia fasciata*, e por Agramonte em Cuba em 1908 (BANCROFT, 1906; TORRES, 2005a). Posteriormente, em 1916, Cleland e colaboradores confirmaram a *Stegomyia fasciata*, atual *Aedes aegypti*, como vetor da febre do dengue (CLELAND; BRADLEY; MCDONALD, 1918).

No Brasil, a primeira epidemia descrita foi em 1846 na cidade do Rio de Janeiro e se estendeu até meados de 1847, recrudescendo no início de 1848 já com um número bem menor de acometidos. Nesse período também ocorreram casos da doença na Bahia, em Pernambuco, em Minas Gerais e em São Paulo. Em 1886 é registrada uma epidemia na cidade de Valença no Rio de Janeiro e em 1890 são mencionados os primeiros casos no Paraná (LUZ, 1889; REGO, 1872; REIS, 1896).

Apesar dos registros anteriores e de evidências de epidemias em 1917 no Rio Grande do Sul e em 1923 no Rio de Janeiro, a primeira epidemia de dengue confirmada laboratorialmente com isolamento viral ocorreu entre 1981 e 1982 em Boa Vista, no estado de Roraima, provavelmente, procedente da Venezuela. O período em que não foram mencionadas epidemias no país ocorreu provavelmente porque a partir de 1942 o Brasil iniciou medidas de controle do vetor, erradicando-o do país até 1967 (CÂMARA et al., 2007; SCHNEIDER; DROLL, 2001).

Em Mato Grosso do Sul a primeira detecção de vírus circulante ocorreu em 1987 e a primeira notificação de casos autóctones da doença aconteceu em 1990. Em 1995, na vigência de uma epidemia, foi relatado o primeiro caso hemorrágico da doença (CUNHA et al., 1996b).

## 2.2 Agente etiológico

### 2.2.1 Classificação

O agente etiológico do dengue é um dos patógenos virais mais comuns transmitidos por artrópodes, desencadeando o que se denomina uma arbovirose. É um vírus membro da família *Flaviviridae*, do gênero *Flavivirus*. Esse gênero compreende mais de setenta vírus, dos quais, quarenta tem importância clínica dentre eles os vírus da febre amarela, da febre do Nilo Ocidental e da encefalite japonesa. São conhecidos quatro sorotipos virais (DEN-1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4), antigenicamente distintos, causadores de dengue (SHOUB; VENTER, 2009).

Análises moleculares e filogenéticas demonstram a presença de variações que caracterizam múltiplos diferentes genótipos dentro de cada sorotipo viral. Baseado na sequência de nucleotídeos do gene do envelope (E) os vírus DEN-1 e DEN-2 têm sido classificados em cinco genótipos, os vírus DEN-3 em quatro genótipos e o vírus DEN-4 em dois genótipos. Esses genótipos recebem denominação de acordo com o país ou localidade de origem da cepa estudada (LANCIOTTI; GUBLER; TRENT, 1997; TRENT et al., 1990).

Os cinco genótipos atualmente reconhecidos para o DEN-1 são: o genótipo I representado por vírus isolados do Havaí, Sudeste da Ásia, China e Leste africano; o genótipo II, representado por cepas isoladas na Tailândia; o genótipo III, representado por uma cepa selvagem da Malásia; o genótipo IV que inclui vírus isolados de ilhas do Pacífico Oeste e Austrália e o genótipo V que corresponde a grupos de cepas isoladas da América, África ocidental e Ásia (GONÇALVEZ et al., 2002).

Para os vírus DEN-2 os cinco genótipos são representados por cepas do Caribe e Pacífico Sul (genótipo I); de Taiwan, Filipinas, o protótipo Nova Guiné e a cepa Tailândia 1964 (genótipo II); do Vietnã, Jamaica e Tailândia (genótipo III); da Indonésia, Seicheles, Burquina Fasso e Sri Lanka (genótipo IV) e da África rural (genótipo V) (COLOGNA; RICO-HESSE, 2003).

O genótipo I do DEN-3 consiste de vírus da Indonésia, Malásia, Filipinas e ilhas do Pacífico Sul; o genótipo II consiste de vírus da Tailândia; o genótipo III de vírus do Sri Lanka, Índia, África e Samoa; o genótipo IV de vírus de Porto Rico e Taiti. Os genótipos do DEN-4 são: o genótipo I que está relacionado com vírus das Filipinas, Tailândia e Sri Lanka; o genótipo II de vírus da Indonésia, Taiti. Ilhas do Caribe (Porto Rico, Dominica) e Américas Central e do Sul (LANCIOTTI; GUBLER; TRENT, 1997).

### 2.2.2 Estrutura proteica viral

Os flavivírus possuem cerca de 65 a 70% de homologia entre si e são partículas esféricas com cerca de 45nm de diâmetro envelopadas por uma camada lipídica. Apresentam cadeia única e linear de RNA de polaridade positiva contendo 10 genes em uma cadeia aberta de leitura e envolta por um nucleocapsídeo icosaédrico de aproximadamente 30nm (Figura 1A). O genoma RNA do vírus codifica três proteínas estruturais que são a do capsídeo ou core - C, da membrana - M (ou prM) e do envelope - E e 7 proteínas não estruturais que são NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b e NS5 transcritas nessa sequência ordenada a partir da região não traduzida 5' até a região não traduzida 3' (Figura 1B) (GREEN;ROTHMAN, 2006; BURKE;MONATH, 2001).

A primeira proteína produzida na transcrição é a proteína C que tem sua estrutura conservada entre os flavivírus, porém menos que as outras proteínas estruturais. É capaz de neutralizar a molécula de RNA viral, mas não é capaz de produzir anticorpos neutralizantes. O precursor prM é clivado a M durante a maturação viral antes de sua liberação pela célula. Esse evento é crucial na morfogênese do vírus e essencial para uma correta ativação da proteína E, propiciando que esta adquira sua forma tridimensional ativa (GREEN; ROTHMAN, 2006; BURKE; MONATH, 2001, HENCHAL; PUTNAK, 1990).

A glicoproteína E é a maior proteína estrutural e está relacionada com hemaglutinação, com a neutralização do vírus, pela produção de anticorpos na resposta imunológica protetora, e com interação com superfícies celulares através da fusão e acoplamento viral. As diferenças nos aminoácidos que compõem a proteína E podem afetar as propriedades biológicas e a antigenicidade do vírion (HENCHAL; PUTNAK, 1990; TORRES, 2005a).

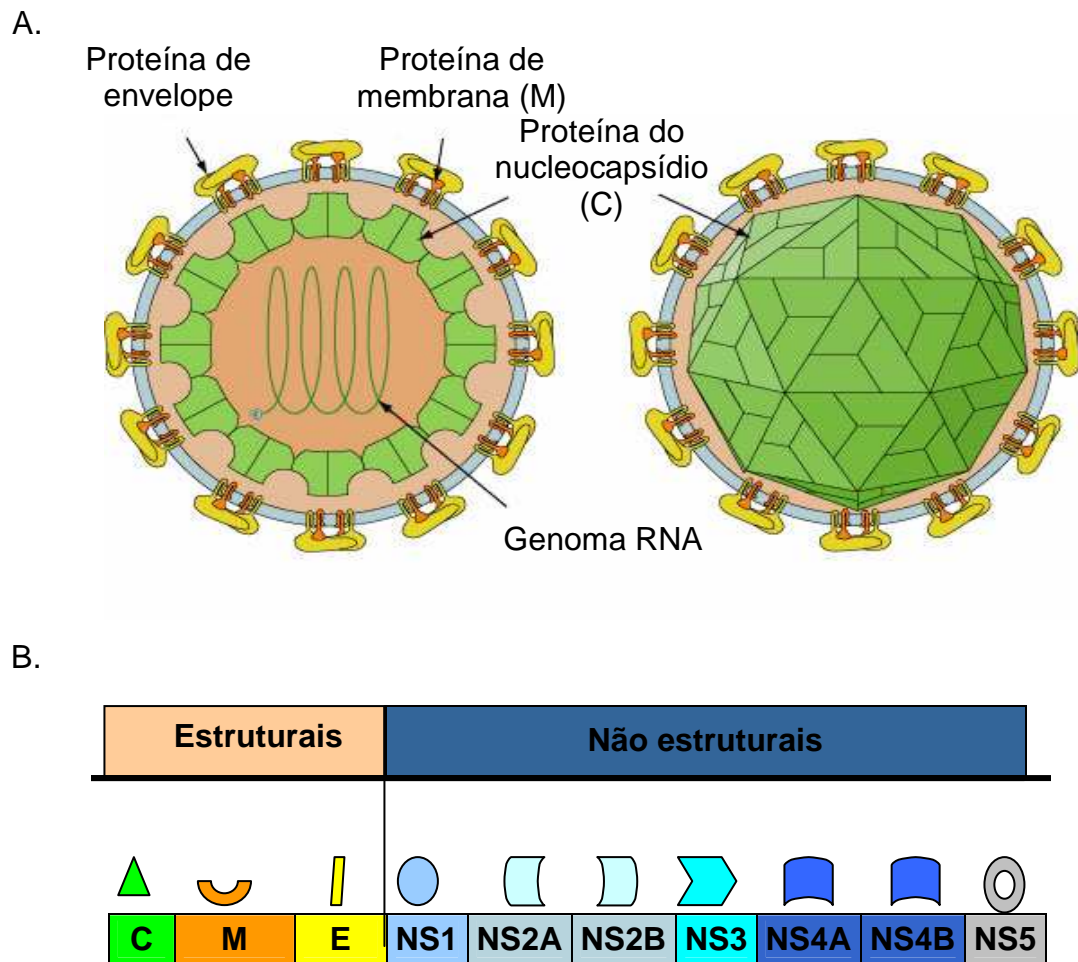


Figura 1 – (A) Representação esquemática do Flavivírus. (B) Representação esquemática do genoma viral. Fonte: adaptado de LE MERCIER, 2008.

A proteína NS1 pode permanecer intracelular, ser transportada à membrana plasmática ou ser secretada pela célula (ALCON et al., 2002). A importância da NS1 na replicação viral não é bem conhecida, mas acredita-se que a NS1 auxilie na morfogênese do vírus. Tem importância imunológica relacionada a sua expressão na superfície celular tornando-se um alvo facilitador de lise celular imunológica, constitui antígeno fixador de complemento e pode induzir produção de anticorpo com atividade fixadora de complemento. A região NS2 codifica duas proteínas, a NS2a e a NS2b (HENCHAL; PUTNAK, 1990; TORRES, 2005a).

A proteína NS2a é necessária para um adequado processo de proteólise do NS1, no entanto, até o momento não se conhece claramente a função da proteína NS2b. A NS3 pode ter uma função de protease viral ativa no processo de pós-produção da poliproteína ou ser um componente da RNA polimerase viral. As proteínas NS4a e NS4b foram mapeadas recentemente e seus papéis na replicação viral são

desconhecidos. Acredita-se, no entanto, que possam ser cofatores do NS5, proteína considerada uma polimerase RNA dependente (HENCHAL; PUTNAK, 1990).

### 2.2.3 Ciclo celular do vírus

O *Flavivirus* utiliza-se de endocitose mediada por receptor para entrar na célula hospedeira. As partículas virais ligam-se a receptores na célula hospedeira e são fagocitadas por um endossomo que possui um ambiente ácido. O pH baixo desencadeia uma mudança conformacional proteica, resultando num poro de fusão de membrana. O nucleocapsídeo é então liberado dentro da célula hospedeira e a replicação viral se inicia. É possível ainda que o envoltório viral funda-se à membrana e libere imediatamente o nucleocapsídeo dentro do citoplasma (TORRES, 2005a).

O vírus se acopla às células suscetíveis por dois mecanismos. A união às células ocorreria através de interação entre receptores Fc e complexo vírus-anticorpo ou via receptor viral sensível à tripsina e sulfato de heparan ou proteína 74-Kda que serviriam como receptor primário e correceptor na penetração viral respectivamente (TORRES, 2005a). Parece evidente, por alguns estudos, que a ligação e a internalização do vírus é um processo com muitos passos envolvendo o comprometimento ordenado e sequencial de várias moléculas alvo da superfície celular por múltiplos epítomos na proteína do envelope (HENCHAL; PUTNAK, 1990).

Após a liberação do nucleocapsídeo, segue-se a imediata transcrição do genoma viral não revestido. A replicação de RNA pode ser verificada precocemente três horas após infecção, ocorrendo aparentemente na região perinuclear das células infectadas. A transcrição precoce ocorre em associação com o retículo endoplasmático rugoso (RER), dessa forma facilitando a localização das proteínas virais em seu contexto característico no lúmen do RER, na membrana ou no citoplasma. Seguindo o processo, várias proteínas NS associam-se para formar um complexo de replicação viral. Esse complexo liga-se especificamente à região não transcrita 3' do genoma viral e subsequentemente copia a cadeia positiva de RNA em uma cadeia negativa intermediária de RNA. A síntese de novas cadeias positivas ocorre a partir da leitura dessa duplicata (TORRES, 2005a; HENCHAL; PUTNAK, 1990).

Precocemente na infecção, a síntese de cadeias negativas e positivas ocorre em taxas semelhantes, mas essa razão torna-se assimétrica, favorecendo a síntese de cadeias positivas com o progresso da doença. A proliferação intensa de organelas, provavelmente retículo endoplasmático e complexo de Golgi, parece ocorrer em células



infectadas por flavivírus, com essas estruturas aparentemente compartimentalizando vários aspectos da replicação de flavivírus. Os nucleocapsídios podem eventualmente tornar-se envelopados por brotamento através de membranas do retículo endotelial rugoso, seguindo-se de acumulação de vírions em vesículas intracitoplasmáticas e liberação viral (HENCHAL; PUTNAK, 1990; MCBRIDE; BIELEFELDT-OHMANN, 2000).

Nas células onde o vírus se multiplica tem-se observado o surgimento de numerosos vacúolos e vesículas citoplasmáticas. A liberação dos vírus ocorre presumivelmente por exocitose secretória, em forma de vesículas que contêm os vírus fusionados à membrana plasmática (Figura 2) (TORRES, 2005a; HENCHAL; PUTNAK, 1990).

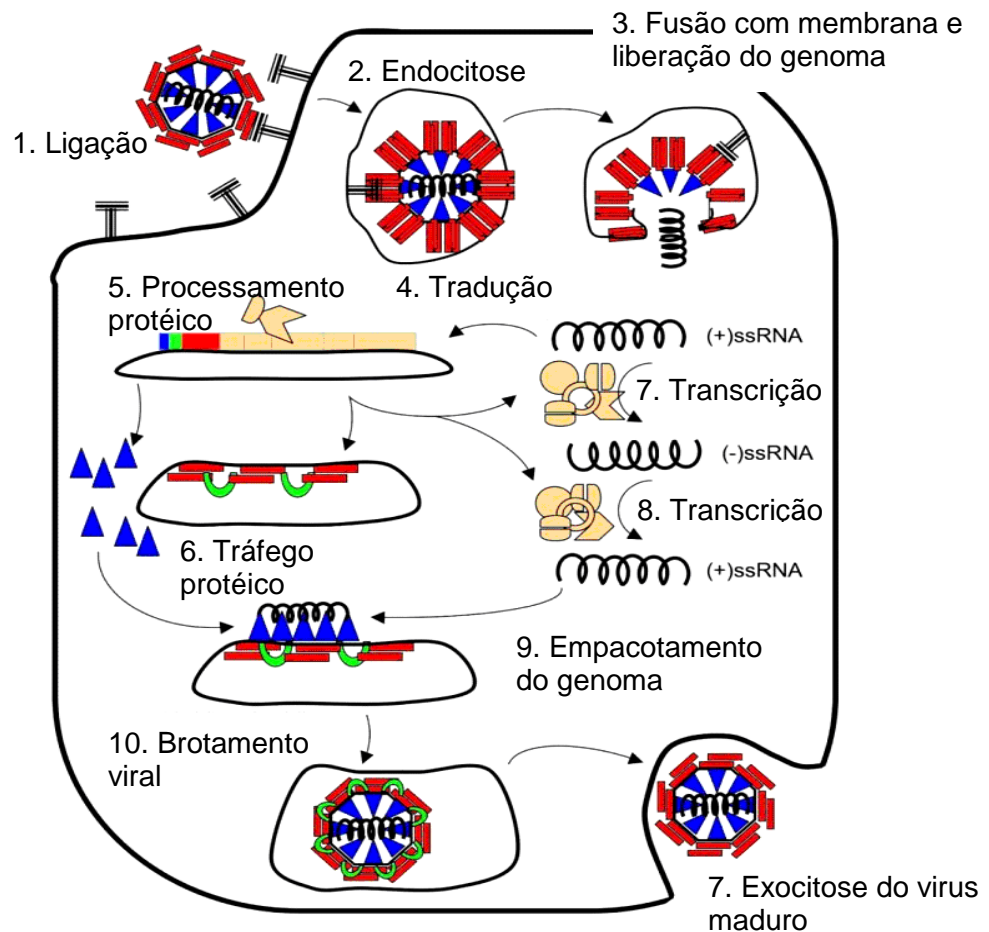


Figura 2 – Esquemática da replicação do dengue vírus. Fonte: adaptado de TOMLINSON; MALMSTROM; WATOWICH (2009).

In vitro, o vírus dengue pode infectar e replicar em uma ampla variedade de células derivadas do epitélio e endotélio. Notadamente, no entanto, infectam e replicam comparativamente menos em leucócitos e linhagens leucocitárias, exceto nos casos em

que os vírus estejam previamente adaptados ou os anticorpos estejam em níveis subneutralizantes. Antígenos do vírus dengue têm sido detectados em células da linhagem monocítica/macrofágica, em órgãos linfóides, pulmão e fígado de pacientes infectados (BHAMARAPRAVATI, 1997; HALL et al., 1991).

### 2.3 Transmissão

O dengue se perpetua na natureza pela interação entre o hospedeiro vertebrado e o artrópode hematófago, que propicia a multiplicação viral em seus tecidos, o transmite através da saliva ao picar o hospedeiro suscetível e se infecta ao alimentar-se em hospedeiro humano quando este se encontra em fase de viremia que, por sua vez, ocorre de um a dois dias antes da febre até quase cinco dias após seu início (SILVA, 2006; TORRES, 2005a).

O principal hospedeiro vertebrado é o homem, porém na África e talvez no subcontinente indiano, o dengue também existe em ciclo florestal com hospedeiro vertebrado primata não humano. Os flavivírus, portanto, têm três possíveis ciclos de transmissão, o ciclo florestal em primatas, o ciclo rural em humanos e o ciclo urbano envolvendo espécies domésticas (GUBLER, 1998).

Todos os mosquitos pertencentes ao gênero *Aedes* podem ser transmissores do dengue, especialmente *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* e *Ae. polynesiensis* (BANCROFT, 1906; ROSEN et al., 1954). No Brasil, a transmissão ao homem ocorre principalmente através da fêmea do mosquito peridoméstico *Aedes aegypti*, sendo também observada em estudos laboratoriais a capacidade de transmissão pelo vetor silvestre *Aedes albopictus*, que já foi identificado no território brasileiro (GOMES et al., 1999).

Ao contrário do *Ae. albopictus*, o *Ae. aegypti* tem baixa suscetibilidade à infecção pelo vírus dengue, porém permanece como principal vetor para humanos e está intimamente relacionado com epidemias. Isso pode ser explicado por seus hábitos altamente domésticos e o fato de picar vários hospedeiros ao alimentar-se (SHOUB; VENTER, 2009). A persistência do vírus dengue depende, conseqüentemente, do desenvolvimento de altos títulos virais no hospedeiro para garantir transmissão aos mosquitos, sendo o hospedeiro humano um amplificador do vírus (CHATUVERDI; NAGAR; SHRIVASTAVA, 2006; MCBRIDE; BIELEFELDT-OHMANN, 2000).

Uma vez infectada, a fêmea do mosquito assim permanece por toda sua vida. Após alimentar-se com sangue contaminado há infecção das células epiteliais do intestino do inseto, o patógeno escapa do epitélio para a hemocele e passa para a

glândula salivar. O período de desenvolvimento do vírus dentro do mosquito estende-se de oito a dez dias e após esse período de incubação extrínseca finalmente o vírus é secretado pela saliva causando infecção durante a alimentação (Figura 3) (WHO, 1997b).

O trato genital também é infectado sendo possível, porém infrequente, a transferência de vírus à próxima geração de mosquitos por transmissão transovariana. Esse pode ser um mecanismo importante para a manutenção do vírus, mas não parece ter importância para o surgimento de epidemias (WHO, 1997b; WHO, 1999c). Existem fatores que modulam a transmissão e circulação dos vírus dengue e eles estão relacionados aos vetores, aos hospedeiros e aos vírus determinando competência vetorial, suscetibilidade à infecção e probabilidade de transmissão. (TEIXEIRA, 2000b).

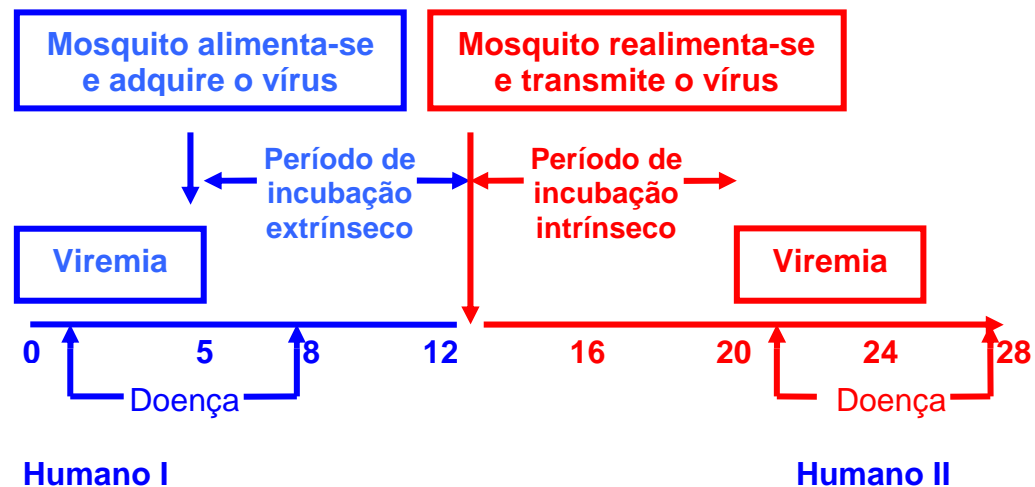


Figura 3 – Esquematização do ciclo de transmissão do dengue vírus pelo mosquito *Aedes aegypti*. Fonte: adaptado de CDC (2002).

## 2.4 Doença

### 2.4.1 Apresentação clínica

O dengue é uma doença febril aguda que, devido sua variabilidade clínica, pode ser considerado um espectro sindrômico caracterizado por sinais e sintomas diversos que decorrem da ação do patógeno e da reação imune do organismo infectado. Uma vez no organismo humano, o vírus desencadeia uma resposta imunológica que determinará as manifestações clínicas observadas no dengue. Essas manifestações compreendem desde uma infecção assintomática até um quadro grave de colapso

circulatório denominado síndrome do choque do dengue (SCD). Entre esses dois extremos ocorrem outras formas de manifestações clínicas que são: febre indiferenciada, febre do dengue (dengue clássico) com ou sem hemorragia e febre hemorrágica do dengue (FHD) sem choque (Figura 4) (SALGADO; RODRIGUEZ; GARZÓN, 2007).

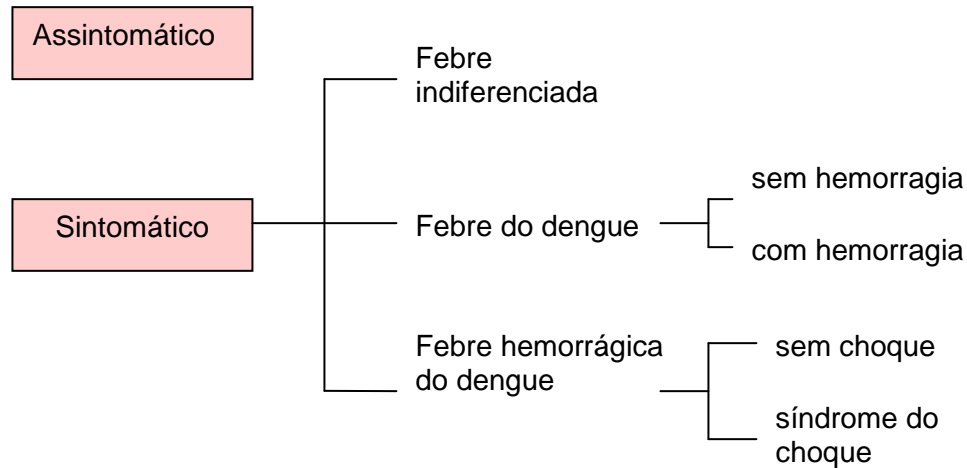


Figura 4 – Espectro clínico de apresentação do dengue. Fonte: adaptado de WHO, 1999c.

Na infecção assintomática, apesar de o indivíduo ter entrado em contato com o vírus, a existência da infecção não é reconhecida clinicamente. Já na forma indiferenciada ocorre um quadro oligossintomático inespecífico e de pouco vulto, podendo, esta forma, ser facilmente negligenciada como infecção pelo dengue. As formas oligossintomáticas da doença são mais comuns em crianças e, se percebidas, são dificilmente diferenciadas de outras doenças febris agudas comuns da infância (RODRIGUES et al., 2005).

O dengue clássico (DC), com seu quadro clínico mais evidente, é mais comum em adultos e crianças maiores e caracteriza-se por febre alta de instalação abrupta, cefaleia intensa, que pode ser retro-orbital e/ou holocraniana, mialgia intensa e generalizada e, algumas vezes, artralgias e presença de prurido intenso na fase de remissão do exantema que surge entre o 3º e 4º dia da doença. A febre frequentemente cede entre o 3º e 6º dia nas crianças e entre o 4º e 6º dia em adultos (TORRES, 2008b; WHO, 1997b).

Podem ocorrer no DC dor abdominal no hipocôndrio direito, hepatomegalia, náuseas, vômitos, diarreia e fenômenos hemorrágicos geralmente leves, mas que

podem apresentar-se intensos. O dengue está associado a graus variáveis de sangramento, mais comumente petéquias, epistaxes, sangramento gengival ou menorragia (SERUFO et al., 2006; SRICHAIKUL; NIMMANNITYA, 2000).

Dentro do espectro sindrômico do dengue, caracteriza-se ainda a forma clínica denominada dengue hemorrágico ou FHD que é diferenciado do DC pela presença de extravasamento plasmático. Os sintomas iniciais são geralmente os mesmos, mas o quadro se agrava com agitação, letargia, pulso rápido, hipotensão, manifestações hemorrágicas espontâneas, cianose e diminuição da temperatura (BANDYOPADHYAY; LUM; KROEGER, 2006; FIGUEIREDO; FONSECA, 1996).

A FHD pode ou não estar associada à SCD. O choque nessa situação é consequente a um grande aumento da permeabilidade vascular e extravasamento de plasma. Em alguns casos a SCD ocorre antes, ou até mesmo sem, a instalação dos fenômenos hemorrágicos (SERUFO et al., 2006).

Consideram-se como sinais e sintomas preditores de SCD a dor abdominal contínua, vômitos persistentes, hepatomegalia dolorosa, presença de derrames cavitários, sangramentos importantes, elevação súbita do hematócrito (DIAZ-QUIJANO; VILLAR-CENTENO; MARTÍNEZ-VEGA, 2005). Além desses, são considerados também como sinais de alerta no dengue a hipotensão postural, a hipotensão arterial, a presença de pressão arterial convergente, extremidades frias, cianose, pulso rápido e fino, agitação ou letargia, diminuição da diurese, diminuição repentina da temperatura ou hipotermia (WHO, 1997b).

O envolvimento orgânico específico no dengue pode incluir comprometimento cutâneo (eritema), hepático (hepatite aguda), neurológico (neurites, encefalopatia, síndromes convulsivas), cardiorespiratório (edema pulmonar, derrame pulmonar, bloqueio nodal, derrame pericárdico), renal (insuficiência renal aguda) dentre outros (FIGUEIREDO; FONSECA, 1996).

A Organização Mundial de Saúde define FHD como febre contínua por um período de dois a sete dias associada a tendências hemorrágicas, trombocitopenia (100.000 células por mm<sup>3</sup> ou menos) e evidência de extravasamento plasmático. A gravidade da FHD é classificada de acordo com critério clínico em quatro graus. O grau I caracteriza-se por presença de febre acompanhada de sintomas constitucionais inespecíficos com ocorrência da prova do laço positiva como única manifestação hemorrágica. No grau II evidencia-se sangramento espontâneo, geralmente de pele, nariz ou intestino, associado às manifestações presentes no grau I. O grau III é definido por falência circulatória manifestada por pulso fraco e rápido com estreitamento da

pressão de pulso (< 20mmHg) ou hipotensão. No grau IV os pacientes apresentam-se moribundos com pressão sanguínea e pulso indetectáveis. Os graus III e IV são denominados SCD (WHO, 1997b)

A FHD geralmente inicia-se de forma abrupta manifestada por febre, cefaleia e mialgia, quatro ou cinco dias depois, durante ou logo após queda da temperatura, a condição do paciente deteriora rapidamente, a pele torna-se fria, o pulso rápido e o paciente letárgico. Em alguns indivíduos a pressão de pulso torna-se progressivamente estreita, o paciente torna-se hipotenso e, se não tratado, pode evoluir para óbito em menos de quatro ou seis horas (WHO, 1997b).

Os graus variáveis de sangramento são decorrentes de defeito na primeira fase da hemostasia como consequência de trombopatia e vasculopatia, e por defeitos associados da coagulação sanguínea, como na coagulação intravascular disseminada (SRICHAIKUL; NIMMANNITYA, 2000).

O curso clínico do dengue é normalmente caracterizado pelo período febril, seguido pela fase afebril, que representa um período crítico na evolução da doença. Considera-se que a fase aguda dura de três a sete dias, terminando na fase de convalescença até a recuperação total. A fase de convalescença, no entanto, pode prolongar-se por semanas e estar associada à fraqueza e depressão, principalmente em adultos (GUBLER, 1998).

No entanto esse curso clínico pode ser imprevisível, com agravamento da doença inesperadamente. A presença de sinais e sintomas específicos de alerta indica que o paciente pode evoluir com complicações da doença e por isso sugerem necessidade de acompanhamento clínico mais rigoroso com internação e tratamento intensivo (BRASIL, 2006a).

Os pacientes com dengue podem ser classificados em quatro grupos clínicos principais que permitem melhor avaliação da doença, objetivando intervenção terapêutica adequada. Os pacientes que não apresentam sangramentos nem sinais de alerta enquadram-se no grupo A, os pacientes com algum tipo de sangramento porém sem sinais de alerta enquadram-se no grupo B e necessitam terapêutica intravenosa. Pacientes com algum sinal de alerta, porém sem hipotensão são classificados no grupo C e pacientes com hipotensão ou choque são classificados no grupo D, sendo esses dois últimos os grupos considerados de maior gravidade e que necessitam intervenção terapêutica intra-hospitalar (BRASIL, 2006a).

#### 2.4.2 Apresentação laboratorial

Devido à grande variabilidade clínica associada à infecção pelo dengue não é possível classificar a doença utilizando unicamente dados de história clínica e exame físico. A avaliação laboratorial é muito importante na classificação do dengue, mas também se faz necessária no diagnóstico e na caracterização da doença. São realizados exames específicos de confirmação direta e indireta da infecção viral e exames inespecíficos para acompanhamento clínico (BRASIL, 2006a; WHO, 1997b).

A confirmação laboratorial do dengue é realizada através de quatro possíveis métodos. Por isolamento do vírus em soro ou em amostras de autópsia; pela demonstração de mudanças nos títulos de IgG e IgM para um ou mais antígenos do dengue em amostras sorológicas seriadas; pela demonstração de antígenos do vírus em tecidos, soro ou líquido através de exames de imunohistoquímica, imunofluorescência ou ELISA; ou pela detecção do genoma viral por PCR (WHO, 1997b).

Outros exames laboratoriais utilizados na definição de um caso provável de dengue e na caracterização de sua gravidade são os testes inespecíficos que são utilizados para diagnóstico diferencial com outras patologias febris, em especial quando na avaliação de crianças e na verificação de distúrbios orgânicos desencadeados pela infecção que necessitam acompanhamento e tratamento (WHO, 1997b; POTTS; ROTHMAN, 2008).

Uma vez que os sistemas hematopoiético e vascular estão invariavelmente comprometidos, os principais achados laboratoriais no dengue estão relacionados a alterações no hemograma e nos exames de avaliação da hemostasia sanguínea. Estudos demonstram que nos casos de infecção por dengue observam-se mais frequentemente no hemograma a leucopenia (70%), os linfócitos reacionais no sangue periférico (70%) e a plaquetopenia (70%) (FIGUEIREDO; FONSECA, 1996; GASCON et al., 1998).

Em avaliação de amostras de sangue de sessenta pacientes com dengue observou-se redução da contagem absoluta de linfócitos circulantes com diminuição de células CD4 e, principalmente, CD8 tanto durante fase aguda da doença quanto em período de convalescença, assim como, a ocorrência de ativação linfocitária durante a fase aguda da doença (AZEREDO et al., 2006).

A presença de hemoconcentração, definida como aumento de hematócrito em 20% ou mais acima das médias para idade, sexo e população, é um achado laboratorial

importante da FHD, na qual a principal alteração fisiopatológica, que determina sua gravidade e que a diferencia do DC, é o extravasamento do plasma da luz do vaso para o interstício tissular, resultando em valores crescentes do hematócrito (OKAY, 1991). No entanto, a dosagem de albumina sérica pode melhorar a detecção de casos graves uma vez que, em casos com aumento de hematócrito inferior a 20%, a presença de hipoalbuminemia é utilizada como definidor de FHD (BRITO; ALBUQUERQUE; LUCENA-SILVA, 2007).

Vários distúrbios da hemostasia estão envolvidos nos mecanismos de sangramento no dengue. Além da presença de plaquetopenia e vasculopatia, durante a fase aguda da doença podem ser verificados: prolongamento dos tempos de tromboplastina parcial e de protrombina e redução leve a moderada de fatores de coagulação sanguínea, incluindo redução de fibrinogênio sérico. A avaliação dos exames de coagulação tem grande valor na determinação de presença de outras causas de sangramento além daquelas decorrentes de defeito da primeira fase da hemostasia (MITRAKUL et al., 1977).

## **2.5 Patogenia**

### **2.5.1 Aspectos imunológicos**

Os seres humanos são os únicos capazes de expressar clinicamente a infecção pelo vírus dengue. Com a infecção, o vírus penetra em células do sistema imunológico preparadas para a defesa do organismo. As primeiras células de defesa que entram em contato com o vírus são as células da imunidade inata: células dendríticas e macrófagos. Receptores celulares permitem a entrada desse vírus provavelmente pela ligação da proteína E viral ao correceptor DC-SIGN (CD209) para as células dendríticas e via FcR $\gamma$ II para os monócitos (GREEN;ROTHMAN, 2006; TASSANEETRITHEP et al., 2003).

Uma vez infectadas, essas células produzem citocinas responsáveis pela estimulação e contrarregulação da resposta imune inicial ao vírus. As células dendríticas seriam responsáveis pela produção de TNF- $\alpha$ , INF- $\alpha$ , IL-10 e pela liberação de partículas NS1 do vírus. Os monócitos e macrófagos infectados propiciariam produção de interleucina-1, fator de necrose tumoral alfa, INF- $\gamma$  e IL-12. A intensidade da resposta imune poderia estar modulada pela presença de altos níveis séricos de



citocinas (INF- $\gamma$ , IL-10, IL-8) que são liberadas em cascata durante a resposta imune (GREEN; ROTHMAN, 2006; KWAN et al., 2005 ; PANG; CARDOZA; GUZMÁN, 2007).

Após sua infecção, as células dendríticas e os monócitos realizam a apresentação de antígenos às células NK, às células B (de memória ou virgens) e às células T CD4 e CD8. Na sequência, as células B produzem anticorpos, anti-E e anti-NS1, e as células T e natural killer dão continuidade à produção e liberação de citocinas, dentre elas INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-6, IL-8 e IL-10. As citocinas são substâncias importantes para a formação do quadro clínico apresentado pelo indivíduo infectado, como o quadro de febre, mal-estar e mialgias (GREEN; ROTHMAN, 2006).

As citocinas promovem um efeito cascata, induzindo liberação e produção de mais citocinas numa complexa rede de interação. Atuando sinergicamente essas citocinas tornam-se mais eficazes na sua função, fato comprovado pela capacidade de INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e IL-1 juntos serem mais competentes na promoção do aumento da permeabilidade vascular do que isoladamente (PANG; CARDOZA; GUZMÁN, 2007).

Muitos fatores relacionados à quantidade e qualidade da resposta imune podem estar envolvidos na imunopatogênese da febre hemorrágica. A resposta à infecção aguda pelo dengue possui dois padrões distintos: respostas primária e secundária. Na resposta primária, observada em indivíduos que não são imunes aos flavivírus, os níveis de anticorpos elevam-se lentamente até um nível modesto. Na resposta secundária, os níveis de anticorpos elevam-se rapidamente até titulações muito altas. Considera-se que a gravidade da infecção pelo dengue estaria relacionada a um desequilíbrio entre as respostas Th1 e Th2 (CHATURVEDI et al., 1999a; TORRES, 2005a).

A pesquisa de anticorpos para NS1 foi negativa em soro de pacientes com infecção primária, mas 40% dos pacientes com infecção secundária apresentaram presença de anti-NS1, assim como a presença de anti-NS5 e anti-E pode ser observada nos dois padrões de infecção, ela foi mais intensa na secundária. Uma maior reatividade a proteínas diversas foi observada na infecção secundária e nenhum anticorpo NS3 foi detectado em infecção primária ou secundária (VALDEZ et al., 2000).

Os anticorpos neutralizantes aparecem vários dias após o início da doença e persistem durante meses ou anos. Os anticorpos fixadores de complemento aparecem também de forma precoce, porém são melhor detectados alguns meses depois. Os anticorpos inibidores de hemaglutinação aparecem ao mesmo tempo em que surgem os fixadores do complemento e são fáceis de detectar (TORRES, 2005a).

Se os anticorpos neutralizantes encontram-se em concentrações adequadas, o efeito biológico será de neutralização do vírus, independente da concentração de anticorpo inibidor de hemaglutinação. Ao contrário, se for menor a concentração de anticorpos neutralizantes, os anticorpos inibidores de hemaglutinação cumprem a função biológica contraproducente de aumentar a infecção (HALSTEAD, 1981).

De acordo com a teoria do “enhancement” ou reforço dependente de anticorpo, a entrada do vírus na célula é facilitada pela ligação entre Fc de monócitos ou macrófagos a anticorpos não neutralizantes, normalmente anti-NS1, produzidos em uma infecção prévia. Portanto o dengue secundário tem características diferenciais quantitativas e qualitativas segundo os anticorpos presentes num dado momento. Frequentemente ignorado em estudos, o fato de doença grave ocorrer em recém-nascidos deve-se à circulação de anticorpos maternos que mesmo em concentrações baixas e não protetoras, ligam-se a receptores Fc (HALSTEAD; NIMMANNITYA; COHEN, 1970; HALSTEAD, 1981; VAUGHN et al., 1997).

Observa-se que na infecção secundária ocorre ativação de linfócitos T de memória heteróloga com ação citotóxica sobre células infectadas pelos vírus dengue, destacando o antígeno NS3 como o principal alvo imunológico responsável por essa reação cruzada de memória. O que acontece com os linfócitos T seria semelhante ao que se define como “pecado original antigênico” quando o organismo, ao responder à infecção secundária, promoveria ativação de linfócitos T com maior afinidade a antígenos da infecção primária. Grande ativação desses linfócitos, rápida morte celular e a baixa afinidade para o vírus infectante, suprimiriam e retardariam o clearance viral, aumentando a viremia e possivelmente agravando a doença (CHATURVEDI et al., 2007c; PANG; CARDOSA; GUZMÁN, 2007 ; STEPHENSON, 2005).

Algumas evidências sugerem que diferenças na virulência de determinados genótipos do dengue podem estar relacionadas ao desenvolvimento de doença mais grave. Infecções primárias mais graves e desenvolvimento de FHD em países da Ásia correlacionaram-se com determinadas cepas virais e o oposto foi demonstrado em alguns estudos epidemiológicos na América do Sul. Diferenças relacionadas à virulência foram observadas em duas epidemias em Tonga causadas pelo vírus DEN-2 em 1974 e pelo vírus DEN-1 em 1975. Acredita-se também na possibilidade de aumento de virulência de determinadas cepas em decorrência de mutações ou recombinações genéticas (RICO-HESSÉ, 2007).

A ocorrência de casos de febre hemorrágica em infecção primária sugere que a expressão clínica do vírus varia conforme a virulência da cepa, fato observado também

em estudos filogenéticos e epidemiológicos, mas também que outros fatores estão relacionados à gravidade do quadro, como por exemplo, fatores próprios do indivíduo, fatores intensificadores da transmissão viral (NOGUEIRA; MIAGOSTOVICH; SCHATZMAYR, 2000; TEIXEIRA, 2000b), e por transmissão silenciosa do vírus (CASTOR DE LIMA et al., 2007).

A suscetibilidade genética associada ao sistema de histocompatibilidade humano é proposta por vários autores como fator de desenvolvimento de febre hemorrágica, assim como presença de receptores celulares associados à resistência ao dengue. O que poderia explicar as diferenças clínicas em indivíduos expostos à mesma infecção (CHATUVERDI; NAGAR; SHRIVASTAVA, 2006a).

### 2.5.2 Aspectos hematológicos

Uma das alterações hematológicas mais comuns no dengue é a leucopenia. Inicialmente o número de leucócitos pode ser normal ou discretamente aumentado, porém ocorre posterior redução da leucometria em decorrência de neutropenia que pode ser explicada por supressão medular decorrente de injúria direta ao progenitor celular por infecção do vírus, por infecção de células do estroma medular e por alterações nos reguladores medulares (SRICHAIKUL; NIMMANNITYA, 2000).

Os leucócitos são um grupo heterogêneo de células que em conjunto desempenham funções básicas que estruturam o sistema imunológico. Agrupam-se em duas categorias: os mononucleares (linfócitos e monócitos) e os polimorfonucleares (neutrófilos, eosinófilos e basófilos) (FALCÃO, 2005). Os neutrófilos e monócitos são células com atividade imunológica celular, especialmente bactericida e fungicida, e os linfócitos são responsáveis pela resposta imunológica humoral (linfócitos B e plasmócitos) e celular (linfócitos T) a um variado grupo de patógenos (KIPPS, 2001a, p.949; SMOLEN; BOXER, 2001).

A produção de células na medula óssea é um processo muito bem regulado no qual o controle da proliferação e da maturação celular é feito pelas citocinas produzidas no microambiente da medula óssea. Para manter os níveis homeostáticos, a taxa de produção celular é grande. A medula óssea de indivíduos de todas as idades contém uma reserva grande de neutrófilos em maturação. Estima-se que  $\frac{3}{4}$  do total de neutrófilos estejam dentro do compartimento medular, de onde migram rapidamente para o sangue periférico (FOUCAR; DUNCAN; SMITH, 1993; HOKAMA; MACHADO, 1997).

Assim como os sintomas do dengue relacionam-se com liberação de citocinas por macrófagos através de sua interação com linfócitos T helper ativados, a leucopenia e a discreta e transitória depressão medular que se apresentam no dengue, também, relacionam-se aos altos teores de citocinas macrofágicas, dentre elas IL-2, IL-6, IL-8, IFN-  $\gamma$ , IFN-  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , IL-1b e PAF (FIGUEIREDO, 1999; SRICHAIKUL; NIMMANNITYA, 2000).

Estudos histopatológicos de medula óssea de pacientes com infecção por vírus do dengue sugerem que as alterações hematológicas evoluem com supressão medular. A medula óssea desses pacientes revela presença de hipoplasia global no quarto dia após início da febre, com retorno da celularidade normal entre o 7º e 10º dia da doença, podendo ocorrer como complicação rara uma aplasia grave e persistente (ALBUQUERQUE et al., 2009; LA RUSSA, INNIS, 1995).

Em infecções virais há aumento de adesão dos neutrófilos às células endoteliais provavelmente por sua exposição a complemento, endotoxinas ou complexas imunes o que poderia levar a neutropenia por redistribuição do pool marginado de neutrófilos. (MACGREGOR et al., 1980) A queda de neutrófilos é observada no quarto ou quinto dia de início da febre (quase simultaneamente há ativação imunológica para neutralizar viremia), com a remissão dos sintomas há resolução das citopenias (LA RUSSA; INNIS, 1995).

Alguns vírus estão envolvidos na supressão da hematopoiese e conseqüentemente, na ocorrência de plaquetopenia e leucopenia. Alguns deles são o parvovírus B19, o próprio vírus dengue, certos vírus de hepatite, o Epstein-Barr vírus, o citomegalovírus e o vírus da imunodeficiência humana (ROSENFELD; YOUNG, 1991). No entanto, um estudo realizado na Bélgica demonstra que plaquetopenia e leucopenia são importantes fatores preditores de infecção por dengue em viajantes que desenvolveram quadro febril depois de estada nos trópicos (BOTTIEAU et al, 2007).

A supressão medular afeta também a produção de plaquetas que se apresenta baixa em 70 a 80% dos casos de dengue. As plaquetas são fragmentos de citoplasma do megacariócito, célula exclusiva da medula óssea, e estão relacionadas à primeira fase da hemostasia. A instalação de plaquetopenia pode ter vários outros mecanismos associados dentre eles o aumento de destruição por mecanismos imunes e não imunes. Na febre hemorrágica a destruição periférica ou o consumo aumentado são os principais responsáveis pela redução do número de plaquetas no sangue periférico (GUZMÁN; GARCÍA; KOURÍ, 2006b; LOURENÇO, 2005; SERUFO; NOBRE; RAYES, 2006).

A demonstração, através de estudos de cinética plaquetária no dengue, de que há aumento de destruição plaquetária pelo baço e fígado corrobora a evidência de formação de complexos imunes na membrana das plaquetas (MITRAKUL et al., 1977). As presenças de complemento C3, de antígenos do dengue e de imunoglobulinas na superfície plaquetária são importantes achados que comprovam a destruição plaquetária imunomediada. Há reatividade cruzada de anticorpos anti-E e anti-NS1 aos fatores de coagulação e às plaquetas, respectivamente (GUZMÁN; GARCÍA; KOURÍ, 2006; SERUFO; NOBRE; RAYES, 2006).

A plaqueta também apresenta alterações funcionais demonstradas por ausência de liberação de ADP na fase de convalescença do FHD. A alteração vascular que acontece no dengue favorece a interação entre as plaquetas e as células endoteliais. Durante o período crítico de extravasamento plasmático, as plaquetas são ativadas, por mecanismos desconhecidos, e tornam-se exaustas e hiporresponsivas (SRICHAIKUL; NIMMANNITYA, 2000).

A coagulopatia na FHD está associada à redução de antitrombina III e de  $\alpha$ -2-antiplasminogênio. Ocorrem reduções leves a moderadas de fatores II, V, VII, VIII, IX, X e XII e discreto aumento de D-dímero. Além dessas evidências de DIC observa-se ainda consumo documentado de fibrinogênio e presença de trombos de fibrina generalizados em pulmão, medula óssea, rins, adrenal e cérebro em necropsias de pacientes com SCD (SRICHAIKUL; NIMMANNITYA, 2000).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Analisar as alterações hematológicas em pacientes com dengue.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- a).caracterizar as alterações dos hemogramas de pacientes com dengue, em relação a: plaquetas, leucócitos, neutrófilos, linfócitos, linfócitos atípicos e monócitos;
- b).comparar as variações hematológicas com os dias de evolução do dengue;
- c).relacionar as alterações clínicas e hematológicas entre pacientes com dengue clássico e febre hemorrágica do dengue.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Tipo de pesquisa

Estudo transversal.

### 4.2 Local e período

Hospital-dia Prof<sup>a</sup> Esterina Corsini, unidade referenciada para o atendimento de casos suspeitos de dengue, Núcleo do Hospital Universitário/ Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (NHU/FUFMS), Campo Grande, no período de janeiro a maio de 2007.

### 4.3 Sujeitos

Indivíduos atendidos com quadro clínico sugestivo de dengue durante a epidemia de 2007 com *n* totalizando 543 prontuários/pacientes.

#### 4.3.1 Critérios de inclusão:

Indivíduos com doença febril aguda com duração máxima de sete dias, acompanhada de pelo menos dois dos seguintes sintomas: cefaleia, dor retrorbital, mialgia, artralgia, prostração e/ou exantema. Foram considerados os seguintes tipos de dengue: dengue clássico (DC) e febre hemorrágica do dengue (FHD), segundo a classificação da Organização Mundial da Saúde (WHO, 1999c).

Na FHD foram considerados quatro graus: grau I em que há febre acompanhada de sintomas constitucionais inespecíficos e prova do laço positiva como única manifestação hemorrágica, grau II em que há sangramento espontâneo (p.ex.: pele, nariz ou intestino) associado aos sinais/sintomas presentes no grau I, grau III em que há comprometimento circulatório com estreitamento da pressão de pulso (< 20mmHg) ou hipotensão e o grau IV em que há pressão sanguínea e pulso indetectáveis. Os graus III e IV são denominados SCD (WHO, 1997b).

A caracterização clínica dos pacientes baseou-se nos critérios para classificação nos quatro grupos de intervenção terapêutica (A, B, C e D) utilizando-se da presença ou ausência dos sinais de alerta, de hemorragia e de hipotensão (BRASIL, 2006a).

#### 4.3.1 Critérios de exclusão:

Indivíduos caso suspeito com diagnóstico laboratorial negativo para amostras IgM, caso suspeito com diagnóstico laboratorial de outra entidade clínica, caso suspeito sem confirmação laboratorial cujas investigações clínica e epidemiológica são compatíveis com outras patologias.

De 679 prontuários analisados foram excluídos 136 por: por falta de dados nos prontuários (90), por comprovação de doença bacteriana durante evolução clínica (25), por presença de doença de base que comprometeria a avaliação hematológica (p.ex.: hiperesplenismo e lupus) (07), por reação à vacina de febre amarela (01), devido persistência de febre por período superior a sete dias (01) e com sorologia negativa para dengue (12).

#### **4.4 Coleta e análise de dados**

Os dados foram coletados através da análise dos prontuários de pacientes com preenchimento de formulário (Apêndice A) criado pela unidade referenciada para o atendimento dos casos de dengue. Foram analisadas as seguintes variáveis: idade e sexo do paciente, dia do início dos sintomas, presença e tipo de sangramento, outros sinais e sintomas apresentados, prova do laço, hemograma completo e dosagem de albumina sérica, utilizada como um dos parâmetros para classificação do dengue. Foram considerados todos os resultados disponíveis dos hemogramas realizados do 1º ao 10º dia de sintomatologia.

Os hemogramas foram realizados em contador automatizado no laboratório de análises clínicas do NHU/FUFMS com contagem diferencial por visualização microscópica do esfregaço. Hemogramas realizados em outros laboratórios foram excluídos devido à possibilidade de divergências de resultados. Foram utilizados apenas os valores absolutos dos leucócitos.

Para a análise dos dados foram utilizadas definições técnicas baseadas na literatura. Definiu-se leucopenia como número de leucócitos totais abaixo de 4.000 cel./ $\mu$ l; neutropenia como contagem absoluta de neutrófilos abaixo de 1000 cel./ $\mu$ l (DALE, 2001), linfopenia como contagem absoluta de linfócitos abaixo de 1.000 cel./ $\mu$ l (KIPPS, 2001b, p. 969), monocitose como contagem absoluta de monócitos acima de 800 cel./ $\mu$ l (LITCHMAN, 2001) e plaquetopenia como número de plaquetas inferior a 150.000 cel./ $\mu$ l. A bastonetose foi considerada como número absoluto de neutrófilos



bastonetes maior que 700 cel./ $\mu$ l (LOURENÇO, 2005). Esclarecendo que a unidade  $\mu$ l equivale a  $\text{mm}^3$ .

Hipotensão arterial foi definida como pressão arterial sistólica menor que 90mmHg ou redução da pressão sistólica em 20mmHg em posição supina. O choque foi definido como pressão arterial indetectável (AZEREDO et al., 2006; WHO, 1997b; FUJIMURA, 1983). A presença de hemoconcentração foi definida por elevação do hematócrito acima de 20% do basal para sexo e idade ou redução em 20% após reposição volêmica ou ainda pela verificação de hipoalbuminemia (WHO, 1997b).

Foi realizada estatística descritiva, constando de apresentação tabular e gráfica. Para verificar a associação entre as variáveis do estudo foi utilizado o teste Qui-quadrado ou de Fisher, ao nível de significância de 5%. A análise dos dados foi realizada através dos programas Microsoft® Excel 1998, Bioestat e Epi-info 3.4.5.

#### **4.5 Aspectos éticos**

Todos os indivíduos sujeitos da pesquisa tiveram resguardado o direito do sigilo de suas identidades e não foi abordado nomeadamente nenhum grupo vulnerável ou diferenciado grupo social específico. A etnia e o sexo dos indivíduos pesquisados foram abordados no trabalho, porém as informações obtidas não caracterizaram negativamente qualquer grupo envolvido.

A pesquisa não acarretou riscos à população estudada, uma vez tratar-se de levantamento de dados de exames coletados em decorrência da necessidade clínica dos pacientes naquele período e os benefícios da pesquisa relacionaram-se à aquisição de conhecimento sobre a evolução clínica da doença possibilitando melhor condução dos casos de dengue no que tange às complicações hematológicas.

Não há qualquer conflito de interesses neste trabalho uma vez que não há financiamento externo ou lucro pessoal resultante das conclusões obtidas. Assim como todos os resultados da pesquisa serão tornados públicos, sejam eles confirmatórios das hipóteses levantadas ou não.

Este trabalho foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul no dia 24 de abril de 2008, protocolo nº 1140 (Anexo I).

## 5 RESULTADOS

A população analisada foi de 543 pacientes com predomínio de indivíduos do sexo feminino (57,1%) e na faixa etária entre 13 a 48 anos, com idade mínima de 10 anos e máxima de 87 anos. Do total de pacientes, 90,2% (IC 95% 87,7 – 92,7) foram classificados como DC e 9,8% (IC 95% 7,3 – 12,3) como FHD. Não houve diferença significativa entre os tipos de dengue (DC e FHD) quanto ao sexo e idade (Tabela 1)

Tabela 1 – Número e porcentagem de pacientes segundo sexo, faixa etária e tipo de dengue (classificação da OMS), Campo Grande – 2007

Variáveis	Dengue clássico (n=490)		Febre hemorrágica (n=53)		Total (n=543)		p
	Nº.	%	Nº.	%	Nº.	%	
Sexo							
Feminino	279	90,0	31	10,0	310	57,1	0,944
Masculino	211	90,6	22	9,4	233	42,9	
Faixa etária (anos)							
10 a 12	15	88,2	2	11,8	17	3,1	0,121
13 a 24	144	94,7	8	5,3	152	28,0	
25 a 36	114	87,7	16	12,3	130	23,9	
37 a 48	102	88,7	13	11,3	115	21,2	
49 a 60	85	92,4	7	7,6	92	16,9	
acima de 60	30	81,1	7	18,9	37	6,8	

Nota: se  $p \leq 0,05$  – diferença estatisticamente significativa. Teste Qui-quadrado.

Com relação à classificação de gravidade da FHD observa-se que a maioria dos pacientes apresentou quadro clínico compatível com FHD grau II (49,1%), seguido de FHD grau III (34,0%) e grau I (16,9%). Não houve nenhum caso de FHD grau IV ou de óbito (Tabela 2).

Tabela 2 – Número e porcentagem de pacientes segundo a gravidade da febre hemorrágica (classificação da OMS), Campo Grande – 2007

Classificação	Nº.	%
Grau I	9	16,9
Grau II	26	49,1
Grau III	18	34,0
Grau IV	-	-
<b>Total</b>	<b>53</b>	<b>100,0</b>

A presença de hipotensão foi significativamente maior no grupo FHD (45,3%), assim como, a presença de sinais de alerta (11,3%) e de hemorragia (41,5%). Os quadros clínicos considerados mais leves foram mais frequentes no DC (46,9%) (Tabela 3).

Tabela 3 – Número e porcentagem de pacientes segundo clínica, prova do laço, presença de sangramento e o tipo de dengue (classificação da OMS), Campo Grande – 2007

Variáveis	Dengue clássico (n=490)		Febre hemorrágica (n=53)		Total (n=543)		p
	Nº.	%	Nº.	%	Nº.	%	
<b>Clínica</b>							
Leve sem hemorragia	230	46,9	1	1,9	231	42,5	<b>&lt;0,001</b>
Com hemorragia e sem alerta	131	26,7	22	41,5	153	28,2	
Sem hipotensão com alerta	32	6,5	6	11,3	38	7,0	
Hipotensão e choque	97	19,8	24	45,3	121	22,3	
<b>Prova do laço</b>							
Positiva	94	16,7	27	50,9	121	22,3	<b>&lt;0,001</b>
Negativa	215	43,9	15	28,3	230	42,4	
Ignorada	181	36,9	11	20,8	192	35,3	
<b>Sangramento</b>							
Sim	146	29,8	45	84,9	191	35,2	<b>&lt;0,001</b>
Não	344	70,2	8	15,1	352	64,8	

Nota: se  $p \leq 0,05$  – diferença estatisticamente significativa. Teste Qui-quadrado.

A prova do laço foi realizada em 351 (64,6%) pacientes, apresentando-se positiva em 121 (34,5%) desses indivíduos. Foi percebida maior positividade da prova do laço em pacientes com diagnóstico de FHD (50,9%), ainda assim, quase um terço dos pacientes com FHD apresentou prova do laço negativa. Quanto ao sangramento, observou-se que a maioria dos pacientes (64,8%) não apresentou sangramento durante a evolução da doença. No grupo dengue clássico predominou a ausência de sangramento (70,2%), porém no grupo febre hemorrágica houve maior frequência de sangramento (84,9%) (Tabela 3).

Naqueles pacientes em que foi verificada a hemorragia (n=191), o principal tipo de sangramento observado foi presença de petéquias (64,4%), seguido de sangramento uterino (20,9%). As alterações relacionadas à hemorragia uterina foram associadas ao fluxo menstrual quer por menorragia ou metrorragia. Os tipos de

sangramento menos observados foram de conjuntiva e hemoptise. Não houve diferença estatística entre os grupos FHD e DC no que se refere ao tipo de sangramento predominante. (Tabela 4).

Tabela 4 – Número e porcentagem de pacientes que apresentaram hemorragia segundo o tipo de sangramento e o tipo de dengue (classificação da OMS), Campo Grande – 2007

Sangramento	Dengue clássico (n=146)		Febre hemorrágica (n=45)		Total (n=191)		p
	Nº.	%	Nº.	%	Nº.	%	
Petéquia	89	61,0	34	75,6	123	64,4	<sup>(1)</sup> 0,074
Metromenorragia	30	20,5	10	22,2	40	20,9	<sup>(1)</sup> 0,809
Epistaxe	20	13,7	4	8,9	24	12,6	<sup>(1)</sup> 0,395
Melena	12	8,2	7	15,6	19	9,9	<sup>(2)</sup> 0,161
Gengivorragia	11	7,5	8	17,8	19	9,9	<sup>(2)</sup> 0,082
Hematúria	11	7,5	4	8,9	15	7,9	<sup>(1)</sup> 0,755
Equimose	4	2,7	1	2,2	5	2,6	<sup>(2)</sup> 1,000
Hemoptise	3	2,1	1	2,2	4	2,1	<sup>(2)</sup> 1,000
Conjuntiva	1	0,7	1	2,2	2	1,0	<sup>(2)</sup> 0,417

Nota: se  $p \leq 0,05$  – diferença estatisticamente significativa.

<sup>(1)</sup> Teste Qui-quadrado.

<sup>(2)</sup> Teste de Fisher.

Não foi documentada a presença de sangramentos em locais críticos como sistema nervoso central e retina, ou grandes hematomas. A presença de hemoptise não esteve relacionada à ocorrência de hemorragias pulmonares extensas. Considerando os pacientes que apresentaram sangramento (n=191), verificou-se que 59 (38,89%) manifestaram hemorragias em mais de um local. Dos pacientes com FHD (n=45), 21 (46,7%) apresentaram sangramento em local único, 16 (35,6%) apresentaram sangramento em dois locais, 8 (17,8%) em três ou mais locais diferentes. Dos pacientes com DC (n=146), 111 (76,0%) apresentaram sangramento em um local, 31 (21,2%) apresentaram sangramento em dois locais e 4 (2,7%) em três locais. Houve diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,001$  – Teste Qui-quadrado).

Com relação aos sinais e sintomas os mais frequentes foram mialgia (83,2%), cefaleia (80,5%), náuseas e vômitos (64,6%) (Tabela 5).

Todos os pacientes apresentaram febre, critério necessário para inclusão no estudo. Os pacientes com FHD apresentaram dor abdominal, rash cutâneo, diarreia, hipotermia, dispneia e dor óssea com maior frequência do que os pacientes com dengue clássico (Tabela 5).

Tabela 5 – Número e porcentagem de pacientes segundo os sinais e sintomas e o tipo de dengue (classificação da OMS), Campo Grande – 2007.

Sinais e sintomas	Dengue clássico (n=490)		Febre hemorrágica (n=53)		Total (n=543)		p
	Nº.	%	Nº.	%	Nº.	%	
Mialgia	412	84,1	40	75,5	452	83,2	<sup>(1)</sup> 0,111
Cefaleia	392	80,0	45	84,9	437	80,5	<sup>(1)</sup> 0,392
Náuseas / Vômitos	315	64,3	36	67,9	351	64,6	<sup>(1)</sup> 0,599
Fraqueza	208	42,4	28	52,8	236	43,5	<sup>(1)</sup> 0,148
Dor retrocular	217	44,3	18	34,0	235	43,3	<sup>(1)</sup> 0,149
Dor abdominal	192	39,2	33	62,3	225	41,4	<sup>(1)</sup> 0,001
Rash cutâneo	178	36,3	32	60,4	210	38,7	<sup>(1)</sup> 0,001
Artralgia	189	38,6	16	30,2	205	37,8	<sup>(1)</sup> 0,232
Anorexia	135	27,6	19	35,8	154	28,4	<sup>(1)</sup> 0,203
Tontura	134	27,3	20	37,7	154	28,4	<sup>(1)</sup> 0,111
Diarreia	123	25,1	25	47,2	148	27,3	<sup>(1)</sup> 0,001
Hipotermia	98	20,0	24	45,3	122	22,5	<sup>(1)</sup> <0,001
Prurido	86	17,6	15	28,3	101	18,6	<sup>(1)</sup> 0,056
Calafrios	68	13,9	4	7,5	72	13,3	<sup>(1)</sup> 0,197
Dor lombar	55	11,2	4	7,5	59	10,9	<sup>(1)</sup> 0,414
Tosse	41	8,4	6	11,3	47	8,7	<sup>(2)</sup> 0,442
Dor de garganta	22	4,5	1	1,9	23	4,2	<sup>(2)</sup> 0,716
Dispnéia	14	2,9	6	11,3	20	3,7	<sup>(2)</sup> 0,009
Extremidades frias	8	1,6	1	1,9	9	1,7	<sup>(2)</sup> 0,606
Dor óssea	1	0,2	2	3,8	3	0,6	<sup>(2)</sup> 0,026
Ascite	0	0,0	1	1,9	1	0,2	<sup>(2)</sup> 0,098
Derrame pleural	1	0,2	0	0,0	1	0,2	<sup>(2)</sup> 1,000

Nota: se  $p \leq 0,05$  – diferença estatisticamente significativa.

<sup>(1)</sup> Teste Qui-quadrado.

<sup>(2)</sup> Teste de Fisher.

Com relação à avaliação laboratorial, dos 543 prontuários, 68,5% apontaram plaquetas em número inferior a 150.000/mm<sup>3</sup> durante o acompanhamento clínico. Houve queda no número de plaquetas a partir do 3º dia no DC e a partir do 1º dia na FHD. A mediana dos valores de plaquetas foi menor na FHD desde o primeiro dia de sintomatologia em relação à DC, porém evolução diária semelhante atingindo o menor número no 7º dia e recuperando-se a partir daí. (Figura 5).

Comparando-se o número de plaquetas e presença de sangramento foi possível verificar que o grupo de pacientes que teve sangramento apresentou mediana de plaquetas de 95.000/mm<sup>3</sup> e aquele sem sangramento, mediana de 135.000/mm<sup>3</sup>.

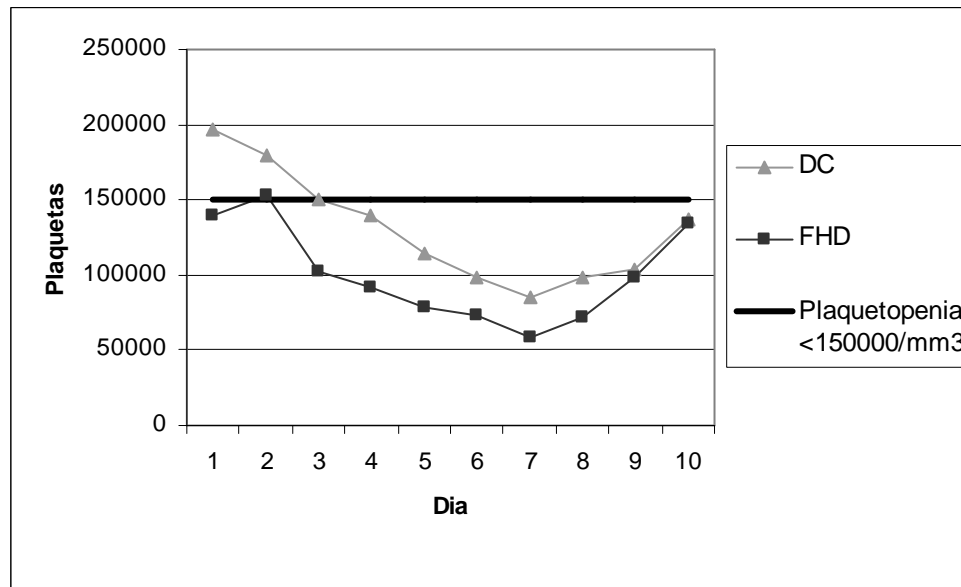


Figura 5 – Plaquetas (mediana) segundo o tipo de dengue (classificação da OMS), Campo Grande – 2007

Quanto aos leucócitos observou-se que 68,3% dos pacientes apresentaram leucometria inferior a  $4000/\text{mm}^3$  durante o acompanhamento clínico. A leucopenia apresentou-se mais precocemente na FHD sendo observada já no 2º dia de sintomatologia e recuperando-se a partir do 8º dia. No DC a leucopenia foi evidenciada do 3º ao 8º dia com recuperação semelhante à ocorrida na FHD (Figura 6).

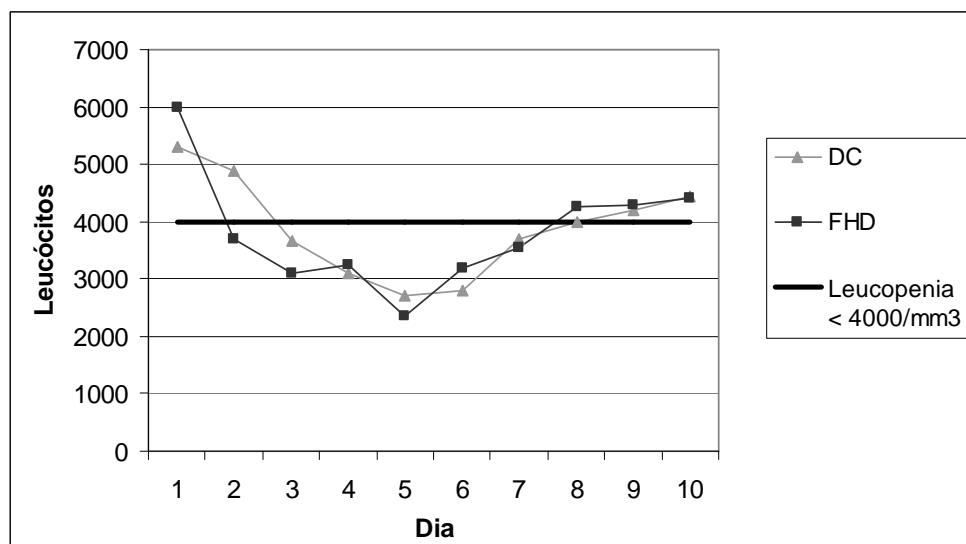


Figura 6 – Leucócitos (mediana) segundo o tipo de dengue (classificação da OMS), Campo Grande – 2007

Do total de pacientes (n=543), 363 (66,9%) apresentaram linfócitos atípicos e a porcentagem de linfócitos no sangue periférico variou de 1% a 35%. A presença de linfócitos atípicos foi verificada a partir do 5º dia de evolução da sintomatologia com pico no 7º dia e ocorreu tanto no DC quanto na FHD, porém foi mais acentuada nesta última (Figura 7).

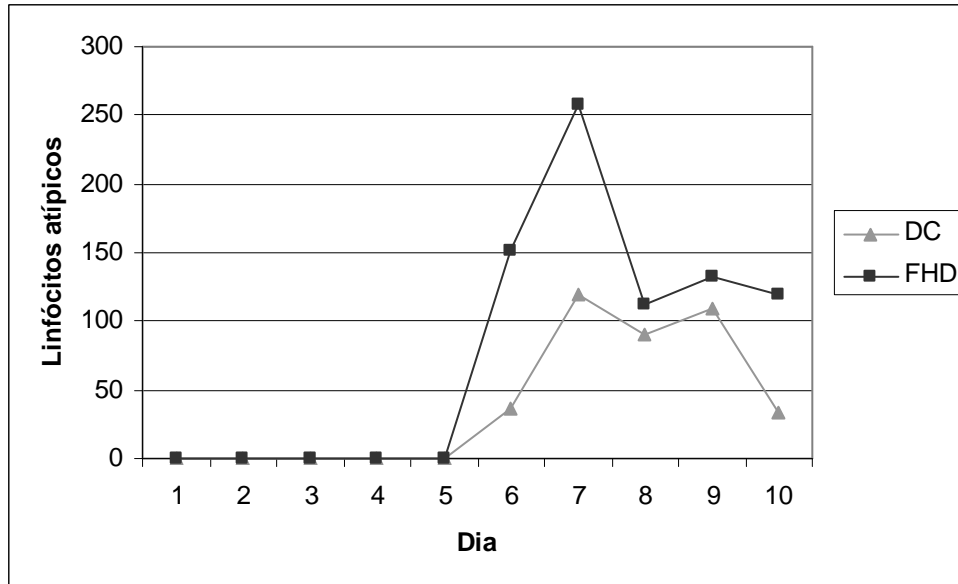


Figura 7 – Linfócitos atípicos (mediana) segundo o tipo de dengue (classificação da OMS), Campo Grande – 2007

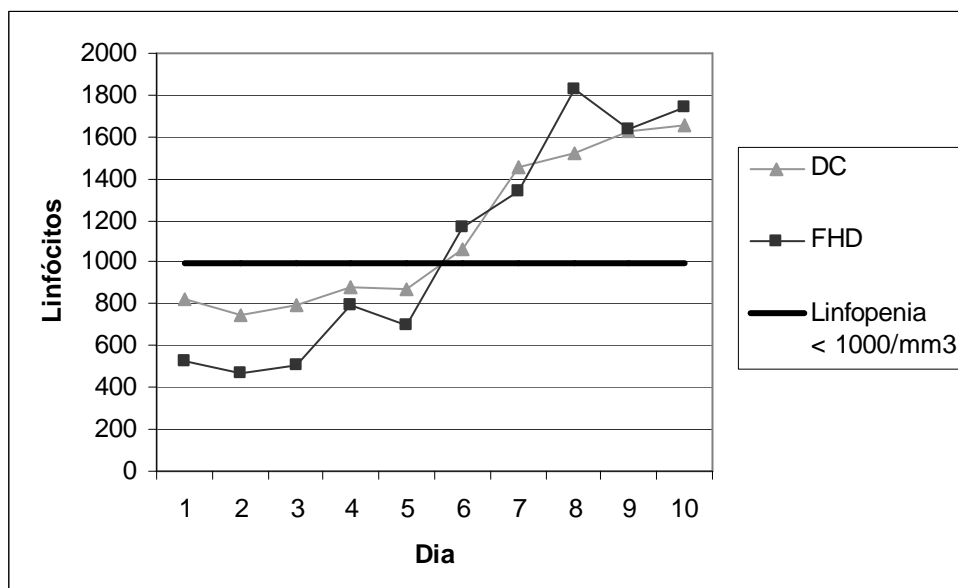


Figura 8 – Linfócitos (mediana) segundo o tipo de dengue (classificação da OMS), Campo Grande – 2007

A linfopenia ocorreu em 67,8% dos pacientes (n=543) e foi observada já no 1º dia persistindo até o 6º dia, quando passou a haver recuperação do número de linfócitos. Ambos os grupos, DC e FHD, apresentaram evolução semelhante na contagem linfocitária, porém a mediana de linfócitos foi menor na FHD desde o 1º dia até o 6º dia, passando a ser superior à do DC a partir da recuperação linfocitária (Figura 8).

A mediana do número de neutrófilos apresentou-se normal no 1º dia de instalação dos sintomas com declínio acentuado e progressivo até o 6º dia, mantendo-se praticamente estável até o 10º dia. Apesar de não ter se verificado neutropenia pela avaliação das medianas, foi possível observar que no DC os valores iniciais de neutrófilos foram menores que na FHD (Figura 9).

Verificou-se presença de bastonetose em hemogramas de 74 (13,6%) pacientes. Em pacientes com FHD, 9 (17,0%) apresentaram bastonetose e, em pacientes com DC, a bastonetose ocorreu em 65 (13,3%), sem diferença estatisticamente significativa entre os tipos de dengue ( $p=0,454$  Teste Qui-quadrado).

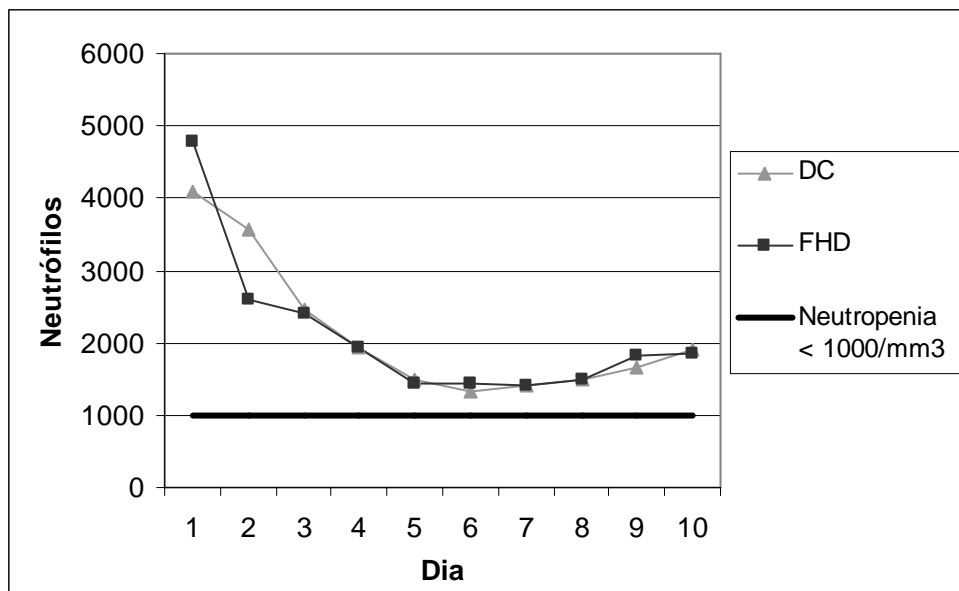


Figura 9 – Neutrófilos (mediana) segundo o tipo de dengue (classificação da OMS), Campo Grande – 2007



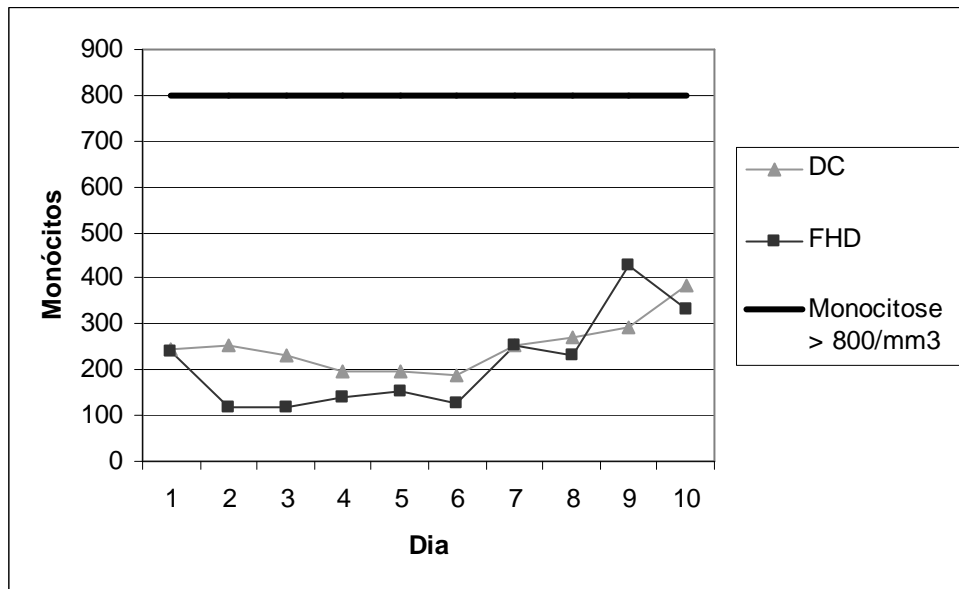


Figura 10 – Monócitos (mediana) segundo o tipo de dengue (classificação da OMS), Campo Grande – 2007

Até o 6º dia, os monócitos apresentam-se em menor número na FHD do que no DC. Ocorreu aumento progressivo no número de monócitos em ambos os grupos, porém mais evidente na FHD. A mediana não demonstrou monocitose em nenhum dos grupos analisados (Figura 10).

A presença de monocitose foi verificada em 34 (6,3%) pacientes. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os tipos de dengue em relação a monocitose ( $p=1,000$  Teste de Fisher). No grupo DC ( $n= 490$ ), 31 (6,3%) apresentaram monocitose, enquanto no grupo FHD, a monocitose ocorreu em 3 (5,7%) pacientes.

No DC observou-se declínio progressivo no número de plaquetas, leucócitos e neutrófilos que inicialmente apresentava-se normal. Seus menores valores foram verificados em torno do 5º ao 7º dia com tendência a recuperação gradativa. O número de linfócitos apresentou-se abaixo da normalidade no 1º dia e prosseguiu dessa forma até uma rápida recuperação no 6º dia, quando também foi verificado aumento no número de monócitos e de linfócitos atípicos (Figura 11).

Na FHD verificou-se que os leucócitos e os neutrófilos também apresentaram redução numérica progressiva, no entanto, esse declínio foi mais acentuado do que no DC. O número de leucócitos e neutrófilos na FHD foi maior no 1º dia, porém a redução foi mais intensa entre o 3º e 6º dia, mas assim como no DC, os neutrófilos, apesar da queda, permaneceram em seus valores normais. A linfopenia foi mais evidente na FHD assim como a recuperação linfocitária a partir do 6º dia e o aumento de monócitos e

linfócitos atípicos. As plaquetas apresentaram-se em valores menores do que no DC e por um período maior de dias (Figura 12).

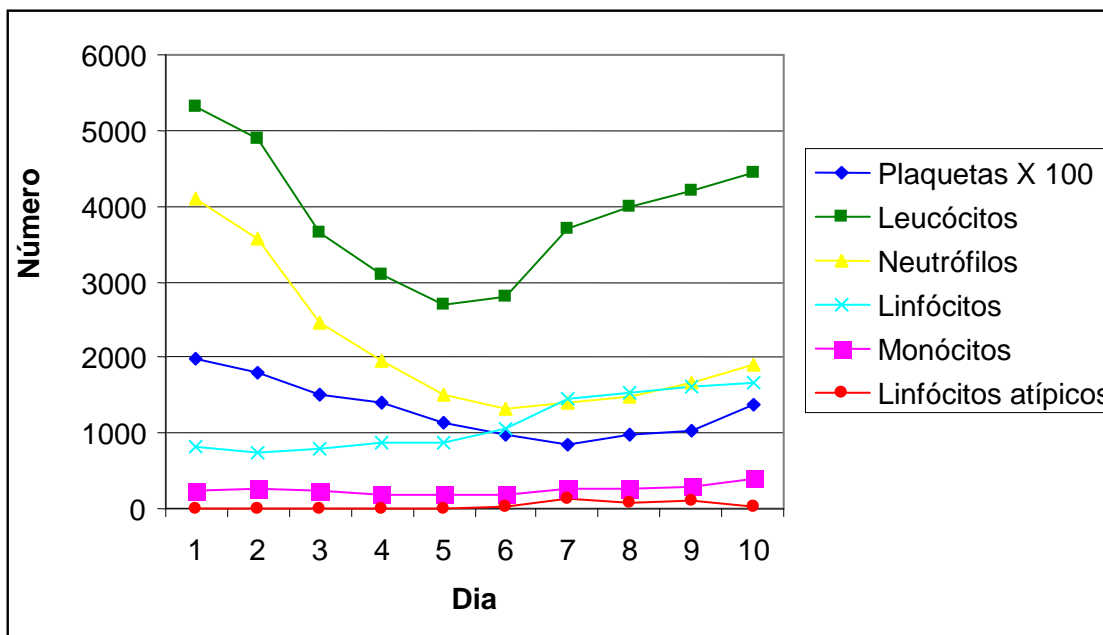


Figura 11 – Componentes do hemograma (mediana) segundo o tipo de dengue “clássico” (classificação da OMS), Campo Grande – 2007

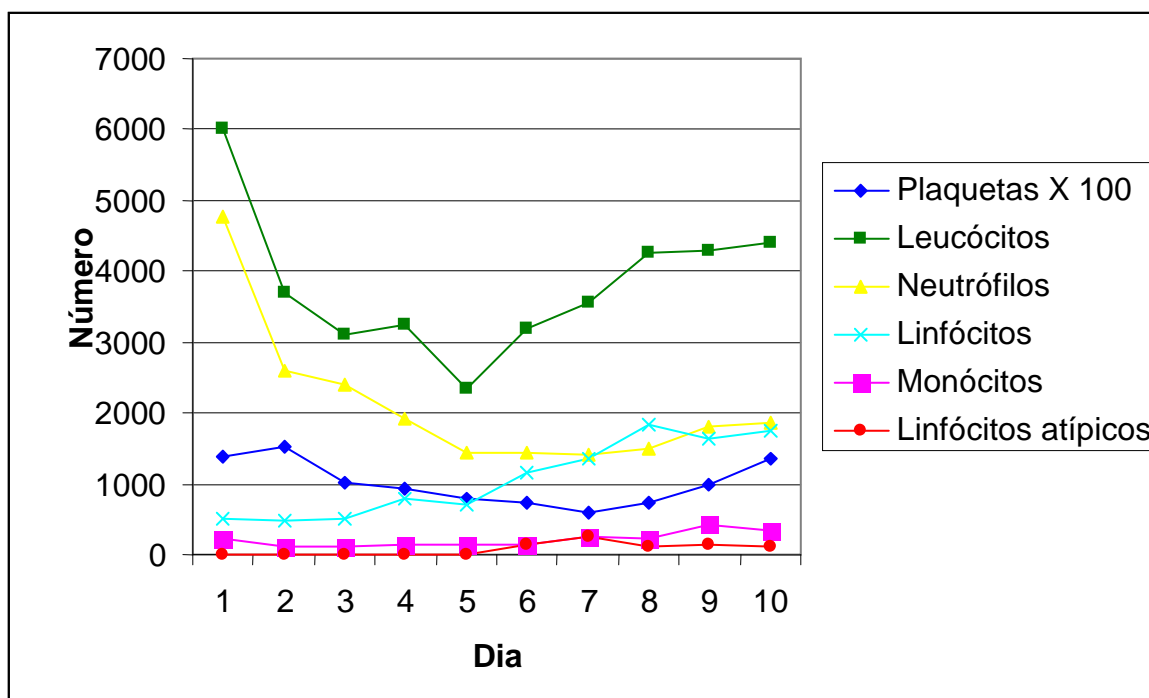


Figura 12 – Componentes do hemograma (mediana) segundo o tipo de dengue “febre hemorrágica” (classificação da OMS), Campo Grande – 2007.

## 6 DISCUSSÃO

A epidemia de dengue em Campo Grande teve início no final de 2006, porém o predomínio dos casos ocorreu no primeiro semestre de 2007, fato este comum no Brasil onde a maioria das epidemias ocorre no período que coincide com o verão e temporada de chuvas no país (CÂMARA et al., 2007). Essa foi a maior epidemia já documentada em Mato Grosso do Sul com notificação, em todo o ano de 2007, de 69.378 casos. Em Campo Grande, o número de casos por habitante foi o maior já visto em uma capital brasileira, um caso de dengue para aproximadamente 16 habitantes durante a epidemia. (BRASIL, 2009d; BRAZUNA, 2008; IBGE, 2007).

Os indivíduos com quadro clínico suspeito de dengue receberam atendimento nas unidades básicas de saúde e em unidades hospitalares de referência. Foram analisados os prontuários de 543 pacientes atendidos na unidade de referência Hospital Dia Professora Esterina Corsini no Hospital Universitário da UFMS no período de janeiro a maio de 2007, período de maior prevalência da doença. Em decorrência da necessidade de realização periódica de consultas médicas e exames laboratoriais até a recuperação clínica dos pacientes, foi possível fazer o levantamento de 1234 hemogramas.

A idade da população analisada variou de 10 a 85 anos predominando o grupo de faixa etária com maior atividade produtiva, entre 18 e 60 anos, e indivíduos do sexo feminino (57,1%). O número de casos de dengue clássico foi bem mais expressivo em relação ao número de casos de febre hemorrágica, respectivamente 90,2% e 9,8%. Não foi possível caracterizar a ocorrência de infecção primária ou secundária, porém sabe-se que epidemias recentes, por sorotipos virais distintos, já haviam ocorrido no estado em outros anos: em 2001 com notificação de 9.440 casos e em 2002 com notificação de 12.176 casos (BRASIL, 2009d).

Além disso, apesar da notificação de um número considerável de casos nesses anos, ainda é provável que uma parcela significativa da população tenha entrado em contato com o vírus nessas epidemias e, por não terem apresentado sintomas ou serem oligossintomáticos, não foram notificados como caso de dengue. Assim, como foi caracterizado em outros estudos, não foi constatada associação entre infecção secundária e casos graves de dengue (GUILARD et al., 2008; BALMASEDA et al., 2006).

Estudo realizado na Nicarágua verificou que a presença de FHD ou de SCD é mais frequente em crianças do que em adultos (HAMMOND et al., 2005), neste trabalho

não houve diferença significativa na frequência desses tipos de dengue em relação às faixas etárias, no entanto foram atendidos indivíduos a partir dos 10 anos de idade, visto que, os menores que essa idade foram atendidos por outro centro de referência.

Existe a interferência de outros fatores relacionados à gravidade da doença que não a presença de infecção viral prévia ou idade de acometimento. Dentre esses fatores podem ser citados a virulência da cepa responsável pela infecção, fatores genéticos individuais, quantidade de vírus inoculado e ordem sequencial das infecções (RICO-HESSE, 2007; TEIXEIRA, 2000b).

É importante considerar que a classificação proposta pela OMS preconiza critérios de inclusão no grupo FHD que tornam a caracterização de gravidade da doença restrita (TORRES, 2008b). Dessa forma, para melhor esclarecimento da gravidade da doença foram utilizados os critérios preconizados para determinação de conduta terapêutica baseados na presença de sangramentos, de sinais de alerta e de comprometimento circulatório. Ainda assim, verificou-se que a maioria dos indivíduos (42,5%) apresentou quadro clínico leve, sem sinais de alerta, sem sangramento ou hipotensão, e nenhum paciente evoluiu com síndrome do choque do dengue ou óbito. Porém, ao analisar a presença de sangramento e de hipotensão arterial, observou-se que o grupo FHD apresentou maior frequência de casos graves.

A prova do laço é recomendada pela OMS para caracterização do quadro de febre hemorrágica do dengue, porém tem sua utilização limitada pelo desconforto que provoca no paciente. Esse método não foi realizado em todos os pacientes e apresentou positividade baixa. Isso pode indicar que acrescentou pouco ao diagnóstico de febre hemorrágica do dengue, sendo utilizado principalmente como indicador de presença de fragilidade vascular. Por outro lado, a positividade relativamente alta no grupo febre hemorrágica pode ter ocorrido por ser um dos critérios de inclusão nesse grupo, ainda que, em outro estudo foi possível observar frequência de positividade da prova do laço semelhante nos grupos FHD e DC (PHOUNG et al., 2002).

Os sangramentos mais frequentemente observados foram os relacionados ao comprometimento da primeira fase da hemostasia, que propicia sangramentos preferencialmente cutâneo-mucosos. Resultados similares foram relatados em um estudo realizado em 105 pacientes pediátricos com dengue em Neiva, Colômbia, no qual se verificou a ocorrência de manifestações hemorrágicas de pele e mucosas em 75% dos pacientes (SALGADO et al., 2007). Não houve diferença quanto ao tipo de sangramento no DC e na FHD sugerindo que ambos os grupos apresentaram como principal defeito de hemostasia o comprometimento de primeira fase.

No entanto, na FHD houve maior número de pacientes com mais de um local de sangramento e a plaquetopenia nesse grupo foi mais importante, achado que sugere associação entre intensidade de plaquetopenia e sangramento. No entanto, foi evidenciado que no grupo com sangramento o número médio de plaquetas foi superior a 50.000/mm<sup>3</sup>, nível este raramente associado à clínica de hemorragia espontânea ou grave, sugerindo que a plaquetopenia pode não ser fator isolado responsável pelo desencadeamento de sangramento, fato observado em estudo na Índia ao comparar sangramento em crianças com e sem plaquetopenia durante a infecção por dengue (GOMBER et al., 2001).

O fato de haver sangramento mesmo em vigência de número de plaquetas considerado pouco provável para ocorrência de hemorragia indica a presença de outros fatores relacionados à manifestação hemorrágica, tais como: o comprometimento vascular, a disfunção plaquetária e os distúrbios da coagulação sanguínea como, por exemplo, a coagulação intravascular disseminada. O grupo FHD apresentou plaquetopenia de maior vulto, o que pode estar associado a aumento de consumo plaquetário em decorrência de coagulação intravascular disseminada, maior ocorrência de anticorpos antiplaquetários ou de destruição plaquetária por complemento (SRICHAIKUL; NIMMANNITYA, 2000).

Vários fatores relacionam-se com os distúrbios hemostáticos no dengue dentre eles: vasculopatia, anormalidades funcionais das plaquetas, liberação de substâncias mediadoras, cuja inter-relação ainda é alvo de muitos estudos, e envolvimento hepático, que interfere na coagulação sanguínea através do comprometimento da produção de fatores de coagulação, principalmente II, VII, IX, X, e de fibrinogênio disfuncional (KRISHNAMURTI et al., 2001).

Além disso, em resposta a estímulos do microambiente, as células endoteliais liberam prostaciclina que podem ser mediadores importantes no dengue, uma vez que interferem na secreção plaquetária e na sua interação com o fator de von Willebrand e com o fibrinogênio. O óxido nítrico também liberado nessas circunstâncias inibe agregação e secreção plaquetárias e promove vasodilatação, evidenciando-se uma complexa rede de fatores relacionados ao aparecimento e à gravidade do sangramento no dengue.

Assim como em outros estudos, os sinais e sintomas mais frequentemente citados foram mialgia (83,2%), cefaleia (80,5%), náuseas e vômitos (64,6%) e tiveram ocorrência semelhante tanto no dengue clássico como na febre hemorrágica (AYYUB et al., 2006; CASALI et al., 2004). Porém, diarreia, hipotermia, dor abdominal e rash

cutâneo foram mais comuns na febre hemorrágica. A diarreia pode ter relação com a liberação de IL-8, uma citocina que pode estar relacionada com o desenvolvimento de diarreia e/ou pelo aumento das prostaciclina que demonstrou estar aumentada em casos de resposta inflamatória aguda (SALLES et al., 1999). Também em outro estudo, a dor abdominal é relatada como sintoma mais comum na febre hemorrágica e pode ter causa multifatorial como dispepsia, hepatite e mais raramente pancreatite ou colecistite, porém mais estudos são necessários para melhor compreensão da etiologia desse sintoma (KHANNA et al., 2005).

Neste estudo, do total de pacientes (n=543), foi observada alta frequência de leucopenia (69,8%) e de trombocitopenia (68,5%), confirmando os achados hematológicos de outros estudos que demonstram frequência elevada de leucopenia e plaquetopenia. Verificaram-se, respectivamente, 76% e 54% de ocorrência dessas anormalidades em adultos (LIN et al., 1989). Em outro estudo, a ocorrência foi 79,49% de plaquetopenia e 48,73% de leucopenia (AYYUB et al., 2006). Ao contrário, esses achados diferem daqueles encontrados no Pará na epidemia de 2007, em que a presença de leucopenia isolada foi de 25,2%, de plaquetopenia isolada foi de 24,3% e de ambos foi de 13,3% (BARROS et al., 2008).

Sabe-se que a ocorrência de leucocitose no dengue pode ser considerada um fator prognóstico associado ao desenvolvimento de complicações (TORRES, 2008b). A mediana de leucócitos não revelou leucocitose, porém foi observada bastonetose com maior frequência no grupo FHD. É interessante observar que, neste estudo, a mediana de leucócitos no primeiro dia de sintomatologia mostrou-se discretamente superior no dengue clássico.

A leucopenia observada nesses pacientes pode estar relacionada à redução no número de neutrófilos, uma vez que as curvas de evolução da leucopenia e neutropenia apresentam declínio semelhante no decorrer da doença. Assim como os leucócitos, os neutrófilos mostram-se numericamente normais no início da sintomatologia, no entanto iniciam uma queda progressiva já a partir do segundo dia de acompanhamento. Percebe-se que a queda é muito mais acentuada e rápida na FHD do que no DC principalmente em relação à curva de leucócitos totais.

Ao contrário, a linfopenia pode ser observada já no primeiro dia de sintomatologia e persiste até o 5º dia. A análise dos hemogramas revelou presença de linfopenia em 53,2% dos hemogramas examinados (n=1234). Em estudo no qual foram avaliadas amostras de sangue de sessenta pacientes com presença de leucopenia durante o dengue observou-se redução da contagem absoluta de células CD8 e CD4

tanto durante fase aguda da doença quanto em período de convalescença (AZEREDO et al., 2006). A maioria dos pacientes com linfopenia apresenta redução no número de linfócitos T, principalmente CD4, isso pelo fato de que 80% dos linfócitos circulantes são linfócitos T e destes, 2/3 são linfócitos CD4 (KIPPS, 2001a, p. 949).

Neste trabalho verificou-se que um importante contribuinte para a recuperação da leucometria foi o aumento no número de linfócitos a partir do 5º dia de evolução da doença. O número de linfócitos apresentou abaixo do normal durante os primeiros dias da doença possivelmente por recrutamento de células CD4 positivas para a resposta imunológica. Quando se iniciou a recuperação linfocitária percebeu-se o surgimento simultâneo de linfócitos atípicos no sangue periférico.

Os linfócitos atípicos são definidos como formas intermediárias de ativação dos linfócitos T em decorrência de estímulos antigênicos virais (SIMON, 2003). Observou-se neste trabalho que 48,5% dos pacientes apresentaram presença de linfócitos atípicos no sangue periférico, sendo esse achado mais comum na FHD. Estudo realizado em Taiwan demonstrou linfocitose atípica em 49,0% dos pacientes com predomínio desses linfócitos nos indivíduos com FHD, além de inversão da razão CD4/CD8 (LIU et al., 2002).

Quando se compara o dengue com outras patologias infecciosas virais de quadro clínico semelhante, constata-se que a presença de, no mínimo, 10% de linfócitos atípicos no sangue periférico é bom indicador para diagnóstico de dengue. Esses resultados são consistentes com análises de marcadores celulares que demonstraram predomínio de linfócitos atípicos na febre hemorrágica do dengue através da citometria de fluxo. Esses linfócitos atípicos são, na maioria, linfócitos CD19 positivos, além disso, são mais frequentes no dia da alta do que na admissão do paciente, relacionando-se com o início da fase de convalescença da doença (JAMPANGERN et al., 2007).

Sabe-se que durante a atividade de um processo inflamatório os neutrófilos são recrutados para fora do vaso e há aumento da sua aderência ao endotélio, aumentando o pool marginado com conseqüente redução do pool circulante. Associado a isso, no dengue, o paciente tem a produção de neutrófilos comprometida pela supressão medular. A ocorrência de neutropenia ou neutrofilia dependerá da capacidade de produção celular da medula óssea durante a evolução da doença e a liberação de células mais imaturas, como os bastonetes, pode estar relacionada à resposta medular ao processo inflamatório.

A monocitose foi verificada em alguns pacientes com dengue, porém não foi comum. Pode estar relacionada à resolução da fase aguda da infecção (LITCHMAN, 2001) e por esse motivo aparecer mais tardiamente no hemograma do dengue. Neste estudo, a mediana de monócitos apresentou discreta elevação a partir do 6º dia e na FHD houve discreto incremento de monócitos comparando-se com o dengue clássico.

São achados compatíveis com os encontrados neste trabalho aqueles de estudo realizado em Taiwan em 2002, no qual se verificou que pacientes com infecção pelo DEN-3 apresentavam aumento de neutrófilos imaturos após 5º-6º dia de febre, monocitose nos 6º - 7º dias e linfocitose atípica entre os 8º- 10º dias (LIU et al., 2002).

Esse trabalho demonstra que as alterações hematimétricas no dengue são dinâmicas. O indivíduo infectado passa por diversas etapas da doença e o mesmo ocorre no hemograma que mostra que um mesmo indivíduo pode apresentar durante a evolução da doença neutropenia, bastonetose, linfopenia e monocitose. Isso ocorre porque a resposta do organismo ao dengue e suas consequências são dependentes de acontecimentos de certa forma imprevisíveis, pois variam de acordo com a atividade inflamatória predominante em determinado momento.

A correlação entre os quadros clínico e laboratorial do dengue e o conhecimento sobre sua patogenia permite concluir que o dengue é uma doença que tem sua gravidade relacionada à dimensão da resposta inflamatória ao vírus. Sua apresentação mais grave, seja através da febre hemorrágica ou do choque do dengue, é uma síndrome de resposta inflamatória sistêmica onde a maciça liberação de mediadores inflamatórios determina a permeabilidade vascular aumentada, as alterações leucocitárias, plaquetárias e de coagulação. Na síndrome de resposta inflamatória sistêmica a produção de fator tecidual e sua expressão em monócitos e células endoteliais desencadeiam a coagulação intravascular disseminada, no entanto, a ativação do fator XII parece não ser tão importante para a sua ocorrência.

As alterações hematológicas observadas no dengue decorrem da inflamação e são dependentes de sua intensidade e característica. Apresentam-se de acordo com a evolução clínica da doença e marcam sua gravidade. Os processos hemorrágicos são considerados mais importantes no dengue por terem consequências mais evidentes, no entanto, as alterações leucométricas e de hemostasia fazem parte de um conjunto patológico em que tudo é importante e significativo, não podendo ser desconectados uns dos outros.



## 7 CONCLUSÕES

As principais alterações hematológicas verificadas no dengue foram a leucopenia, a plaquetopenia, a linfopenia e a presença de linfócitos atípicos. A leucopenia apresentou-se mais intensa em torno do 5º dia de doença, sendo acompanhada por redução do número de neutrófilos. Os linfócitos mostraram-se baixos já nos primeiros dias de sintomatologia, demonstrando recuperação a partir do 5º dia, período em que normalmente ocorre lise da febre. A plaquetopenia observada no dengue foi moderada com tendência à recuperação a partir do 7º dia. A presença de linfócitos atípicos foi observada a partir do 5º dia e o aumento no número de monócitos apresentou um incremento a partir do 6º dia.

Não houve diferença na frequência de FHD e DC em relação ao sexo e idade. A hipotensão, os sinais de alerta e a hemorragia foram mais frequentes na FHD. No DC ocorreram os quadros clínicos considerados mais leves. Não houve diferença entre os grupos FHD e DC no que se refere ao tipo de sangramento predominante, no entanto, na FHD ocorreu maior número de múltiplos sangramentos. Os pacientes com FHD apresentaram dor abdominal, rash cutâneo, diarreia, hipotermia, dispnéia e dor óssea com maior frequência do que os pacientes com DC.

As alterações hematológicas evidenciadas no DC apresentaram evolução diária semelhante às encontradas na FHD, exceto pela plaquetopenia mais precoce. A FHD apresentou linfopenia e plaquetopenia mais acentuadas e maior número de linfócitos atípicos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBUQUERQUE, P. L.; SILVA JÚNIOR, G. B.; DIÓGENES, S. S; SILVA, H. F. Dengue and aplastic anemia: a rare association. **Travel Medicine and Infectious Disease**, v. 7, n. 2, p. 118-120, Mar. 2009.
- ALCON, S.; TALARMIN, A.; DEBRUYNE, M.; FALCONAR, A.; DEUBEL, V.; FLAMAND, M. Linked Immunosorbent Assay Specific to Dengue Virus Type 1 Nonstructural Protein NS1 Reveals Circulation of the Antigen in the Blood during the Acute Phase of Disease in Patients Experiencing Primary or Secondary Infections. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 40, n. 2, p. 376–381, Feb. 2002.
- AYYUB, M.; KHAZINDAR, A. M.; LUBBAD, E. H.; BARLAS, S.; ALFI, A. Y.; AL-UKAYLI, S. Characteristics of dengue fever in a large public hospital, Jeddah, Saudi Arabia. **Journal Ayub Medical College**, Abbottabad, v. 18, n. 2, p. 9-13, Apr./June 2006.
- AZEREDO, E. L.; ZAGNE, S.; ALVARENGA, A.; NOGUEIRA, R. M. R.; KUBELKA, C. F.; OLIVEIRA-PINTO, L. M. Activated peripheral lymphocytes with increased expression of cell adhesion molecules and cytotoxic markers are associated with dengue fever disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 101, n. 4, p. 437-449, June 2006.
- BALMASEDA, A.; HAMMOND, S. N.; PÉREZ, L.; TELLEZ, Y.; SABORÍO, S. I.; MERCADO, J. C.; CUADRA, R.; ROCHA, J.; PÉREZ, M. A.; SILVA, S.; ROCHA, C.; HARRIS, E. Serotype-specific differences in clinical manifestations of dengue. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 74, n. 3, p. 449-456, Mar. 2006.
- BANCROFT, T. L. On the etiology of dengue fever. **Australasian Medical Gazette**, Melbourne, v. 25, n. 1, p. 17-18, Jan. 1906.
- BANDYOPADHAYAY, S.; LUM, L. C. S.; KROEGER, A. Classifying dengue: a review of the difficulties in using the WHO case classification for dengue haemorrhagic fever. **Tropical Medicine & International Health**, v. 11, n. 8, p. 1238-1255, Aug. 2006.
- BARROS, L. P. S.; IGAWA, S. E. S.; JOCUNDO, A.Y.; BRITO JÚNIOR, L. C. Análise crítica dos achados hematológicos e sorológicos de pacientes com suspeita de dengue. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, Rio de Janeiro, v. 30, n. , p. 363-366, out./nov. 2008.
- BHAMARAPRAVATI, N. Dengue and dengue hemorrhagic fever. In: GUBLER, D.J., KUNO, G. (Eds.). **CAB International**, New York, p. 115–132, 1997.
- BOTTIEAU, E.; CLERINX, J.; VAN DEN ENDEN, E.; VAN ESBROEK, M.; COLEBUNDERS, R.; VAN GOMPEL, A.; VAN DEN ENDE, J. Fever after a stay in the tropics: diagnostic predictors of the leading tropical conditions **Medicine**, Maryland, v. 86, n. 1, p. 18-25, Jan. 2007.
- BRASIL. Secretaria de Gestão Participativa do Mato Grosso do Sul. **Cadernos Metropolitanos: a sociedade e a construção do SUS**, Brasília: Ministério da Saúde, 2004c.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Epidemiológica. Série A: Normas e Manuais Técnicos. **Guia de Vigilância Epidemiológica**, Brasília, 2006a.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Informe Epidemiológico da Dengue, Janeiro a Dezembro de 2007**. Brasília 2008b. Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/boletim\\_dengue\\_010208.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/boletim_dengue_010208.pdf)>. Acesso em: 10 maio 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Casos de Dengue. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas, 1997 a 2008**. Brasília 2009d. Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/tabela\\_casos\\_dengue\\_classico\\_2008.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/tabela_casos_dengue_classico_2008.pdf)>. Acesso em 10 maio 2009.

BRAZUNA, J. C. M. Dados epidemiológicos dengue, Campo Grande, MS, 2007 [mensagem pessoal]. Mensagem recebida por <evenycristine@yahoo.com.br > em 25 fev. 2008.

BRITO, C. A. A.; ALBUQUERQUE, M. F. M. P.; LUCENA-SILVA, N. Evidência de alterações de permeabilidade vascular na dengue: quando a dosagem de albumina sérica define o quadro? **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 40, n. 2, p. 220-223, mar./abr. 2007.

BURKE, D. S.; MONATH, T. P. Flaviviruses. In: KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M. **Fields Virology**. 4. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p.1043-1126, 2001.

BURKE, D. S.; NISALAK, A.; JOHNSON, D. E.; SCOTT, R. M. A prospective study of dengue infections in Bangkok. **American Journal of Tropical Medicine**, v. 38, n. 1, p. 172-188, June 1988a.

CÂMARA, F. P.; THEOPHILO, R. L. G.; SANTOS, G. T.; PEREIRA, S. R. F. G.; CÂMARA, D. C. P.; MATOS, R. R. C. Estudo retrospectivo (histórico) da dengue no Brasil: características regionais e dinâmicas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 40, n. 2, p. 192-196, mar./abr. 2007.

CASALI, C. G.; PEREIRA, M. R. R.; SANTOS, L. M. J. G.; PASSOS, M. N. P.; FORTES, B. P. M. D.; VALENCIA, L. I. O.; ALEXANDRE, A. J.; MEDRONHO, R. A. 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, jul./ago. 2004.

CASTOR DE LIMA, V.; RANGEL, O.; ANDRADE, V. R.; SILVEIRA, N. Y. J.; OLIVEIRA, S. S. Dengue: inquérito populacional para pesquisa de anticorpos e vigilância virológica no município de Campinas, São Paulo, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 3, p. 669-680, mar. 2007.

CENTER FOR DISEASE CONTROL. Division of vector-borne infectious disease. Transmission of dengue virus by *Aedes aegypti*. 2000. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/dengue/slideset/set1/i/slide04.htm&usg>>. Acesso em 12 mai. 2009.

CHATURVEDI, U. C.; ELBISHBISHI, E. A.; AGARWAL, R.; RAGHUPATHY, R.; NAGAR, R.; TANDON, R.; PACSA, A. S.; YOUNIS, O. I.; AZIZIEH, F. Sequential production of cytokines by dengue virus-infected human peripheral blood leukocyte cultures. **Journal of Medical Virology**, v. 59, p. 335-340, Sept. 1999.

CHATUVERDI, U. C.; NAGAR, R.; SHRIVASTAVA, R. Dengue and dengue haemorrhagic fever: implications of host genetics. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 47, p. 155-166, 2006.

CHATUVERDI, U. C.; SHRIVASTAVA, R.; TRIPATHI, R. K.; NAGAR, R. Dengue virus-specific suppressor T cell: current perspectives. **FEMS Immunology and Medical Microbiology**, v. 50, p. 285-299, 2007.

CLELAND, J. B.; BRADLEY, B.; MCDONALD, W. Dengue fever in Australia: its history and clinical course, its experimental transmission by *Stegomyia fasciata*, and the results of inoculation and other experiments. **Journal of Hygiene**, v. 16, n. 4, p. 317-418, Jan. 1918.

COLOGNA, R.; RICO-HESSE, R. American genotype structures decrease dengue virus output from human monocytes and dendritic cells. **Journal of Virology**, v. 77, n. 7, p. 3929-3938, abr. 2003.

CUNHA, R. V.; MARQUES-FILHO, V. S.; AGUIAR, J. I. A.; PANIAGO, A. M. M.; LINDENBERG, A. S. C.; HANS-FILHO, G.; MIAGOSTOVICH, M. P.; NOGUEIRA, R. M. R.; SCHATZMAYR, H. G. Dengue hemorrágico em Campo Grande, MS: relato do primeiro caso diagnosticado. In: Resumos do XXXII Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Goiânia, 1996. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, n. 29, p. 57, 1996b.

CUNHA, R. V.; DIAS, M.; NOGUEIRA, R. M. R.; CHAGAS, N.; MIAGOSTOVICH, M. P.; SCHATZMAYR, H. G. 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, nov./dez. 1995a.

DALE, D. C. Neutropenia and neutrophilia. In: BEUTLER, E. (Org.) **Williams Hematology**. 6. ed. McGraw-Hill, 2001. cap. 71, p. 823-852.

DÍAZ-QUIJANO, F. A.; VILLAR-CENTENO, L. A.; MARTÍNEZ-VEGA, R. A. Early indicators of severity in dengue virus infection. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 23, n. 9, p. 529-532, Nov. 2005.

FALCÃO, R. P. Heterogeneidade das células do sangue. Órgão hematopoiéticos e linfopoiéticos. In: ZAGO, M. A. (Org.) **Hematologia: fundamentos e prática**. 1. ed. São Paulo: Atheneu, 2005, cap. 1, p. 3-13.

FIGUEIREDO, L. T. M.; FONSECA, B. A. L. Dengue. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de infectologia**. São Paulo: Atheneu, 1996, p. 201-213.

FIGUEIREDO, L. T. M. Pathogenesis of dengue virus infections. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 32, n.15-20, Jan./Mar.1999.

FOUCAR, K.; DUNCAN, M. H.; SMITH, K. J. Practical approach to the investigation of neutropenia. **Clinics in Laboratory Medicine**, v. 13, n. 4, p. 879-894, 1993.

FUJIMURA, M. D. Hipotensão arterial na infância: diagnóstico e tratamento. *Pediatria*. São Paulo. v. 5, n. 4, p. 205-213, jun-jul. 1983.

GASCÓN, J.; GINER, V.; VIDAL, J.; JOU, J.M.; MAS, E.; CORACHÁN, M. Dengue: a re-emerging disease: a clinical and epidemiological study in 57 Spanish travelers. **Medicina Clínica**, Barcelona, v. 111, n. 15, p. 583-6, Nov.1998.

GONÇALVES, A.; ESCALANTE, A.; PUJOL, F.; LUDERT, J.; TOVAR, D.; SALAS, R. Diversity and evolution of the envelope gene of dengue virus type 1. **Virology**, v. 303, p.110-119, 2002.

GOMBER, S.; RAMACHANDRAN, V. G.; KUMAR, S.; AGARWAL, K. N.; GUPTA, P.; GUPTA, P.; DEWAN, D. K. Hematological observations as diagnostic markers in dengue hemorrhagic fever: a reappraisal. **Indian Pediatrics**, New Delhi, v. 38, n. 5, p. 477-481, May 2001.

GOMES, A. C.; BITENCOURT, M. D.; NATAL, D.; PINTO, P. L. S.; MUCCI, L. F.; PAULA, M. B.; URBINATTI, P. R.; BARATA, J. M. S. *Aedes albopictus* em área rural do Brasil e implicações na transmissão de febre amarela silvestre. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, n. 33, v. 1, p. 95-97, fev. 1999.

GREEN, S.; ROTHMAN, A. Immunological mechanisms in dengue and dengue hemorrhagic fever. **Current Opinion in Infectious Diseases**, Massachusetts, n. 19, p. 429-436, 2006.

GUBLER, D. J. Dengue and dengue hemorrhagic fever. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v.11, n. 3, p. 480-496, July 1998.

GUILARDE, A. O.; TURCHI, M. D.; SIQUEIRA JÚNIOR, J. B.; FERES, V. C. R.; ROCHA, B.; LEVI, J. E.; SOUZA, V. A. U. F.; VILLAS BOAS, L. S.; PANNUTI, C. S.; MARTELLI, C. M. T. Dengue and dengue hemorrhagic fever among adults: clinical outcomes related to viremia, serotypes and antibody response. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 197, p. 817-824, Mar. 2008.

GUZMÁN, M. G.; GARCÍA, G.; KOURÍ, G. El dengue y el dengue hemorrágico prioridades de investigación. **Revista Panamericana de Salud Pública**, Washington, v. 19, n. 3, mar. 2006.

GUZMÁN, M. G.; KOURÍ, G. Dengue: an update. **Lancet Infectious Disease**, v. 2, n. 1, p. 33-42, 2002.

HALL, W. C.; CROWELL, T. P.; WATTS, D. M.; BARROS, V. L. R.; KRUGER, B.; PINHEIRO, F.; PETERS, C. J. Demonstration of yellow fever and dengue antigens in formalin-fixed paraffin-embedded human liver by immunohistochemical analysis, **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 45, p. 408-417, 1991.

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

HALSTEAD, S. B.; NIMMANNITYA, S.; COHEN, S. N. Observations related to pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. IV. Relation of disease severity to antibody response and virus recovered. **Yale Journal of Biology and Medicine**, New Haven, v. 42, p. 311-328, Apr. 1970.

HAMMOND, S. N.; BALMASEDA, A.; PÉREZ, L.; TELLEZ, Y.; SABORÍO, S. I.; MERCADO, J. C.; VIDEA, E.; RODRIGUEZ, Y.; PÉREZ, M. A.; CUADRA, R.; SOLANO, S.; ROCHA, J.; IDIAQUEZ, W.; GONZALEZ, A.; HARRIS, E. Differences in dengue severity in infants, children and adults in a 3-year hospital-based study in Nicaragua. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 73, n. 6, p. 1063-1070, Dec. 2005.

HENCHAL, E. A.; PUTNAK, J. R. The dengue viruses. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 3, n. 4, p. 376-396, Oct. 1990.

HOKAMA, N. K.; MACHADO, P. E. A. Interpretação clínica do hemograma nas infecções. **Jornal Brasileiro de Medicina**, v. 72, n. 3, p. 38-42, mar.1997.

IBGE, População recenseada e estimada, segundo os municípios - Mato Grosso do Sul – 2007. **Censos 2007**, Brasília, Dez. 2007, Disponível em: <[http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/contagem2007/contagem\\_final/tabela1\\_1\\_24.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/contagem2007/contagem_final/tabela1_1_24.pdf)>. Acesso em: 11 mai. 2009.

JAMPANGERN, W.; VONGTHOUNG, K.; JITMITTRAPHAP, A.; WORAPONGPAIBOON, S.; LIMKITTIKUL, K.; CHUANSUMRIT, A.; TARUNOTAI, U.; CHONGSA-NGUAN, M. Characterization of atypical lymphocytes and immunophenotypes of lymphocytes in patients with dengue virus infection **Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology**, Thailand, v. 25, n. 1, p. 27-36, Mar. 2007.

KHANNA, S.; VIJ, J. C.; KUMAR, A.; SINGAL, D.; TANDON, R. Etiology of abdominal pain in dengue fever. **Dengue Bulletin**, v. 29, cap. 10, p. 85-89, 2005.

KIPPS, T. J. Functions of T lymphocytes: T-cell receptors for antigen. In: BEUTLER, E.; LITCHMAN, M. A.; COLLER, B. S.; KIPPS, T. J.; SELIGSOHN, U. (Org.). **Williams Hematology**. 6. ed. McGraw-Hill, 2001a. cap. 84, p. 949-963.

KIPPS, T. J. Lymphocytosis and lymphocytopenia. In: BEUTLER, E.; LITCHMAN, M. A.; COLLER, B. S.; KIPPS, T. J.; SELIGSOHN, U. (Org.). **Williams Hematology**. 6. ed. McGraw-Hill, 2001b. cap. 87, p. 969-976.

KRISHNAMURTI, C.; KALAYANAROOJ, S.; CUTTING, R. A. P.; ROTHWELL, S. W.; REID, T. J.; GREEN, S.; NISALAK, A.; ENDY, T. P.; VAUGHN, D. W.; NIMMANNITYA, S.; INNIS, B. L. Mechanisms of hemorrhage in dengue without circulatory collapse. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 65, n. 6, p. 840-847, June 2001.

KWAN, W. H.; HELT, A. M.; MARAÑÓN, C.; BARBAROUX, J. B.; HOSMALIN, A.; HARRIS, E.; FRIDMAN W.; MUELLER, C. G. F. Dendritic Cell Precursors Are Permissive to Dengue Virus and Human Immunodeficiency Virus Infection. **Journal of Virology**, v. 79, n. 12, p. 7291-7299, jun. 2005.

- LANCIOTTI, R. S.; GUBLER, D. J.; TRENT, D. W. Molecular evolution and phylogeny of dengue-4 viruses. **Journal of General Virology**, v. 78, p. 2279-2284, 1997.
- LA RUSSA, V. F.; INNIS, B. L. Mechanisms of dengue virus-induced bone marrow suppression. **Baillière's Clinical Haematology**, v. 8, n. 1, p. 249-70, Mar. 1995.
- LE MERCIER, P. **Flavivirus molecular biology**. Disponível em: <[www.expasy.ch/viralzone/all\\_by\\_species/24.html](http://www.expasy.ch/viralzone/all_by_species/24.html)> Acesso em: 02 mai. 2009.
- LICHTMAN, M. A. Monocytosis and monocytopenia. In: BEUTLER, E.; LITCHMAN, M. A.; COLLER, B. S.; KIPPS, T. J.; SELIGSOHN, U. (Org.). **Williams Hematology**. 6. ed. McGraw-Hill, 2001. cap. 77, p. 881-898.
- LIN, S. F.; LIU, H. W.; CHANG, C. S.; YEN, J. H.; CHEN, T. P. Hematological aspects of dengue fever. **Kaohsiung Journal of Medical Sciences**, Taiwan, v. 5, n. 1, p. 12-16, jan. 1989.
- LIU, C. C.; HUANG, K. J.; LIN, Y. S.; YEH, T. M.; LIU, H. S.; LEI, H. Y. Transient CD4/CD8 ratio inversion and aberrant immune activation during dengue virus infection. **Journal of Medical Virology**, v. 68, n. 2, p. 241-252, Aug. 2002.
- LOURENÇO, D. M. Trombocitopenias. In: ZAGO, M. A. (Org.). **Hematologia: fundamentos e prática**. 1. ed. São Paulo: Atheneu. 2005. cap. 68, p. 763-770.
- LUZ, R. Comunicação nos anais do Primeiro Congresso Brasileiro de Medicina e Cirurgia, Rio de Janeiro, 1889. p 115-124, set. 1888.
- MACGREGOR, R. R.; FRIEDMAN, H. M.; MACARAK, E. J.; KEFALIDES, N. A. Virus infection of endothelial cells increases granulocyte adherence. **Journal of Clinical Investigation**, v. 65, p. 1469-1477, June 1980.
- MCBRIDE, W. J. H.; BIELEFELDT-OHMANN, H. Dengue viral infections: pathogenesis and epidemiology. **Microbes and Infection**, v. 2, p. 1041-1050, 2000.
- MITRAKUL, C.; POSHYACHINDA, M.; FUTRAKUL, P.; SANGKAWIBHA, N.; AHANDRIK, S. Hemostatic and platelet kinetic studies in dengue hemorrhagic fever. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Illinois, v. 26, n. 5, p. 975-984, 1977.
- NOGUEIRA, R. M. R.; MIAGOSTOVICH, M. P.; SCHATZMAYR, H. G. Epidemiologia molecular dos vírus do dengue no Brasil, **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 16, n. 1, p. 205-211, jan./mar. 2000.
- OKAY, Y. Dengue na criança: controvérsias. **Pediatria**, São Paulo, v. 13, n. 2, p. 45-47, 1991.
- PANG, T.; CARDOSA, N. J.; GUZMAN, M. G. Of cascades and perfect storms: the immunopathogenesis of dengue haemorrhagic fever-dengue shock syndrome (DHF/DSS). **Immunology and Cell Biology**, Canberra, v. 85, n. 1, p. 43-45, Jan. 2007.

PHUONG, C. X. T.; NHAN, N. T.; WILLS, B.; KNEEN, R.; HA, N. T. T.; MAI, T. T. T.; HUYNH, T. T. T.; LIEN, D. T. K.; SOLOMON, T.; SIMPSON, J. A. ; WHITE, N. J.; FARRAR, J. J. Evaluation of the World Health Organization standard tourniquet test and a modified tourniquet test in the diagnosis of dengue infection in Vietnam **Tropical Medicine and International Health**, v. 7, n. 2, p. 125-132, Feb. 2002.

POTTS, J. A.; ROTHMAN, A. L. Clinical and laboratory features that distinguish dengue from other febrile illnesses in endemic populations. **Tropical Medicine and International Health**, Nova Jersey, v. 13, n. 11, p. 1328-1340, Nov. 2008.

REGO, J. P. Esboço histórico das epidemias que tem grassado na cidade do Rio de Janeiro desde 1830 a 1870. **Diário oficial do Império do Brasil**. Rio de Janeiro, p. 44-51, jan. 1872.

REIS, T. J. A febre dengue em Curityba. **Gazeta Médica da Bahia**, Salvador, v. 28, n. 6, p. 263-266, dez. 1896.

RICO-HESSE, R. Dengue virus evolution and virulence models. **Clinical Infection Disease**, Chicago, v. 44, n. 11, p. 1462-1466, June 2007.

RIGAU-PEREZ, J. G. The early use of break-bone fever (quebranta huesos, 1771) e dengue (1801) em espanhol. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Illinois, v.59, n.2, p. 272-274, Aug. 1998.

RODRIGUES, M. B. P.; FREIRE, H. B. M.; CORRÊA, P. R. L.; MENDONÇA, M. L.; SILVA, M. R. I.; FRANÇA, E. B. É possível identificar a dengue em crianças a partir do critério de caso suspeito preconizado pelo Ministério da Saúde? **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 81, n. 3, p. 209-215, 2005.

ROSEN, L.; REOZEBOOM, L. E.; SWEET, B. H.; SABIN, A. B. The Transmission of Dengue by *Aedes Polynesiensis* Marks. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Illinois, v. 5, n. 3, p. 878-882, 1954.

ROSENFELD, S. J.; YOUNG, N. S. Viruses and bone marrow failure. **Blood Reviews**, v. 5, n. 2, p. 71-7, June 1991.

SALGADO, D. M.; RODRÍGUEZ, J. A.; GARZÓN, M. Caracterización clínica y epidemiológica de dengue hemorrágico en Neiva, Colombia 2004. **Revista de Salud Pública**, Bogotá, v. 9, n. 1, p. 53-63, jan./mar. 2007.

SALLES, M. J. C.; SPROVIERI, S. R. S.; BEDRIKOW, R.; PEREIRA, A. C., CARDENUTO, S. L.; AZEVEDO, P. R. C.; SILVA, T. M.; GOLIN, V. Síndrome da resposta inflamatória sistêmica/sepsis: revisão e estudo da terminologia e fisiopatologia. **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 45, n. 1, p. 86-92, jan.1999.

SCHATZMAYR, H. G. Viroses emergentes e re-emergentes. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 17, supl., p. 209-213, 2001.



SCHNEIDER, J.; DROLL, D. A. **Timeline for dengue in the Americas to December 31, 2000 and noted first occurrences.** Pan American Health Organization. Division of Disease Prevention and Control, June 2001.

SERUFO, J. C.; NOBRE V.; RAYES, A.; MARCIAL, T. M.; LAMBERTUCCI, J. R. Dengue: uma nova abordagem. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 33, n. 5, p. 465-476, set./ out., 2006.

SHOUB, B. D.; VENTER, M. Flavivírus. In: ZUCKERMAN, A. A.; BANATVALA, J. E.; PATTISON, J. R.; GRIFFITHS, P. D.; SHOUB, B. D. **Principles and Practices of Clinical Virology.** 6 ed. New Jersey: John Wiley and Sons, 2009. cap. 28, p. 679-683.

SILVA, L. A. **Estudo retrospectivo da infecção pelo vírus dengue a partir de amostras de pacientes com suspeita clínica usuários do SUS, em Goiânia/Goiás, 2001 a 2003.** 43f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia)-Universidade Federal de Goiás, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Goiânia, 2006.

SIMON, M. W. The atypical lymphocyte. **International Pediatrics.** Miami, v. 18, n. 1, Mar. 2003.

SMOLEN, J. E.; BOXER, L. A. Functions of neutrophils. In: BEUTLER, E.; LITCHMAN, M. A.; COLLER, B. S.; KIPPS, T. J.; SELIGSOHN, U. (Org.) **Williams Hematology.** 6. ed. McGraw-Hill, 2001. cap. 67, p. 761-784.

SRICHAIKUL, T.; NIMMANNITYA, S. Haematology in dengue and dengue haemorrhagic fever. **Best Practice & Research Clinical Haematology**, v. 13, n. 2, p. 261-276, 2000.

STEPHENSON, J. R. Understanding dengue pathogenesis: implications for vaccine design. **Public Health Reviews**, v. 83, n. 4, p. 308-314, Apr. 2005.

TASSANEETRITHEP, B.; BURGESS, T. H.; GRANELLI-PIPERNO, A.; TRUMFELLER, C.; FINKE, J.; SUN, W.; ELLER, M. A.; PATTANAPANYASAT, K.; SARASOMBATH, S.; BIRX, D. L.; STEINMAN, R. M.; SCHLESINGER, S.; MAROVICH, M. A. DC-SIGN (CD209) Mediates dengue virus infection of human dendritic cells. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 197, n. 7, p. 823-829, abr. 2003.

TEIXEIRA, M. G. L. C.; COSTA, M. C. N.; BARRETO M. L.; MOTA, E. Dengue e febre hemorrágica do dengue no Brasil: que tipo de pesquisas a sua tendência, vigilância e experiências de controle indicam serem necessárias? **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 5, p. 1307-1315, set./out. 2005a.

TEIXEIRA, M. G. L. C. **Dengue e espaços intra-urbanos: dinâmica de circulação viral e efetividade de ações de combate vetorial.** 2000. 199 f. Tese (Doutorado em Saúde Coletiva) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2000b.

THOMAS, J. G. Dengue. **Public Health Papers and Reports**, Boston, v. 6, p. 136-153, Dec. 1880.

TOMLINSON, S. M.; MALMSTROM, R. D.; WATOWICH, S. J. **New approaches to structure-based discovery of dengue proteases inhibitors**. Infectious Disorders Drug Targets. 2009. Disponível em: <[http://www.dsimb.inserm.fr/~debrevern/IDDT-2009\\_in\\_silico\\_issue/iddt\\_2009\\_in\\_silico\\_issue.php](http://www.dsimb.inserm.fr/~debrevern/IDDT-2009_in_silico_issue/iddt_2009_in_silico_issue.php)> Acesso em: 12 mai. 2009.

TORRES, E. M. Dengue. Estudos Avançados. São Paulo. v. 22, n. 64, p. 33-52, 2008b.

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

TRENT, D. W.; MANSKE, C. L.; FOX, G. E.; CHU, M. C.; KLIKS, S. C.; MONATH, T. P. The molecular epidemiology of dengue viruses; genetic variation and microevolution. **Applied Virology Research**, v. 2, p. 293-315, 1990.

VALDÉS, K.; ALVAREZ, M.; PUPO, M.; VÁZQUEZ, S.; RODRÍGUEZ, R.; GUZMÁN, M. G. Human dengue antibodies against structural and nonstructural proteins. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 7, n. 5, p 856-857, Sept. 2000.

VASCONCELOS, P. F. C.; LIMA, J. W. O.; RAPOSO, M. L.; RODRIGUES, S. G.; ROSA, J. F.S. T.; AMORIM, S. M. C.; ROSA, E. S. T.; MOURA, M. P.; FONSECA, N.; ROSA, A. P. A. T. Inquérito soro-epidemiológico na ilha de São Luís durante epidemia de dengue no Maranhão. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, n. 2, p. 322-330, Uberaba, mar./abr. 1999.

VAUGHN, D. W.; GREEN, S.; KALAYANAROOJ, S.; INNIS, B. L.; NIMMANNITYA, S.; SUNTAYAKORN, S.; ROTHMAN, A. L.; ENNIS, F. A.; NISALAK, A. Dengue in the early febrile phase: viremia and antibody responses. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 176, p. 322-330, Illinois, Aug.1997.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Dengue Net Implementation in the Americas**: report of a WHO/PAHO/CDC meeting. Geneva: WHO, 2003a. Disponível em:<<http://www.who.int./resources/publications/dengue/whocds2003.pdf>>. Acesso em: 10 abr. 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Prevention and control of dengue and dengue hemorrhagic fever: comprehensive guidelines. **Dengue Bulletin**, v. 23, Dec.1999c. Disponível em: <<http://www.searo.who.net/section10/section332/section5212464.htm>> Acesso em: 10 mai. 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. Geneve: WHO, 1997b.





Globulina											
-----------	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

## ANEXO I - APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA



**Universidade Federal de Mato Grosso do Sul**  
**Comitê de Ética em Pesquisa /CEP/UFMS**



### *Carta de Aprovação*

*A minha assinatura neste documento, atesta que o protocolo nº 1140 da Pesquisadora Évery Cristine Luna de Oliveira intitulado "Alterações hematológicas em pacientes atendidos com quadro clínico de dengue no Hospital-Dia "Professora Esterina Corsini, janeiro a maio de 2007", e o seu Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, foram revisados por este comitê e aprovados em reunião ordinária no dia 24 de abril de 2008, encontrando-se de acordo com as resoluções normativas do Ministério da Saúde.*

*Prof. Osair Pimentel Martins*

*Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMS*

*Campo Grande, 30 de abril de 2008.*