

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
MESTRADO EM DOENÇAS INFECCIOSAS E PARASITÁRIAS
ROBERTO DIAS DE OLIVEIRA

DINÂMICA DE CIRCULAÇÃO DOS VÍRUS DENGUE EM DOURADOS/MS:
UM ESTUDO SENTINELA

CAMPO GRANDE
2009

ROBERTO DIAS DE OLIVEIRA

**DINÂMICA DE CIRCULAÇÃO DOS VÍRUS DENGUE EM DOURADOS/MS:
UM ESTUDO SENTINELA**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito parcial para obtenção do título de mestre.

Orientador: Prof. Dr. Rivaldo Venâncio da Cunha.

**CAMPO GRANDE
2009**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Coordenadoria de Biblioteca Central – UFMS, Campo Grande, MS, Brasil)

O48d Oliveira, Roberto Dias de.
Dinâmica de circulação dos vírus dengue em Dourados, MS : um estudo sentinela / Roberto Dias de Oliveira. -- Campo Grande, MS, 2009.
64 f. ; 30 cm.

Orientador: Rivaldo Venâncio da Cunha.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Faculdade de Medicina.

1. Dengue – Dourados (MS). I. Cunha, Rivaldo Venâncio da. II. Título.

CDD (22)
616.91852

A dissertação intitulada DINÂMICA DE CIRCULAÇÃO DOS VÍRUS DENGUE EM DOURADOS/MS: UM ESTUDO SENTINELA, apresentada por ROBERTO DIAS DE OLIVEIRA, como exigência para obtenção do grau de Mestre em Doenças Infecciosas e Parasitárias, à banca examinadora, na Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, MS, obteve conceito **aprovada**.

BANCA EXAMINADORA

NOTA/CONCEITO

Dr. Rivaldo Venâncio da Cunha PPGDIP/UFMS

Aprovada

Dr^a. Rita Maria Ribeiro Nogueira IOC/FIOCRUZ

Aprovada

Dr^a. Ana Rita Coimbra Mota-Castro DFB/UFMS

Aprovada

Dr^a. Anamaria Mello Miranda Paniago PPGDIP/UFMS
(suplente)

Campo Grande, 15 de junho de 2009.

AGRADECIMENTOS

Dizer obrigado não é suficiente para expressar com exatidão o que sinto para com vocês. Faltam-me palavras... Este trabalho representa mais uma etapa de um caminho iniciado há alguns anos, que sem vocês não seria possível.

Começo com senhor, **Prof. Rivaldo**, meus sinceros agradecimentos! Mais que um orientador, na verdade um amigo, sempre presente nas horas decisivas, conduzindo-me à realidade quando meus devaneios levavam-me a outros planos... Paciente, ponderado e brilhante, eu não poderia continuar o mesmo depois de conviver com o senhor. Se hoje digo que sou mestre é porque acreditastes em mim, nos meus sonhos e me conduziste no caminho do saber. Meus sinceros agradecimentos.

Cassinha, companheira de universidade, colega de turma, com a qual dividi alegrias, tristezas, saberes, angústias e as viagens. Ah, as viagens! Sempre alegres e embaladas por canções sertanejas! Obrigado! Quero te dizer que você mora no meu coração.

Aos colegas da **Turma I do mestrado**, os quais me acolheram, um forasteiro do interior de Mato Grosso do Sul, em incursões pela cidade morena! Foram momentos preciosos de aprendizado, algumas aflições e diversões. Diversões sim nas festas (Base Aérea, no Sergio Félix, na Glaucia) e até mesmo nas aulas... Recorda-te Clarice do dia que descobrimos que as únicas coisas “virgens” no PPGDIP eram os “linfócitos T *naïve*” nos linfonodos e...

Agradeço aos meus anfitriões sempre prontos a me hospedar ao longo desses dois anos, dando mais que um “pouso”, na verdade palavras incentivadoras e acima de tudo, a amizade. **Andréia** (turma II), **Elisangela**, **Glaucia** e **Thiago** (está em ordem alfabética ta...) muito obrigado! Sem vocês eu teria dormido na praça!

Alcione e **Clarice** não me esqueci das senhoras não, apenas quero agradecê-las com mais afinco. “Valcione”, amizade construída ao longo desse curso, muito obrigado por tudo (casa, comida – escassa, mas era comida; ajuda com a bancada; porto de galinhas...) quizá eu me deparasse pelo caminho com mais pessoas como você! Claricinha - minha amiga de longa data da Secretaria de Estado de Saúde (SES/MS) - ter você como companheira de turma foi estupendo. As duas moram no meu coração. Muito obrigado.

Profª Sonia Andrade se a senhora não acreditasse em mim e não visualizasse em meio ao turbilhão de minhas idéias um projeto...eu nem teria chegado até aqui! Obrigado pelas orientações, correções do documento final, pelas palavras de incentivo e acima de tudo, obrigado pela confiança que em mim depositaste.

Drª Ana Rita e suas bolsistas **Paula “Pega ning”** e **Gina**, obrigado pela ajuda com as técnicas laboratoriais, com a soroteca, com os conselhos... e por ter me acolhido no LAC. Na verdade ajuda é pouco para definir seu papel nesta dissertação, o correto é participação! Ana Rita você é um exemplo de desprendimento e dedicação que enaltece a PPGDIP. *¡Muchas gracias!*

Sandra Leone, obrigado por sempre me acolher no Hospital Dia durante as rápidas visitas à capital, pelo uso do telefone, empréstimo de material para coleta de amostras... enfim, você foi uma das pedras angulares desse trabalho. **Angelita Druzian**, não me esqueci de você não! Obrigado pelos “cafés”, pelas conversas amigas e desabafos. Ainda bem que viestes de Santa Rosa/RS para Campo Grande!

A **Monique Lima** (IOC/FIOCRUZ) pela disponibilidade em se deslocar do Rio de Janeiro à Campo Grande, pela ajuda com os ELISA (quase todos não reagentes né...), as trocas de idéias e sugestões, obrigado!

A **Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul**, Programa de Capacitação Docente, através do qual tudo foi possível. Se hoje vejo este trabalho pronto é porque recebi o apoio de vocês, que acreditam na formação docente e, mais que acreditar, a tornam real.

A **Secretaria de Saúde de Dourados**, pela liberação para frequentar as aulas e realizar o estudo em sua rede. Obrigado, acima de tudo, às **equipes de saúde da família** participantes do projeto (16, 22, 29 e 42). Obrigado por acreditar na minha idéia e ajudar a implementá-la.

Aos meus colegas de trabalho da Vigilância Epidemiológica de Dourados (**Antônia, Marlene, Silvia Bosso, Maricélia, Conceição, João Gialdi, Etevaldo e Nezas**) obrigado pela paciência, pelo apoio, pela ajuda e pela confiança que depositaram em mim, este mestrado foi possível porque tive vocês a meu lado.

Ao meu amigo **Jair**, sempre disposto a tomar conta de “Akiles” e da minha casa, nas constantes viagens de estudo. Gordo, muito obrigado!

E por fim a você **Selma Thais**, muito obrigado. Não somente por acreditar em mim, no meu trabalho e no meu ideal, mas também por nunca ter desistido de mim “levando-me a força” ao Procópio’s Boliche (várias vezes aliás). Sempre a meu lado, nas horas tristes, nas horas felizes, nas madrugadas e no sol a pino. *Yo jamás dije “te quiero” porque lo que siento és mayor que el amor...*

RESUMO

O dengue tornou-se nos últimos 50 anos um grave problema de saúde pública mundial, expondo aproximadamente, todo ano, metade da população do planeta ao risco de infecção. A maioria das pesquisas sobre circulação viral é conduzida na vigência de epidemias, onde a dinâmica de transmissão está elucidada, sendo escassos os relatos sobre o período interepidêmico. Assim, objetivou-se no presente trabalho descrever a dinâmica de circulação dos vírus dengue no município de Dourados, Mato Grosso do Sul, no ano de 2008, através da vigilância sentinela de casos febris. Realizou-se um estudo descritivo, transversal em dois tempos, para o qual quatro unidades de saúde foram definidas como sentinela para dengue e os pacientes com febre e/ou exantema, sem foco infeccioso aparente eram convidados a participarem do estudo, tendo duas amostras de sangue colhidas, uma na fase aguda dos sintomas e outra na convalescência. As amostras foram submetidas a ensaio imunoenzimático para diagnóstico de dengue (infecção aguda), bem como para diagnóstico diferencial de rubéola e toxoplasmose. O ano de estudo foi caracteristicamente interepidêmico, sendo registrada uma incidência de 1,7/10.000, índice 99,4% menor que o registrado durante a epidemia. Foram realizadas 93 coletas durante o estudo (26,6% na fase convalescente), as quais metade ocorrendo nos primeiros quatro meses do ano, quando as condições ambientais eram propícias ao desenvolvimento e sobrevivência do vetor. A região leste da cidade apresentou o maior número de casos sentinela (42%). A circulação viral na interepidemia ocorreu de maneira semelhante à epidemia, acometendo predominantemente a raça branca e a faixa etária de 20 a 49 anos, diferindo apenas na frequência das manifestações clínicas. Foram detectados seis casos agudos de dengue (presença de anticorpos IgM) e nove de toxoplasmose, evidenciando, desta forma, a importância do diagnóstico diferencial nos casos sintomáticos porém sorologicamente não reagentes para dengue. Quanto à rubéola, em mais de 95% dos casos, foi detectado apenas marcador de infecção passada, provavelmente associado à vacinação. Novos estudos são necessários tanto para identificar o sorotipo viral circulante quanto para estimar o percentual de infecção prévia de dengue.

Palavras-chave: dengue, interepidemia, vigilância sentinela

ABSTRACT

Dengue has become in the last 50 years a major public health problem worldwide, exposing approximately every year, half of the planet's population to the risk of infection. Most studies on viral movement is conducted in the course of epidemics, where the dynamics of transmission is clarified, and few reports on the interepidemic period. The objective in the present work describe the dynamic movement of dengue virus in the city of Dourados, Mato Grosso do Sul, in the year 2008, through the sentinel surveillance of fever cases. There was a descriptive study, cross in two stages, where four units of health were defined as sentinel for dengue and patients with fever and / or rash, with no apparent infectious focus were invited to participate in the study, taking two samples of blood collected, one in acute phase of symptoms and another in convalescence. The samples were tested by enzyme immunoassay for diagnosis of dengue (acute infection) and for differential diagnosis of rubella and toxoplasmosis. The year was characteristically interepidemic period, and recorded an incidence of 1.7 / 10,000, index lower than the 99.4% recorded during the epidemic. 93 collections were made during the study (26.6% in the convalescent phase), with half occurring in the first four months of the year when environmental conditions were conducive to development and survival of the vector. The region east of the city had the largest number of sentinel cases (42%). A viral movement interepidemic period occurs in a manner similar to the epidemic, affecting predominantly the white race and age 20 to 49 years, differing only in the frequency of clinical manifestations. We found six acute cases of dengue (presence of IgM antibodies) and 9 of toxoplasmosis, thus highlighting the importance of differential diagnosis in symptomatic cases but serologically non-reactive for dengue. As for rubella in over 95% of cases, was detected only marker of past infection, possibly associated with vaccination. Further studies are necessary both to identify the viral serotype circulating as to estimate the percentage of previous dengue infection.

Keywords: dengue, interepidemic period, sentinel surveillance

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	10
2.1 Histórico.....	10
2.2 Epidemiologia.....	12
2.3 O agente etiológico	14
2.4 O vetor	15
2.5 A doença	19
<u>2.5.1 Dengue clássico</u>	<u>20</u>
<u>2.5.2 Febre hemorrágica do dengue (FHD) e síndrome do choque por dengue (SCD)</u>	<u>21</u>
<u>2.5.3 Etiopatogenia da FHD e da SCD</u>	<u>23</u>
<u>2.5.4 Manifestações clínicas não usuais</u>	<u>25</u>
2.6 Diagnóstico laboratorial e diferencial	26
<u>2.6.1 Principais técnicas laboratoriais</u>	<u>27</u>
2.7 O sistema de vigilância do dengue no Brasil	30
2.8 Período interepidêmico e vigilância sentinela	30
2.9 A epidemia de dengue em Dourados/MS, 2007	32
3 OBJETIVOS	34
3.1 Objetivo geral	34
3.2 Objetivos específicos.....	34
4 METODOLOGIA	35
4.1 Tipo de estudo.....	35
4.2 Área de estudo	35
4.3 Sujeitos da pesquisa.....	35
4.4 Entrevista, coleta de material biológico e obtenção de dados secundários	36
4.5 Organização dos dados e processamento do material biológico.....	37
4.6 Processamento e análise estatística dos dados	39
4.7 Considerações éticas	39
5 RESULTADOS	40
6 DISCUSSÃO	46
7 CONCLUSÕES	51
REFERÊNCIAS	52
ANEXOS	64

1 INTRODUÇÃO

O dengue é um dos principais problemas de saúde pública no mundo. A Organização Mundial de Saúde estima que entre 50 a 100 milhões de pessoas se infectem anualmente em mais de 100 países. Entre as doenças reemergentes esta virose é a mais importante na atualidade.

Sendo um agravo de transmissão vetorial (mosquitos do gênero *Aedes*), uma vez presentes as condições consideradas apropriadas ao aumento de sua densidade (infestação predial maior que 1%, índice de pendência maior que 10%, precipitação pluvial elevada, alta temperatura, alta concentração populacional, déficit de coleta de lixo e esgotamento sanitário, além de distribuição de água deficiente), tem-se a dispersão em caráter epidêmico da doença, mediante a existência de suscetíveis ao sorotipo circulante.

Epidemias de dengue já foram registradas em todo o mundo tropical e sua ocorrência acompanha o aumento da pluviosidade que, no município de Dourados, MS, inicia-se em novembro, com o pico entre fevereiro e abril, e termina em meados de junho.

Durante a epidemia, a dinâmica de circulação dos vírus dengue está definida e consubstancialmente relatada pela literatura, o que não ocorre com o período interepidêmico. Em levantamento preliminar realizado no ano de 2006 em Dourados, durante a interepidemia, foi identificada em 15 amostras de soro, uma positividade de 30% para o dengue. Assim, diante das sucessivas epidemias ocorridas em Dourados, da possível circulação dos vírus dengue no período interepidêmico, torna-se imprescindível a caracterização, através da vigilância sentinela, da circulação viral no município.

O desenvolvimento deste projeto foi fundamental para a definição dos padrões de circulação dos vírus dengue, em caráter endêmico no município de Dourados, que contribuiu para as ações de prevenção e controle da doença.

Advindo a constatação de que os estudos concentram-se nos períodos epidêmicos, a presente casuística trouxe relevante contribuição ao conhecimento acerca desta enfermidade na interepidemia e, acrescido do fato de que não existem estudos semelhantes em Dourados, justificou-se a realização deste.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Histórico

A data e local exatos dos primeiros casos de dengue, antes do isolamento do agente, ainda hoje são alvo de especulações e controvérsias no meio científico.

Gubler (1997) cita como primeira epidemia da doença, casos de febre, *rash*, dor ocular, artralgia, mialgia e manifestações hemorrágicas (sangramentos em faringe, gengiva, intestino e vagina) ocorridas nas “*French West Indies*” no ano de 1635. Entretanto, o mesmo autor relata casos semelhantes ao dengue descritos numa enciclopédia chinesa publicada durante a dinastia Chin (265-420 D.C).

Graham (1903) em seu clássico estudo “*The dengue: a study of its pathology and mode of propagation*” menciona as epidemias de Java, Cairo e Alexandria em 1779, tidas para alguns autores como as primeiras epidemias de dengue antes do isolamento viral.

Num resgate histórico com cerca de 300 anos, Gubler (1997) cita a ocorrência de 8 pandemias, com duração de 3 a 7 anos, ocorridas entre 1779 e 1916.

No Brasil existem relatos de uma doença semelhante ao dengue entre 1846-1848, chamada à época de “polka”, uma vez que a claudicação intermitente produzida pelo agravo assemelhava-se com uma dança da época (REGO, 1872, p. 48). Entretanto, num trecho do texto o autor relata que “[...] logo que principiaram as chuvas e trovoadas de Novembro em diante, a epidemia diminuiu consideravelmente [...]”, assim o relato tem sido alvo de dúvidas, dado que a epidemia extinguiu-se exatamente quando as condições ambientais tornaram-se propícias ao seu aumento.

Luz (1889) faz um detalhado relato sobre uma doença semelhante ao dengue, ocorrida na cidade de Valença (RJ) no ano de 1886, sendo este considerado por muitos como o primeiro registro clínico do agravo no Brasil.

Reis (1896) relata ocorrência de dengue em Curitiba, provavelmente trazida por imigrantes espanhóis. Mariano (1917) discorre sobre a doença no Rio Grande do Sul, possivelmente importada da Argentina e Uruguai.

Em 1923, Pedro realiza um estudo sobre uma enfermidade em Niterói (RJ) a qual o autor define como dengue. Trata-se de um relato completo e detalhado, não

suscitando dúvidas sobre a etiologia da doença, sendo este considerado o melhor relato clínico no país antes do isolamento viral (PEDRO, 1923).

Entre a década de 20 e o início da década de 80 existem poucos relatos sobre dengue no país, destacando-se o trabalho de Causey e Theiler (1958) que realizaram um inquérito sorológico na Amazônia, encontrando evidências de circulação viral na década de 50, quando o vetor da doença era considerado erradicado do país.

A primeira identificação viral ocorreu no surto de Boa Vista, no então território de Roraima, onde circularam os sorotipos 1 e 4 do vírus (OSANAI *et al.*, 1983), sendo estimados, aproximadamente, 11 mil casos e uma incidência de 22,6%.

Este primeiro evento com identificação do sorotipo circulante restringiu-se ao extremo norte do país. Diferente da introdução do sorotipo 1 no estado do Rio de Janeiro em 1986 que, encontrando condições ambientais favoráveis e hospedeiros suscetíveis, deu início a um dos maiores problemas de saúde do Brasil (NOGUEIRA; ARAÚJO; SCHATZMAYR, 2007).

Do Rio de Janeiro, o vírus disseminou-se para a região nordeste, sudeste e centro-oeste (SIQUEIRA *et al.*, 2005), tornando o país responsável por 70% das notificações do agravo nas Américas. Os mesmos autores referem-se a dois períodos do dengue no Brasil: epidemias localizadas geograficamente (de 1986 a 1993) e circulação endêmico-epidêmica a partir de 1994.

Com a situação agravando-se no fim dos anos 80, a nova década traz consigo um novo sorotipo viral, sendo o sorotipo 2 isolado em 1990 por Nogueira *et al.* (1993) no estado do Rio de Janeiro. A partir de então observa-se um grave cenário no Brasil, onde a falência das ações de erradicação/controle do *Aedes aegypti* associa-se a co-circulação dos sorotipos 1 e 2, culminando com o registro dos primeiros casos de dengue hemorrágico graves e fatais (NOGUEIRA; MIAGOSTOVICH; SCHATZMAYR, 2000).

Em dezembro de 2000, o sorotipo 3 é isolado no município de Nova Iguaçu/RJ, dando início a co-circulação dos três sorotipos virais naquele estado. Dois anos depois é registrada a maior epidemia da doença no Brasil com 288.245 casos de dengue, sendo 1.831 de febre hemorrágica (91 mortes) e incidência de 1.735/100.000 (NOGUEIRA *et al.*, 2005; NOGUEIRA; ARAÚJO; SCHATZMAYR, 2007).

2.2 Epidemiologia

A transmissão do dengue está limitada pela distribuição de seu vetor no mundo. Ao que os estudos indicam, a partir do sudeste asiático espalhou-se para o mundo no pós-guerra, não que anteriormente a este período não tenha sido registrada fora da Ásia (GUBLER, 1997). Entretanto, com o aumento das viagens internacionais e o considerável encurtamento das mesmas, essa dispersão foi acelerada (CUNHA; NOGUEIRA, 2005; DÍAZ, 2004; GUZMÁN; KOURI, 2002; KOURI, 2006; QUERALES, 2002; RIGAU-PÉREZ *et al.*, 1998; TORRES, 2006).

Uma das teorias sobre a origem do dengue propõe que a doença restringia-se ao ciclo mosquito - primatas não-humanos nas florestas do continente asiático (WOLFE; DUNAVAN; DIAMOND, 2007). Esta vertente teórica vem se fortalecendo, principalmente com o encontro de vetores e primatas infectados na Ásia (GUBLER, 1997).

Sinteticamente, explica-se a dinâmica de transmissão pela entrada de um sorotipo viral numa localidade com população suscetível a este sorotipo, que encontrando vetores em quantidade suficiente (infestação predial acima de 1%) e condições ambientais favoráveis, pode iniciar sua circulação em caráter explosivo e epidêmico. Com a formação da imunidade de grupo, ou diminuição dos vetores, ou alterações no ambiente, a transmissão pode ocorrer de forma endêmica, onde cada ciclo duraria em média de três a sete anos (TEIXEIRA; BARRETO; GUERRA, 1999).

A Organização Mundial de Saúde considera dois componentes envolvidos nessa dinâmica: os macro e os microdeterminantes (figuras 1 e 2).

Dentre os macrodeterminantes (figura 1), destacam-se elevadas temperatura e umidade relativa do ar, alta densidade populacional, coleta de resíduos sólidos domiciliares e abastecimento de água potável deficientes; já entre os microdeterminantes (figura 2) estão o percentual de susceptíveis aos sorotipos circulantes, abundância e tipos de criadouros do mosquito transmissor, altos índices de infestação predial e densidade de fêmeas deste vetor (PAHO, 1994).

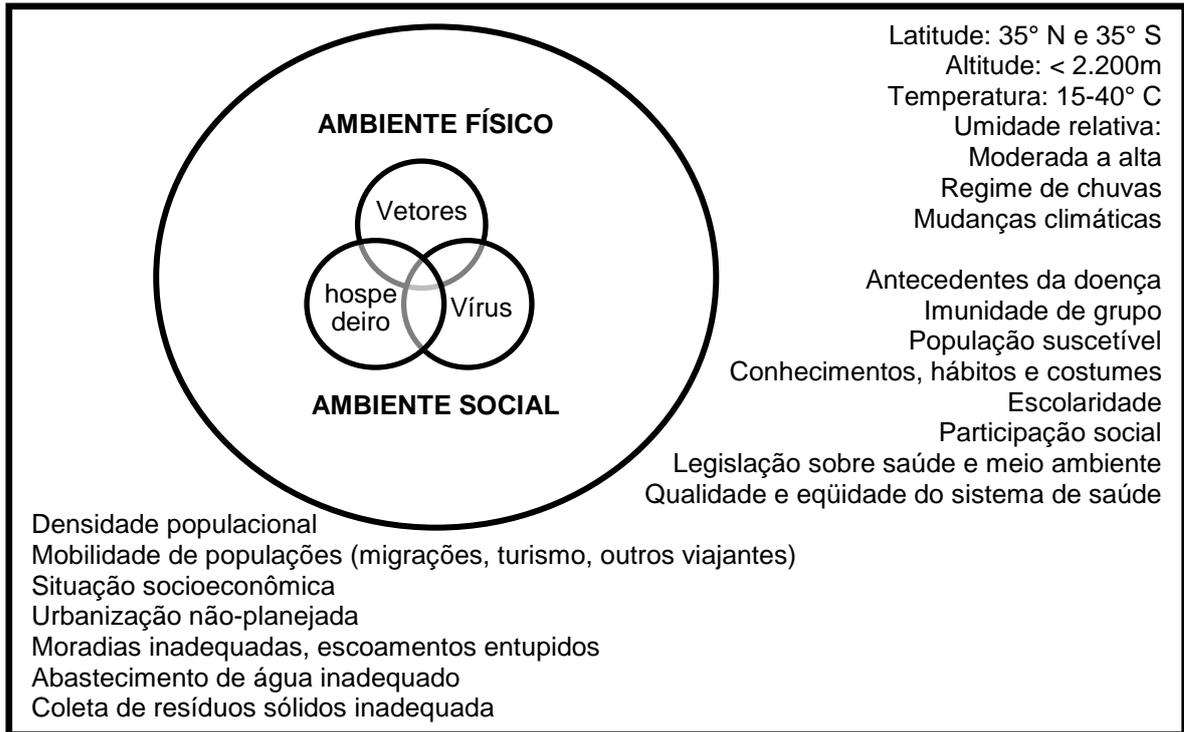


Figura 1 – Fatores macrodeterminantes das epidemias de dengue e febre hemorrágica do dengue

Fonte: Torres, 2005, p. 66.

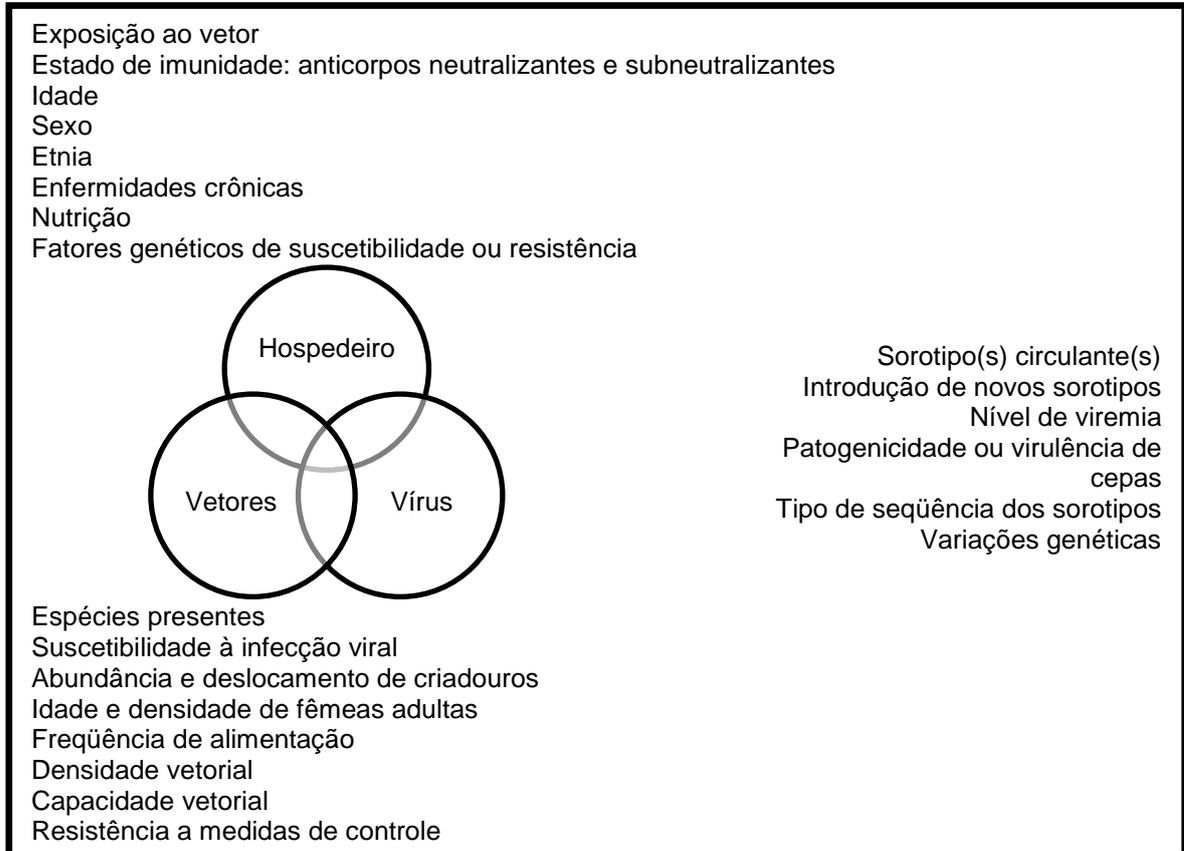


Figura 2 – Fatores microdeterminantes e suas inter-relações na gênese das epidemias de dengue e febre hemorrágica do dengue

Fonte: Torres, 2005, p. 67.

2.3 O agente etiológico

Trata-se de um vírus isolado na década de 40, mas suspeito de causar o dengue desde 1907. Na época os vírus eram denominados de *filterable agent* e os estudos de Bancroft (1906) e Ashburn e Craig (1907) foram fundamentais para a descoberta da etiologia viral da doença.

Juntamente com a febre amarela foi um dos primeiros microorganismos a ser denominado de vírus. A autoria do primeiro isolamento é atribuída a Hota e Kimura (1952) que publicaram seus achados num periódico de pouca divulgação. Um ano após Sabin (1952) também isolou o vírus a partir de amostras sanguíneas de soldados na Índia, Nova Guiné e Havaí, obtendo maior publicidade.

Este agente pertence à família *Flaviviridae*, gênero *Flavivirus*. Estão incluídos neste gênero cerca de 73 espécies: 34 transmitidas por mosquitos, 17 por carrapatos e 22 são agentes de zoonoses sem vetor conhecido. Cerca de 60% dessas espécies causam doenças em humanos (MONATH; HEINZ, 2001).

A partícula viral é esférica com diâmetro de aproximadamente 40-50 nm. O genoma consiste de uma fita simples de RNA, com polaridade positiva (11Kb) e é envolto por um nucleocapsídeo icosaédrico, composto por uma proteína (denominada C) e uma dupla camada lipídica, associada às proteínas M e E, membrana e envelope, respectivamente (CHAMBERS *et al.*, 1990). A proteína E é a principal proteína estrutural e está relacionada com a imunidade e, provavelmente, à virulência da cepa. Os vírus dengue possuem ainda sete outras proteínas, ditas não-estruturais, (NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b e NS5) relacionadas à replicação viral.

São reconhecidos quatro (4) sorotipos diferentes do vírus dengue: DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4, que são sorologicamente relacionados, mas antigenicamente distintos, o que confere imunidade homóloga permanente e heteróloga transitória, de 2 a 3 meses (SABIN, 1950).

Os estudos moleculares sobre as seqüências de nucleotídeos do genoma viral do dengue permitiram classificar o agente em genótipos. Os sorotipos 1 e 3 foram classificados em cinco genótipos cada, o sorotipo 2 em seis genótipos e o sorotipo 4 em três genótipos (ARAÚJO, 2009).

No Brasil co-circulam DENV-1, DENV-2 e DENV-3, com relato de circulação do DENV-4 em Roraima no início dos anos 80 (SILVA JUNIOR *et al.*, 2002; NOGUEIRA; MIAGOSTOVICH; SCHATZMAYR, 2000).

2.4 O vetor

As primeiras evidências da transmissão vetorial do dengue foram descritas por Graham em 1903, durante uma epidemia da doença no Líbano (GRAHAM, 1903), onde foram encontradas duas espécies de culicídeos, *Culex fatigans* e *Stegomyia fasciata*, infestando áreas urbanas. Dado a maior proporção de *C. fatigans*, Graham atribuiu a esta espécie a transmissão da doença.

Três anos depois, Agramonte (1906) reforça a teoria de transmissão vetorial, durante uma epidemia de dengue em Cuba, onde foi observada a presença de *Cu. fatigans*. No mesmo ano, Bancroft (1906) atribuiu a etiologia do dengue a um organismo ultra-microscópico e, apesar do fracasso de seus experimentos, associou a transmissão da doença ao mosquito *Stegomyia fasciata*.

Stegomyia fasciata é a antiga denominação do *Aedes (Stegomyia) aegypti*, (Linnæus, 1762) um mosquito do gênero *Aedes*, subgênero *Stegomyia*, aparentemente originário da África, (CADAVID, 2004; FORATTINI, 2002; RODHAIN; ROSEN, 1997). Este culicídeo é tido como o principal vetor do dengue no mundo, ficando o *Aedes albopictus*, com importância secundária nos ciclos periurbanos e rurais da Ásia (AYRES *et al.*, 2003; PADUAN; ARAÚJO JUNIOR; RIBOLLA, 2006; SCOTT *et al.*, 2000).

Especula-se que a infestação inicial da América por este mosquito deu-se durante as primeiras explorações e colonização do continente, onde larvas foram transportadas em barris de água nos barcos (DONALÍSIO; GLASSER, 2002; PENNA, 2003; TORRES, 2005).

O *Ae. aegypti* é uma espécie tropical e subtropical cuja dispersão se limita a latitudes compreendidas entre 45° norte e 40° sul, correspondendo a uma temperatura média de 10° durante o inverno – figura 3 (DONALÍSIO; GLASSER, 2002; FORATTINI, 2002; RODHAIN; ROSEN, 1997). A altitude também é um fator limitante da sua dispersão, sendo registrado como limite 2.200m.

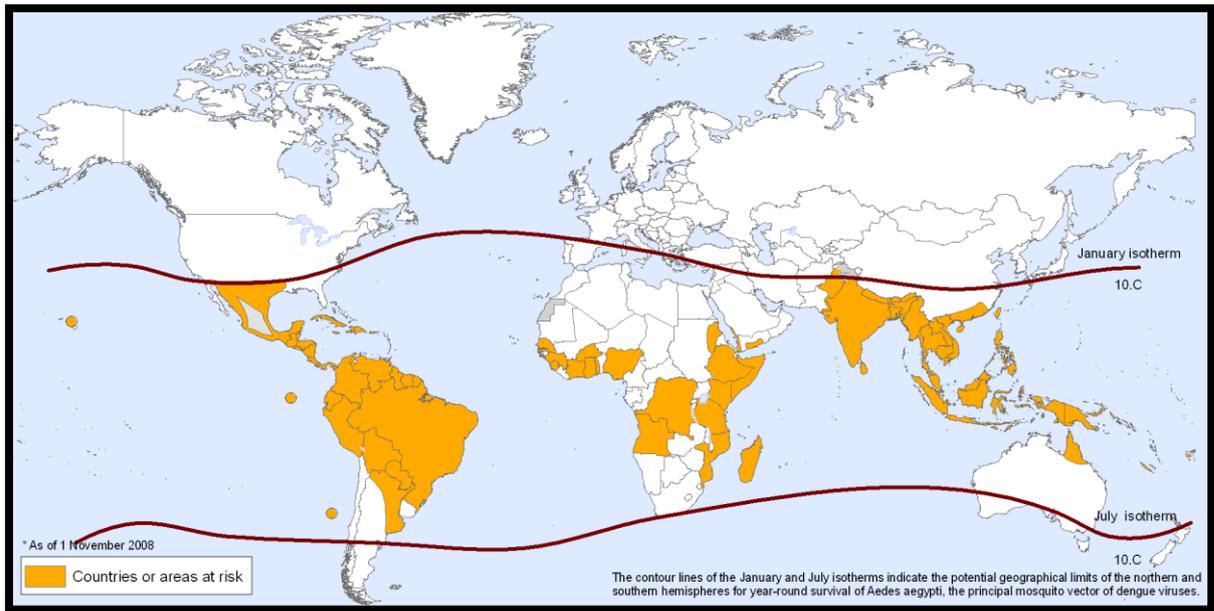


Figura 3 – Áreas de risco para a transmissão do dengue, delimitadas pelas isotermas de 10° C em ambos os hemisférios

Fonte: World Health Organization, 2008.

Em geral, este mosquito é considerado doméstico devido à infestação de recipientes artificiais encontrados nos domicílios ou peridomicílios (CÂMARA, *et al.*, 2007; RIGAU-PÉREZ *et al.*, 1998). Sua autonomia de vôo é estimada em 100m, ainda que possa ser encontrado a vários quilômetros do domicílio mais próximo, devido a fatores ambientais como vento e escassez de locais para oviposição (CADAVID, 2004; DONALÍSIO; GLASSER, 2002).

Estes mosquitos são insetos holometabólicos (passam por quatro estádios de desenvolvimento: ovo – larva – pupa – adulto). Depois da transformação em adulto, a partir da pupa, estes acasalam e as fêmeas realizam a ingestão de sangue ao picar o homem. Pesquisas têm sugerido uma predileção das fêmeas por sangue humano, dado sua composição bioquímica vantajosa à maturação dos ovos (HARRINGTON; EDMAN; SCOTT, 2001). Tanto o acasalamento quanto o repasto sangüíneo ocorrem quase que simultaneamente, uma vez que as fêmeas são atraídas para perto do homem (para ingestão de sangue) e os machos, apesar de não serem hematófagos, também o são (TAUIL, 2001). A fêmea grávida procura recipientes de paredes ásperas que contenham água limpa, abrigados da luz solar direta, para depositar seus ovos. Aproximadamente três dias após a ingesta de sangue, ocorre a ovipostura, quase sempre ao final da tarde. Ainda que a autonomia

de vôo desta espécie seja curto, as fêmeas podem percorrer grandes distâncias (mais de 400m) na busca por locais aptos a sua ovipostura (FORATTINI, 2002).

Após a postura os ovos se aderem individualmente às paredes internas dos recipientes, um pouco acima da linha d'água. O desenvolvimento embrionário se completa em 48 horas em climas úmidos e quentes. Uma vez completada esta fase, os ovos podem suportar a dessecação por longos períodos - até 450 dias (TAUIL, 2002). Ao entrar em contato com a água, a maioria eclode rapidamente, dando lugar a uma larva de primeiro estágio. A capacidade dos ovos de suportar a dessecação tem sido um dos principais obstáculos para o controle efetivo, já que podem ser transportados a grandes distâncias em recipientes que contenham (ou não) água, permitindo a reinfestação de lugares já controlados ou a infestação de áreas indenes (CADAVID, 2004).

As larvas passam por quatro estádios de desenvolvimento, mudando sucessivamente seu exoesqueleto e são bastante móveis na busca de alimento e sombra. O tempo que a larva permanece em cada fase, depende, em grande parte da disponibilidade de alimento, da temperatura e da densidade larvária do criadouro. É durante este período que a espécie é vulnerável, já que o esvaziamento do recipiente, onde estão as larvas, é o responsável pela grande mortalidade das fases imaturas (FORATTINI, 2002).

A larva se transforma posteriormente em pupa, caracterizada por sua movimentação ágil na superfície da água do criadouro. Ficam nesta fase por dois dias, sem alimentar-se, ao fim dos quais emerge como mosquito, pela ruptura do dorso da pupa, ficando na superfície da água até o endurecimento de sua cutícula (FORATTINI, 2002). A partir deste momento tem-se início um novo ciclo, com a busca de fontes de sangue para obtenção de proteínas necessárias ao desenvolvimento dos ovos.

Após a entrada do vírus no mosquito, através da via oral, este inicia sua replicação nas células do intestino posterior, cuja velocidade depende da temperatura ambiente e da quantidade de partículas ingeridas. Do intestino, espalha-se para o restante do corpo do vetor, sendo particularmente abundante no cérebro, tórax e abdome, concentrando-se, posteriormente, nas glândulas salivares (RODHAIN; ROSEN, 1997). A infecção do inseto permanece por toda sua vida, podendo ocorrer ainda, a infecção dos ovos e a transmissão sexual (LEE; ROHANI, 2005; ROSEN, 1987).

Este período, denominado incubação extrínseca, é dependente da temperatura ambiente e da quantidade de virions ingeridos na ocasião do repasto sanguíneo, podendo variar de 2 a 15 dias, com uma média de 8 a 11 dias (RODHAIN; ROSEN, 1997).

Quando não estão acasalando, picando ou se locomovendo, os mosquitos repousam em lugares escuros e tranquilos, principalmente no interior das residências (dormitórios, banheiros, cozinhas), nas superfícies de móveis escuros, atrás das cortinas ou de roupas penduradas. Os mosquitos adultos podem sobreviver vários meses em condições de laboratório, mas na natureza geralmente morrem em poucos dias (em média 30), vítimas de predadores e das adversidades do meio (DONALÍSIO; GLASSER, 2002).

O *Ae. aegypti* é uma espécie domiciliada, sendo a maioria das fêmeas da espécie encontradas no intradomicílio (SCOOT *et al.*, 2000), apesar de usarem o peridomicílio para a oviposição (DONALÍSIO; GLASSER, 2002). Devido a esta característica, o crescimento desordenado das cidades facilitou a proliferação da espécie, dificultando em grande escala o controle da doença (GOMES, 2002).

A despeito da hegemonia da transmissão do dengue pelo *Ae. aegypti*, outras espécies do gênero são implicadas na transmissão da doença (figura 4). *Aedes (Stegomyia) scutellaris*, *Aedes polynesiensis*, *Aedes (Gymnometopa) mediovittatus*, *Aedes (Protomacleaya) triseriatus* mostraram-se suscetíveis ao vírus. Suspeita-se ainda da participação do *Aedes (Diceromyia) taylori* e *Aedes furcifer* em ciclo silvestre (RODHAIN; ROSEN, 1997).

Espécie	Distribuição Geográfica	Ecologia
<i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i>	Sul dos Estados Unidos América Central e Caribe América do Sul	Urbano e Doméstico
<i>Aedes (Stegomyia) albopictus</i>	Sul e Centros dos Estados Unidos, México, Brasil América Espanhola	Urbano, peridoméstico periurbano
<i>Aedes (Gymnometopa) mediovittatus</i>	Cuba, Jamaica, América Espanhola, Porto Rico, Antilhas e Venezuela	Urbano peridoméstico periurbano

Figura 4 – Mosquito vetor (e com potencial vetorial) do dengue nas Américas
Fonte: Torres, 2005, p. 54.

O aspecto mais importante a ser considerado para um adequado enfoque de qualquer estratégia de controle é o conhecimento do ciclo vital da espécie, somado às considerações de caráter social que potencializam a presença de criadouros do mosquito próximo ao homem. Apesar de cada localidade apresentar uma caracterização típica dos criadouros do vetor, baseada nos costumes de seus habitantes e nas condições socioeconômicas, Forattini e Brito (2003) descrevem os principais recipientes como: caixas d'água destampadas, recipientes para o armazenamento de água (baldes, latas), vasos de planta, garrafas, lixo reciclável (sacos plásticos, embalagens em geral). Nas grandes cidades, os principais criadouros são vasos de flores, latas e resíduos sólidos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1997).

Historicamente, as campanhas para o controle do vetor têm sido numerosas e variadas. No início do século XX, Cuba tentou sua erradicação através da aplicação de óleo nos criadouros. Nos anos posteriores a Segunda Guerra o continente Americano iniciou uma campanha de erradicação, baseada na aplicação maciça de Dicloro-Difenil-Tricloroetano (DDT). Em 19 dos 23 países da América (excetuando-se Venezuela, Estados Unidos, Suriname e Bahamas), este objetivo foi alcançado. No entanto o programa foi extinto devido a insuficiência de recursos financeiros e a suspensão de várias campanhas, com a conseqüente re-infestação de todos os países. Além do mais, ficou provado que estas medidas têm efeito somente a curto prazo, devido a persistência dos criadouros do vetor (BRAGA; VALLE, 2007; DONALÍSIO; GLASSER, 2002; GOMES, 2002).

2.5 A doença

Considerada benigna até meados da década de 50 (GUBLER, 1997), o dengue pode variar suas manifestações clínicas desde casos assintomáticos, até quadros graves de febre hemorrágica do dengue, com evolução fatal, conforme pode ser visualizado na figura 5 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1997).

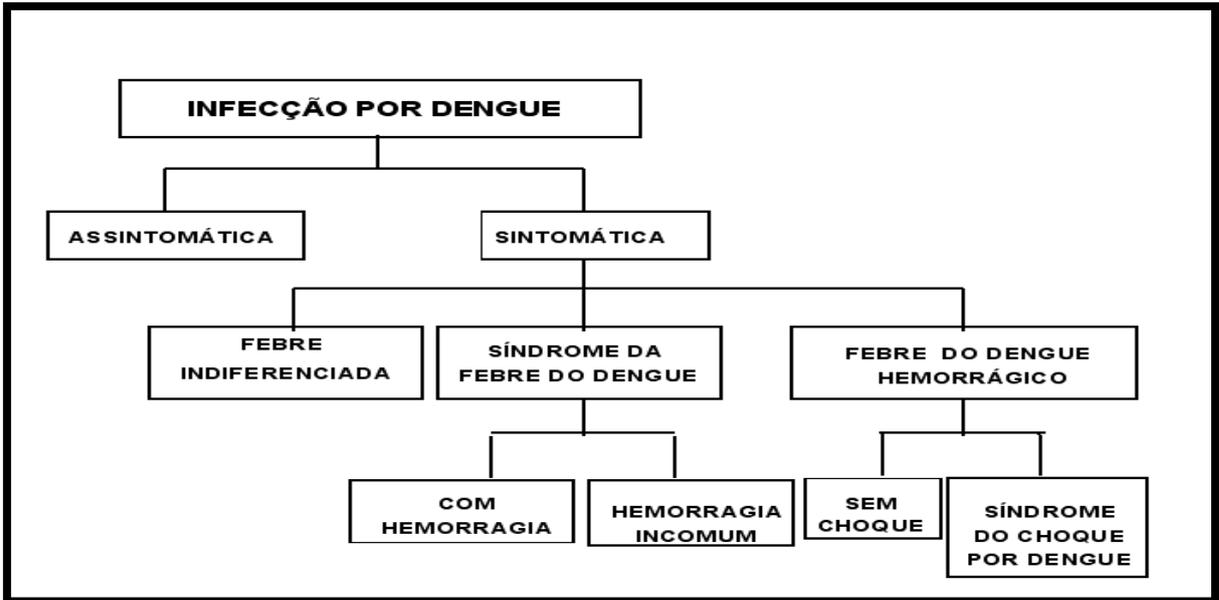


Figura 5 - Espectro das manifestações clínicas da infecção pelos vírus dengue
 Fonte: adaptado de World Health Organization, 1997, p. 12.

Autores como Dietz *et al.* (1990) e Cunha *et al.* (1995) encontraram um percentual de infecções assintomáticas variando de 29 a 56%, relacionada a fatores ambientais, individuais, vetoriais e ao próprio vírus. Segundo a Organização Mundial da Saúde a maioria dos pacientes apresenta a forma branda da doença, conhecida como dengue clássico (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1997).

2.5.1 Dengue clássico

A determinação dos sinais e sintomas da doença deu-se através de estudos experimentais, antes mesmo do isolamento e identificação do agente causal (ASHBURN; CRAIG, 1907), bem como por meio de observações durante as epidemias (RICE, 1923).

Após um período de incubação de três a catorze dias o doente apresenta subitamente febre alta, prostração, cefaléia, dor retro-orbitária, mialgia e artralgia (SILER; HALL; HITCHENS, 1926). Frequentemente ocorre dor de garganta, náuseas, vômitos, dor epigástrica e diarreia. A sensação de dor muscular predomina na região lombar e membros inferiores. A febre pode prolongar-se por três a oito dias, às vezes interrompida por período de apirexia. Quando a febre começa a regredir, podem surgir petéquias nos pés, pernas, axilas e abóbada palatina. É freqüente, neste período, o aparecimento de exantema máculo-papular ou

escarlatiniforme, na maioria das vezes a partir do tronco (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1997).

Evolutivamente alguns pacientes apresentam prurido, por vezes intenso. Manifestações hemorrágicas tais como epistaxe e gengivorragia, podem ocorrer em alguns casos, mesmo nas formas benignas da doença. Alguns casos podem evoluir com sangramentos intensos (comumente hemorragia digestiva) e choque deles decorrentes (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1997). Em outras palavras, as manifestações hemorrágicas não são exclusivas da forma grave ou do dengue hemorrágico.

Em lactentes e pré-escolares é freqüente a ocorrência de uma doença febril inespecífica, com duração curta, acompanhada de faringite, rinite e tosse branda, associada por vezes, a uma erupção maculopapular (HALSTEAD, 1984; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1997).

2.5.2 Febre hemorrágica do dengue (FHD) e síndrome do choque por dengue (SCD)

Na década de 50 surgiram as primeiras especulações da associação dos vírus dengue e as epidemias de febre hemorrágica. Em Manila (Filipinas) Hammon; Rudnick e Sather (1960) relataram uma síndrome pediátrica, geralmente fatal, ocorrendo em áreas infestadas por *Ae. aegypti* e com circulação comprovada dos quatro sorotipos virais. A “*Philippine hemorrhagic fever*” como o evento ficou conhecido, definitivamente colocou o dengue em evidência no cenário mundial.

O aumento da permeabilidade vascular, permitindo extravasamento de fluidos e proteínas (albumina principalmente) do leito vascular para o interstício e cavidades serosas caracteriza o dengue hemorrágico (HALSTEAD, 1993).

As manifestações clínicas iniciais são indistinguíveis daquelas da forma clássica (GUZMÁN; GARCIA; KOURI, 2006a). Tal como na forma clássica, podem ocorrer (ou não) manifestações hemorrágicas, eventualmente intensas. No momento em que começa a desaparecer a febre, podem surgir plaquetopenia e hemoconcentração. A plaquetopenia geralmente precede a hemoconcentração (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1997).

As hemorragias, quando ocorrem, acometem a pele, tecidos cutâneos, trato intestinal, e em geral são de pequeno volume. O baço não costuma estar palpável. O fígado está, em geral, pouco aumentado, mole e doloroso. A dor pode ser

espontânea ou provocada pela palpação. Nos adultos o choque tem pior prognóstico e é mais freqüente nos idosos, nos alérgicos, nas doenças pulmonares obstrutivas crônicas e nos cardiopatas (HALSTEAD, 1993; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1997).

O termo FHD tem sido motivo de controvérsia entre os estudiosos, uma vez que o que caracteriza o quadro é o extravasamento plasmático e não o fenômeno hemorrágico, que na maioria das vezes é de pequeno volume. Restrita ao sudeste asiático e afetando prioritariamente crianças, no pós-guerra a FHD chega ao continente americano, não apenas trazendo destaque à doença, mas também apresentando uma nova faceta, quando passa a acometer adultos.

O choque é sempre de curta duração: a reposição rápida de líquidos resulta, em poucas horas, na recuperação de quase todos os casos. Na ausência de terapêutica, a evolução para o óbito pode dar-se em menos de 24 horas, pela instalação de grave acidose metabólica e coagulação intravascular disseminada. Esta última pode agravar o choque por deflagrar sangramentos importantes, em geral gastrointestinais, que surgem como um evento final. São pouco freqüentes os sangramentos no sistema nervoso central (BRASIL, 2005a).

Ocorrendo hemoconcentração e plaquetopenia com ou sem a presença de manifestações hemorrágicas espontâneas, o paciente deverá ser considerado como acometido de FHD, categorizado de acordo com a classificação de gravidade da Organização Mundial da Saúde (1997):

- a) grau I: plaquetopenia e hemoconcentração, com ausência de sangramentos espontâneos e prova do laço positiva;
- b) grau II: plaquetopenia e hemoconcentração, com presença de sangramentos espontâneos;
- c) grau III: plaquetopenia e hemoconcentração, insuficiência circulatória (pulso filiforme, queda de 20mmHg ou mais na pressão arterial, extremidades frias e pegajosas, apreensão) e,
- d) grau IV: plaquetopenia e hemoconcentração, choque declarado, com pressão arterial zero e pulso impalpável.

Diante das dificuldades relatadas em várias regiões do mundo (BALMASEDA *et al.*, 2005; DEEN *et al.*, 2006; SETIATI *et al.*, 2007) quanto à classificação dos casos de dengue hemorrágico segundo os critérios acima, a WHO está validando uma nova classificação, através de um projeto internacional denominado DENCO

(*Dengue Control*), onde existiriam duas situações clínicas: dengue e dengue grave (TORRES, 2008). Os critérios propostos para classificação em dengue grave são: extravasamento severo de plasma, evidenciado por choque hipovolêmico ou dificuldade respiratória; hemorragias severas, segundo critérios do médico assistente; afecção de órgãos como fígado, encéfalo e coração.

2.5.3 Etiopatogenia da FHD e da SCD

A partir da confirmação de que a febre hemorrágica também era causada pelos vírus dengue, vários estudos foram conduzidos objetivando identificar o motivo pelo qual alguns indivíduos apresentam a forma hemorrágica da doença e outros não. O fato de não haver um modelo animal que reproduza clinicamente a infecção tem dificultado a compreensão da patogenia da doença, levando à formulação de hipóteses explicativas para o fenômeno (ARAÚJO, 2009).

Halstead *et al.* (1967, 1970) formularam a teoria da infecção seqüencial “*immune-enhancement theory*” a qual Kliks *et al.* (1988) reforçaram com um estudo sobre a transmissão de anticorpos maternos e formas hemorrágicas do dengue. De acordo com o postulado ocorreria a formação de imunocomplexos entre o sorotipo viral infectante e anticorpos heterólogos antidengue da classe IgG, oriundos de uma infecção prévia ou de transmissão vertical, facilitando a infecção. O reconhecimento e fagocitose desses imunocomplexos por macrófagos resultariam em uma infecção dessas células e replicação viral. Uma vez infectados os macrófagos liberariam na corrente sangüínea mediadores vasoativos, aumentando a permeabilidade vascular, ativando o sistema complemento e a tromboplastina tecidual.

E como explicar o dengue hemorrágico em primo infectados?

Somente as teorias acima não são suficientes para explicar a evolução para a forma hemorrágica apresentada por alguns indivíduos; o que remete à teoria formulada durante a epidemia de FHD/SCD em Cuba em 1981, denominada “hipótese integral”, a qual relaciona o surgimento de FHD a uma sinergia de fatores individuais, epidemiológicos e do próprio vírus (KOURI, GUZMÁN; BRAVO, 1987). A figura 6 exemplifica a teoria.

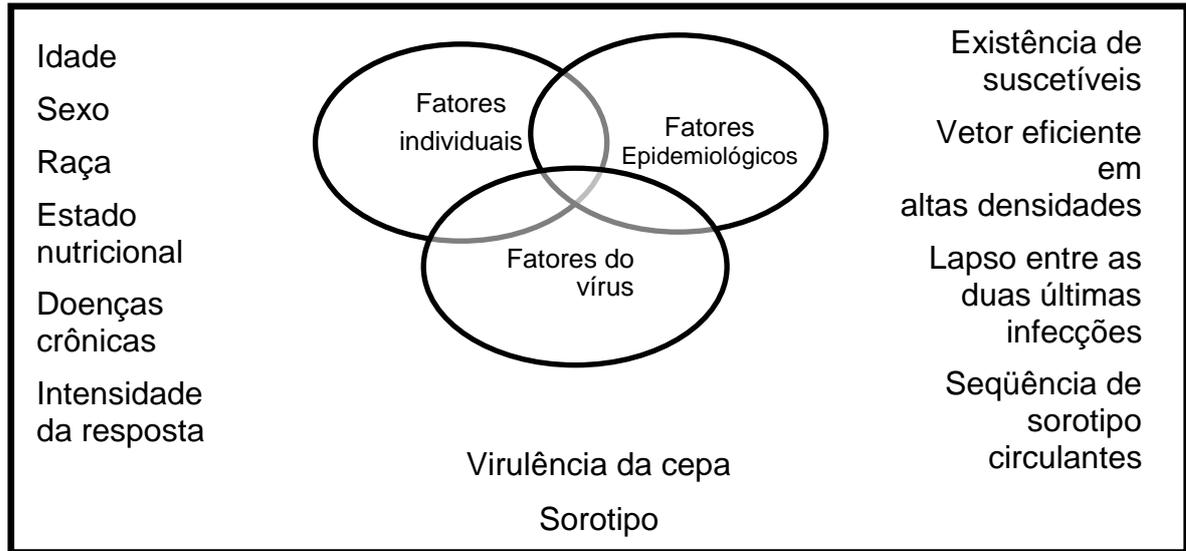


Figura 6 – Hipótese integral para o desenvolvimento da febre hemorrágica/síndrome do choque do dengue

Fonte: Torres, 2005, p. 54.

O polimorfismo genético tem sido investigado como contribuinte à patogenia das formas hemorrágicas. Polizel *et al.* (2004) relacionaram os fatores genéticos, principalmente o aumento na expressão de moléculas de HLA (*Human Leukocyte Antigen* – Antígenos Leucocitários Humanos) I e II por células infectadas e o nível de resposta imunológica contra os epítomos virais. Fernández-Mestre *et al.* (2004) descreveram que o aumento significativo do alelo TNF-308A em pacientes com dengue resultaram na elevação dos níveis de Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α) com provável aumento da permeabilidade vascular e hemorragia. Green e Rothman (2006) demonstraram o efeito patogênico do alelo HLA A24 em população do sudeste asiático com dengue.

A participação das células T CD4 e CD8 na imunopatogenia das formas graves do dengue também tem sido estudada. Evidências apontam que a ativação desses linfócitos seria maior nos pacientes graves, o que resultaria nas manifestações mais exacerbadas da doença (KURANE *et al.*, 1997). Com a replicação viral intermediada pela amplificação dependente de anticorpos (*antibody-dependent enhancement*) antígenos virais seriam apresentados por macrófagos (e outros monócitos) aos linfócitos que, ativados formariam, dentre outras ações, células de memórias altamente específicas. Na ocasião de uma nova infecção, por outro sorotipo, as células de memória sensibilizadas pela infecção prévia seriam ativadas e se proliferariam mais rapidamente que as células “naive”. No entanto,

dado sua menor afinidade ao sorotipo agora presente, não exerceriam suas funções efetoras de eliminação viral, mas teriam capacidade de produzir mediadores inflamatórios (Interferon γ e α) que agindo diretamente sobre o endotélio vascular levaria ao extravasamento de plasma (PANG; CARDOSA; GUZMÁN, 2007).

Outras células, também alvo de infecção pelos vírus dengue, que estão sendo relacionadas à imunopatologia do dengue são as células dendríticas (KURANE, 2007). Alvo primário na infecção (no seu interior ocorre a replicação viral) e quando amadurecidas e ativadas expressam moléculas da classe II do sistema HLA além de secretarem citocinas e interferon (α e γ). À medida que se deslocam para os vasos e gânglios linfáticos ocorre a apresentação dos antígenos virais aos linfócitos T (GREEN; ROTHMAN, 2006).

A classe CD4 é a primeira a ser ativada com a produção de IFN γ e interleucina 2 (IL-2), ocorrendo sua proliferação. A presença do IFN- γ “desvia” a resposta imunológica para o tipo 1 (T_H1) e os linfócitos ativados apresentam, principalmente, atividade não-citolítica para com as células infectadas pelos DENV, podendo, no entanto, causar citólise mediante o uso de perforinas ou moléculas Faz (GREEN; ROTHMAN, 2006). As citocinas produzidas pelas células T atuam diretamente sobre o endotélio vascular, assim como o TNF α e γ . O sistema complemento ativado pela presença dos imunocomplexos liberaria anafilatoxinas (C3a, C5a) que em conjunto, causariam o extravasamento plasmático, evento caracterizador da FHD.

2.5.4 Manifestações clínicas não usuais

No Brasil, a partir da introdução do DENV 3 (NOGUEIRA *et al.*, 2001), que passou a circular isolado ou concomitante com os sorotipos 1 e 2, têm sido reportadas muitas complicações afetando os mais diversos sistemas, com destaque para as afecções do sistema nervoso central (FERREIRA *et al.*, 2005; SANTOS *et al.*, 2004; SOUZA *et al.*, 2005), cárdio-vascular (VELOSO *et al.*, 2003) e do sistema gastrointestinal (MIRANDA; MIRANDA; ROLLAND, 2003; SOUZA *et al.*, 2002; SOUZA *et al.*, 2004; UEHARA *et al.*, 2006).

2.6 Diagnóstico laboratorial e diferencial

Em decorrência das doenças que cursam com uma sintomatologia semelhante ao dengue, seu diagnóstico não deve ser definido somente em bases clínicas. Para tanto, existem técnicas laboratoriais que visam a detecção do vírus (isolamento viral), do material genético (*Reverse Transcriptase-Polimerase Chain Reaction* RT-PCR), dos anticorpos IgG e IgM (ensaio imunoenzimáticos) e dos antígenos do vírus (imunohistoquímica, NS1), conforme figura 7.

Mesmo com essa variedade de técnicas disponíveis para o diagnóstico específico da infecção por dengue, em alguns casos, principalmente na condução de estudos epidemiológicos, torna-se necessário a realização de diagnóstico diferencial, daquelas patologias semelhantes, sintomatologicamente, ao dengue. Destaca-se, entre essas, a febre chikungunya, rubéola e toxoplasmose.

Espécime	Tempo de doença	Teste	Interpretação
Soro agudo	<7 dias	Isolamento RT-PCR	Se positivo confirma o diagnóstico e identifica o vírus infectante
		NS1	Se positivo confirma o diagnóstico. Detecta antígenos até a primeira semana de infecção
Soro convalescente	14-30 dias	MAC-ELISA	Se positivo, infecção atual ou recente. Poderá ser positivo por até 90 dias
		G-ELISA	Títulos ≥ 160 até 5 ^o dia ou Títulos ≥ 160.000 até o 10 ^o dia indicam infecção secundária
		IH	≥ 2560 indicam infecção secundária
Tecidos e LCR	A qualquer tempo	Isolamento RT-PCR	Se positivo, confirma o sorotipo envolvido
Tecidos fixados	A qualquer tempo	Imunohistoquímica	Se positivo, confirma o diagnóstico

Figura 7 – Espécime biológico, evolução da doença, técnica laboratorial recomendada e interpretação de resultados, no diagnóstico do dengue

Apesar de restrito ao sudeste da Ásia, o vírus chikungunya, pertencente ao gênero *Alphavirus*, família *Togaviridae*, vem se comportando como uma doença emergente naquele continente, sendo relatados vários surtos a partir de 1985 (REGIONAL OFFICE for SOUTH-EAST ASIA, 2008). Por ser transmitido por

artrópodes do gênero *Aedes*, sua circulação no continente americano é factível. Cursa com sintomatologia muito semelhante ao dengue, destacando-se apenas pela maior intensidade da artralgia, sendo, na vigência de uma epidemia por dengue, impraticável a distinção dengue/ chikungunya pelo exame clínico.

Outro agravo que merece destaque é a rubéola, causada por um vírus do gênero *Rubivirus*, família *Togaviridae*, cujo sintoma característico é o exantema, também presente nas infecções por dengue, que nesta última acometem até metade dos pacientes (BRITO; LUCENA-SILVA; GOMES, 2007). Apesar de ser uma doença imunoprevenível, com vacina disponível em todo território nacional, vários surtos tem sido relatados (BRASIL, 2005b) e, os casos com exantema, não reagentes para dengue, deveriam ser investigados para rubéola.

Dado sua prevalência na população geral e a ocorrência de febre durante a infecção, a toxoplasmose (uma zoonose causada pelo *Toxoplasma gondii*), que tem uma incidência estimada em até 22,5% para os Estados Unidos (JONES *et al.*, 2001) e uma prevalência, para o Brasil, de 40 a 80% (FRANCISCO *et al.*, 2006), deve constar entre as patologias pesquisadas durante diagnóstico diferencial. Poucos estudos têm sido publicados abordando a prevalência de toxoplasmose entre suspeitos de dengue.

2.6.1 Principais técnicas laboratoriais

O isolamento dos vírus dengue é considerado o “padrão ouro” para diagnóstico da infecção, bem como para a identificação do sorotipo envolvido (SHU; HUANG, 2004). Após o desenvolvimento da técnica de inoculação em mosquitos, larvas ou culturas de células, tornou-se mais fácil a execução do isolamento, com a conseqüente difusão do mesmo.

A técnica consiste na inoculação do espécime biológico numa cultura de células, tanto de mosquitos quanto de mamíferos e a posterior identificação do sorotipo viral (anticorpos monoclonais sorotipo específicos) através de Reação de Imunofluorescência Indireta – RIF (IGARASHI, 1978). No Brasil, a técnica mais utilizada é a inoculação em culturas de células de mosquito - *Aedes albopictus* clone C6/36; *Aedes pseudoscutellaris* clone AP-61 e *Toxorhynchitesamboinenses* clone TRA-284 – devido sua maior sensibilidade ao isolamento (NOGUEIRA *et al.*, 1988).

Tendo em vista a baixa sensibilidade da técnica de isolamento viral e do período de tempo necessário à sua realização, os métodos moleculares para detecção de material genético dos vírus dengue (RT-PCR) vem ganhando adeptos como método preferencial à identificação do vírus (CUNHA, 1997; SHU; HUANG, 2004; TANAKA, 1993).

Lanciotti *et al.* (1992) desenvolveram um protocolo (*Nested* RT-PCR) que foi bastante difundido entre os laboratórios que realizam diagnóstico molecular. Esta técnica consiste em duas etapas de PCR: a primeira, usando *primers* consenso aos quatro sorotipos, amplifica-se uma região do genoma viral (C-prM), posteriormente, amplificam-se regiões específicas de cada sorotipo. Os produtos das reações são revelados utilizando-se eletroforese em gel de agarose e as bandas presentes são comparadas com um peso molecular conhecido, de onde se identifica o sorotipo viral (LANCIOTTI *et al.*, 1992). Outros protocolos têm sido testados, como o *real-time* RT-PCR, onde a amplificação das regiões-alvo é “visualizada” em tempo real, permitindo a determinação da carga viral (BUCHY *et al.*, 2006).

Considerando-se a baixa sensibilidade do isolamento viral e dos custos envolvidos nas técnicas moleculares, os métodos sorológicos para detecção de anticorpos e antígenos têm se mostrado úteis no diagnóstico das infecções por dengue, dado seu baixo custo e simplicidade metodológica.

Existem várias técnicas para a detecção de anticorpos antidengue, algumas pouco utilizadas atualmente, como os testes de neutralização por redução de placas, a fixação de complemento e a neutralização. A inibição da hemaglutinação (CLARKE; CASALS, 1958) utilizada para caracterizar o padrão de resposta sorológica em primária ou secundária tem sido utilizada em estudos soroepidemiológicos. Entretanto, com o aprimoramento dos ensaios imunoenzimáticos (ELISA) para detecção da imunoglobulina G, esta técnica também tende a ser substituída.

Devida sua praticidade e sensibilidade os métodos imunoenzimáticos têm sido utilizados em larga escala para diagnóstico do dengue. Visando à detecção tanto de antígenos (NS1) quanto de anticorpos (IgG e IgM) estes ensaios tem se mostrado extremamente úteis para o diagnóstico individual da infecção, bem como para a realização de estudos epidemiológicos.

É recente a detecção, por ensaio imunoenzimático, do antígeno NS1 (Proteína Não-estrutural) do DENV (BUCHY *et al.*, 2006). Esta proteína, ao que

parece, é essencial à replicação e maturação viral (CHAMBERS *et al.*, 1990), podendo ser detectada entre um até seis dias após a infecção. A vantagem da detecção de NS1 está no fato dessa proteína ser detectável antes do aparecimento de anticorpos (sejam eles da classe IgG ou IgM), o que permite a confirmação do diagnóstico ainda durante a sintomatologia (BUCHY *et al.*, 2006).

O ensaio imunoenzimático que captura imunoglobulina M – MAC-ELISA (KUNO; GUBLER; WEIL, 1985) tem sido o método de escolha para diagnóstico da fase aguda da infecção. O Programa Nacional de Controle da Dengue – PNCD, (BRASIL, 2001b), privilegia o método como um dos critérios de confirmação de caso positivo para a doença. A técnica consiste na utilização de placas revestidas com anticorpos específicos para a cadeia M da imunoglobulina M. Imunoglobulina M presentes no soro é “capturada” e após a adição de uma mistura de antígenos do vírus dengue, a reação antígeno-anticorpo é revelada pela adição da enzima peroxidase. Com a adição do substrato, a reação enzima-substrato resulta em um produto colorido, cuja absorbância é diretamente proporcional à quantidade de anticorpos presentes na amostra testada.

Decorrente das limitações do MAC-ELISA no diagnóstico das infecções por dengue, dentre elas a impossibilidade de classificação da infecção em primária ou secundária foram desenvolvidos ELISA para detecção de imunoglobulina G, que têm se mostrado um método confiável para determinação de infecções prévias (MIAGOSTOVICH *et al.*, 1999) pelos vírus dengue. A técnica G ELISA desenvolvida pelos autores supra-citados estabelece como infecção secundária os resultados que apresentem: < 5 dias de infecção e titulação $\geq 1:160$; 6 a 9 dias de infecção e titulação $\geq 1:10240$; 10 a 15 dias de infecção e titulação $\geq 1:163000$. Quanto ao método, trata-se de um ELISA do tipo detecção.

Nos casos fatais, com impossibilidade de obtenção de amostras de sangue ou líquido para o diagnóstico da infecção, podem ser usados tecidos fixados – fígado, pulmões, timo, linfonodos, pele, baço, medula óssea - obtidos a qualquer tempo da suspeita de infecção (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1997). A técnica de imunohistoquímica vem sendo empregada com resultados satisfatórios nessas situações, sendo possível detecção de antígenos, até mesmo décadas após o evento (MIAGOSTOVICH *et al.*, 1997). Simplificadamente, os antígenos presentes no tecido fixado são marcados com anticorpos fluorescentes, são adicionadas imunoperoxidasas com avidina-biotina, que tornam visíveis esses antígenos.

2.7 O sistema de vigilância do dengue no Brasil

O dengue é uma doença de notificação compulsória - Portaria GM MS 05 de 21 de fevereiro de 2006 (BRASIL, 2006) - e todo caso suspeito e/ou confirmado deve ser comunicado ao Serviço de Vigilância Epidemiológica (SVE). Este, por sua vez, informa imediatamente, a ocorrência para a equipe de controle vetorial local, que adota as medidas necessárias para o combate do vetor (BRASIL, 2001a).

O Ministério da Saúde (BRASIL, 2005b) propõe que a vigilância do dengue tenha como objetivos:

- a) evitar a ocorrência das infecções pelo vírus do dengue em áreas livres de circulação;
- b) detectar precocemente as epidemias;
- c) controlar as epidemias em curso;
- d) reduzir o risco de transmissão do dengue nas áreas endêmicas e,
- e) reduzir a letalidade de FHD/SCD, mediante diagnóstico precoce e tratamento oportuno e adequado.

A fim de atingir estes objetivos e levando em consideração que o município de Dourados é infestado por *Ae. aegypti* e área de transmissão endêmico/epidêmica de dengue (BRASIL, 2005b) seu SVE adota o modelo de vigilância passivo, no qual os serviços de saúde informam ao SVE a ocorrência de casos suspeitos e/ou confirmados, a partir dos quais são desencadeadas as medidas de controle.

2.8 Período interepidêmico e vigilância sentinela

Segundo Corrêa e França (2007), Gubler (1989), Guzmán, Garcia e Kouri (2006a), Marzochi (2004) e Rigau-Pérez e Clark (2005), no período interepidêmico, o SVE deve realizar a vigilância sentinela, definindo o critério de caso conforme sua realidade epidemiológica e atentando para os sinais de alerta do início da epidemia.

Não existe um conceito unânime de “período interepidêmico” para o dengue. Segundo o que propõe Marzochi (2004), este seria caracterizado pela diminuição na incidência de casos, suficiente, no entanto, para manter a transmissão viral.

Gubler (1989) propõe que o estabelecimento de um “período interepidêmico” ocorre após a entrada de um novo sorotipo numa população sem história de exposição prévia a este sorotipo, produzindo, nos primeiros três anos, epidemias

que, com a formação de imunidade de grupo, resultariam na circulação endêmica do dengue, com o registro de poucos casos e mudanças nas manifestações clínicas, levando os profissionais de saúde a não mais reconhecer a doença.

Assim, a vigilância sentinela consiste na busca sistemática de casos suspeitos ou semelhantes a uma dada doença ou agravo, ao longo de um período de tempo, onde a ocorrência esperada diminui exponencialmente em relação aos períodos epidêmicos.

São escassos os estudos sobre dengue em período interepidêmico. Na figura 8 estão relacionados os estudos referenciados na presente revisão.

Autor	Localidade	Descrição
GUBLER, 1989	Porto Rico	Uso de amostras sangüíneas de todos os casos suspeitos do país para isolamento viral. Cinco anos de coleta.
RIGAU-PÉREZ <i>et al.</i> , 2001	Porto Rico	Sistema de vigilância ativa de dengue, com análise sorológica, virológica e molecular de todas as coletas de suspeitos de dengue, entre 1995 a 1997. Total de 18.529 amostras
ESPINOZA-GÓMEZ <i>et al.</i> , 2003	Colima, México	Estudo longitudinal, com 245 participantes, por sete meses, entre 2001 e 2002.
CAMACHO <i>et al.</i> , 2003	Aragua/Venezuela	Uso de 547 amostras de suspeitos de dengue, entre out. de 1997 e dez. de 1998, para técnicas sorológicas e moleculares.
FIGUEIREDO <i>et al.</i> , 2004	Manaus/ AM	Vigilância ativa de síndromes febris, que inclui o diagnóstico de dengue, rubéola, sarampo, parvovirose, marayo e oropouche, de 8.557 amostras sangüíneas de todo o estado do Amazonas, entre mar. De 98 e dez. de 99.
CAMPAGNA <i>et al.</i> , 2006	Campo Grande/ MS	Diagnostico laboratorial de crianças com exantema atendidas no pronto-socorro de um hospital universitário. 71 coletas realizadas entre set. de 2001 e set. de 2002.

Figura 8 – Metodologia dos estudos sobre dengue na interepidemia

2.9 A epidemia de dengue em Dourados/MS, 2007

O serviço de vigilância epidemiológica da Secretaria de Saúde de Dourados registrou, no ano de 2007, a maior epidemia de dengue no município (DOURADOS, 2008). Foram notificados 4.548 casos, sendo estimada uma incidência de 302,0/10.000 hab. (figura 9).

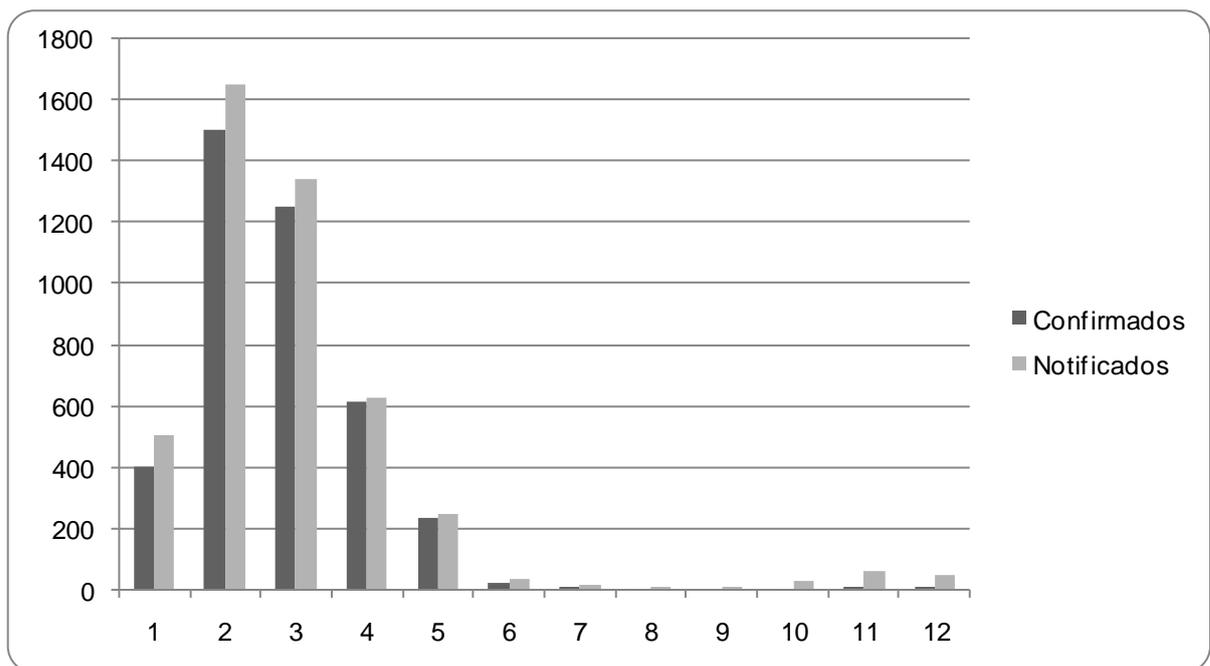


Figura 9 – Casos confirmados e notificados de dengue, Dourados/MS, 2007
Fonte: Dourados, 2008.

O sorotipo isolado foi o DENV 3, não sendo identificado(s) o(s) genótipo(s). Os casos concentraram-se no primeiro quadrimestre (jan./abr.), onde se observaram condições ambientais favoráveis (temperatura entre 20 e 40° C, umidade relativa do ar moderada ou alta e pluviosidade média elevada) ao desenvolvimento e manutenção do vetor no ambiente. O índice de infestação predial médio foi de 0,42%.

Na tabela 1, observa-se a caracterização dos casos confirmados de dengue em 2007, na qual ocorreu o predomínio do sexo feminino e da raça branca, com uma concentração dos casos nas idades de 20 a 49 anos.

Tabela 1 – Casos confirmados de dengue, segundo sexo, raça/cor e idade, durante a epidemia de 2007, Dourados/MS (n= 3.886)

Variáveis	Casos confirmados dengue		
	nº	%	IC _{95%}
Sexo			
Feminino	2333	60,1	58,5-61,6
Masculino	1553	39,9	38,4-41,5
Raça/cor			
branca	2850	73,3	71,9-74,6
parda	770	19,8	18,6-21,1
negra	177	4,6	3,9-5,2
amarela	71	1,8	1,4-2,2
indígena	18	0,5	0,2-0,7
Faixa Etária			
≤ 14 anos	540	13,9	12,8-15,0
15 a 19 anos	373	9,6	8,7-10,5
20 a 29 anos	892	23,0	21,6-24,3
30 a 39 anos	684	17,6	16,4-18,8
40 a 49 anos	617	15,9	14,7-17,0
50 a 59 anos	415	10,7	9,7-11,7
60 a 69 anos	218	5,6	4,9-6,3
≥ 70 anos	147	3,7	3,2-4,4

Fonte: Dourados, 2008.

A maioria dos casos apresentou sintomatologia clássica de dengue: febre, seguida de dois ou mais sintomas, no caso, cefaléia e mialgia (tabela 2). Ocorreram 472 internações (12,1%) e três óbitos. No tocante ao espectro clínico, foram registrados sete casos de FHD e dois de SCD, com letalidade de 42,9%.

Tabela 2 – Casos confirmados de dengue, segundo manifestações clínicas, Dourados/MS, 2007 (n=3.886)

Sinais e Sintomas	Casos confirmados dengue		
	nº	%	IC _{95%}
Febre	3834	98,7	98,3-99,0
Cefaléia	3749	96,5	95,9-97,1
Mialgia	3610	92,9	92,1-93,7
Dor retro-orbitária	3376	86,9	85,8-87,9
Artralgia	3301	84,9	83,8-86,1
Prostração	3062	78,8	77,5-80,1
Náusea	2834	72,9	71,5-74,3
Exantema	1324	34,1	32,6-35,6
Diarréia	1129	29,1	27,6-30,5
Sangramento	303	7,8	07,0-08,6

Fonte: Dourados, 2008.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Caracterizar a dinâmica de circulação dos vírus dengue no município de Dourados, no período de janeiro a dezembro de 2008.

3.2 Objetivos específicos

Para a consecução do objetivo geral foram estabelecidos como objetivos específicos:

- a) descrever a epidemiologia dos casos sentinela em Dourados, comparando essas características nos períodos epidêmico e inter-epidêmico;
- b) analisar a relação e sua significância entre casos sentinela e infestação predial, índice de umidade, índice pluviométrico e temperatura média;
- c) identificar a frequência das manifestações clínicas apresentadas pelos pacientes atendidos nas unidades sentinela;
- d) estimar a incidência, através de métodos sorológicos, da infecção pelos vírus dengue; e,
- e) realizar diagnóstico diferencial de dengue.

4 METODOLOGIA

4.1 Tipo de estudo

Realizou-se um estudo descritivo, transversal em dois tempos: o primeiro na fase aguda e, o segundo, na convalescença, sem seguimento.

4.2 Área de estudo

O município de Dourados está situado no centro sul do Estado de Mato Grosso do Sul, a 224 quilômetros da capital Campo Grande. Tem uma área de 4.086 km² e, além do quadrilátero central, abrange mais de 250 bairros, oito distritos e duas reservas indígenas. No ano de 2008 a estimativa populacional para o município era de 187.601 habitantes, segundo dados do IBGE.

Possuía, em 2008, 34 Estratégias de Saúde da Família (ESF) sendo 29 na área urbana e cinco na rural, quatro Unidades de Saúde, seis Unidades de Referência e oito Hospitais (destes quatro conveniados ao Sistema Único de Saúde).

Para o presente estudo, foram selecionadas quatro Equipes de Saúde da Família, situadas, respectivamente, nos pontos cardeais da cidade: Norte (ESF 42), Sul (ESF 29), Leste (ESF 22) e Oeste (ESF 16), definidas como unidades sentinela para dengue, visando detectar a circulação viral em todo o perímetro urbano (figura 10).

A escolha das unidades foi intencional, tendo como parâmetros a localização geográfica da unidade em relação ao perímetro urbano, a regularidade na alimentação dos sistemas de informação da secretaria de saúde do município e, o empenho da equipe com o desenvolvimento da vigilância pró-ativa para o dengue.

4.3 Sujeitos da pesquisa

Foi convidado a participar do estudo todo usuário das ESF supra citadas que se enquadrava na definição de caso sentinela e que concordou em submeter-se a duas coletas de sangue (14 mL cada) além de responder a uma ficha de investigação epidemiológica para dengue modificada.

Para a presente casuística caso sentinela constitui-se de todo indivíduo, independente de idade e sexo, que apresentou febre e/ou exantema, no ato da consulta, sem foco infeccioso aparente. Esta definição de caso sentinela difere da definição de caso suspeito de dengue (BRASIL, 2005b), na qual o indivíduo deve apresentar febre, e dois ou mais sintomas (cefaléia, dor retro-orbitária, mialgia, artralgia, exantema).

Foi utilizada uma amostra não probabilística, por conveniência, perfazendo o total de 69 indivíduos, dentre os 14.756 abrangidos pelas ESF sentinela.

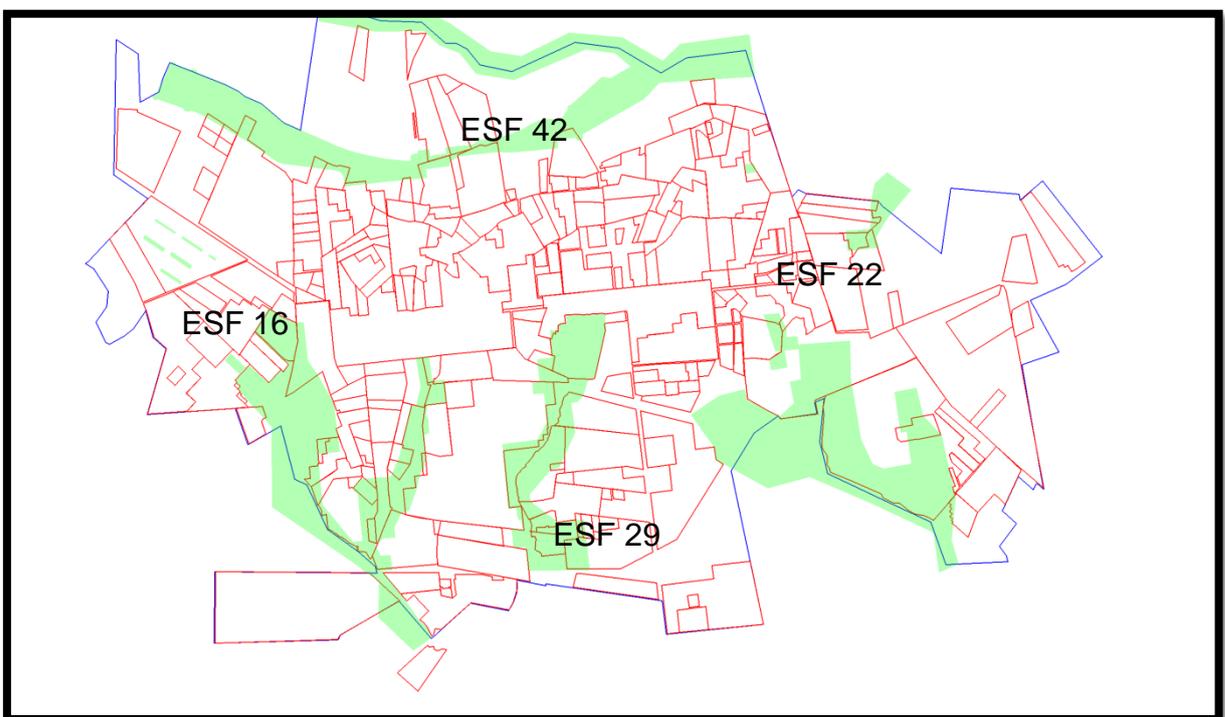


Figura 10 – Mapa do perímetro urbano de Dourados/MS, mostrando as Estratégias de Saúde da Família, definidas como sentinela

Fonte: Dourados, 2009.

4.4 Entrevista, coleta de material biológico e obtenção de dados secundários

O material da pesquisa (entrevista e amostras biológicas) foi coletado por profissionais de enfermagem das ESF, os quais receberam treinamento específico para este fim, com vistas à padronização dos procedimentos.

Realizou-se uma entrevista estruturada, com modelo adaptado de ficha de investigação epidemiológica para dengue, do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Anexo A), com informações socioeconômicas, história de patologias similares prévias, da doença atual e do local da provável infecção.

Após a entrevista foram obtidas duas amostras de sangue venoso (4 mL de sangue com EDTA e 10 mL sem anticoagulante) por meio de punção periférica, utilizando agulha hipodérmica multiuso e tubos *Vacuttainer*®. Após dez dias o mesmo procedimento de coleta de sangue foi repetido. Durante as coletas as amostras foram acondicionadas em embalagens de isopor e mantidas em repouso.

Tanto as entrevistas quanto as coletas de sangue foram realizadas no período de janeiro a dezembro de 2008.

Os dados secundários (populacionais e epidemiológicos) foram obtidos dos sistemas de informação da secretaria municipal de saúde do município: população das unidades sentinela – Sistema de Informação da Atenção Básica (SIAB); infestação predial – Sistema de Informação da Febre Amarela e Dengue (SIS FAD); série histórica de casos notificados e confirmados de dengue – Sistema de informação de Agravos de Notificação (SINAN). As informações referentes a temperatura média, umidade relativa do ar e precipitação pluvial foram originárias da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Oeste – EMBRAPA (2009).

4.5 Organização dos dados e processamento do material biológico

Os dados referentes às entrevistas e coletas foram registrados em formulário elaborado especificamente para este fim no *software Excel*® (MICROSOFT, 2007).

Em relação aos espécimes biológicos, ao término das coletas as amostras eram transportadas para o Serviço de Vigilância Epidemiológica da Secretaria Municipal de Saúde de Dourados. O sangue com EDTA foi congelado a -20°C . O sangue sem anticoagulante foi centrifugado à velocidade de 3.000 rotações por 10 minutos em temperatura ambiente. O sobrenadante (soro) obtido foi separado em 4 alíquotas, em criotubos previamente identificados com o número do registro e data da coleta, e destinados conforme figura 11.

O Laboratório Central de Mato Grosso do Sul (LACEN/MS) realizou isolamento viral para o dengue (segundo IGARASHI, 1978) nas amostras coletadas com período inferior a cinco dias de manifestações clínicas e pesquisa de anticorpos IgM anti-dengue nas amostras com mais de seis dias de manifestações. A pesquisa sorológica foi efetuada utilizando a metodologia ELISA de captura de imunoglobulina M (MAC-ELISA) de acordo com Kuno, Gómez e Gubler (1987).

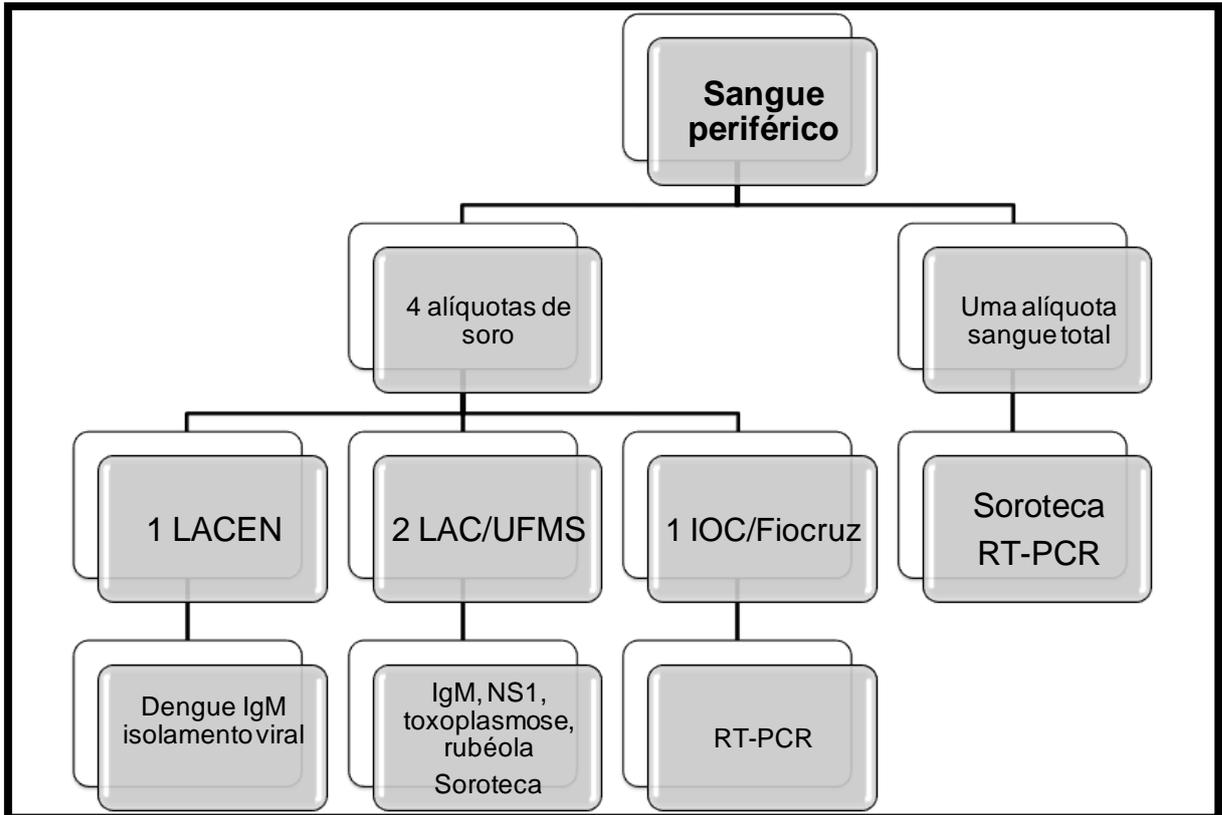


Figura 11 – Fluxograma das amostras coletadas durante o estudo

No Laboratório de Imunologia Clínica do Departamento de Farmácia Bioquímica da UFMS as amostras foram submetidas a testes sorológicos para dengue, rubéola e toxoplasmose.

Inicialmente, as amostras foram retestadas para a detecção de anticorpos IgM antidengue através de kit comercial (Panbio dengue IgM Capture ELISA[®]). A seguir, todas as amostras de primeira coleta foram testadas para detecção de antígenos NS1 de dengue (pan-E Dengue Early ELISA[®]).

As amostras não reagentes para os marcadores sorológicos da infecção aguda pelos vírus dengue foram testadas para detecção dos marcadores sorológicos para rubéola e toxoplasmose utilizando testes comerciais de ELISA para a detecção de anticorpos IgM e IgG (Bioelisa[®]).

O sangue total com EDTA e a alíquota 4 serão encaminhados ao Laboratório de Flavivirus – Instituto Oswaldo Cruz/Fundação Oswaldo Cruz (IOC/FIOCRUZ) para futuras análises moleculares.

4.6 Processamento e análise estatística dos dados

Realizou-se a análise descritiva dos dados coletados (frequência com os respectivos intervalos de confiança de 95%). A fim verificar possíveis associações entre as variáveis de estudo foi utilizado o teste qui-quadrado (χ^2) para as variáveis categóricas e correlação de Pearson para as numéricas, ao nível de significância de 5%. Foram utilizados os *softwares Epi Info™ version 3.5.1* (CENTERS FOR DISEASES END CONTROL, 2008) e *BioEstat 4.0* (AYRES *et al.*, 2005) para as respectivas análises.

4.7 Considerações éticas

Seguindo as determinações da Resolução 196/96 (BRASIL, 2003) todos os pacientes convidados a participarem do estudo leram, concordaram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), autorizando a coleta de sangue, de dados clínicos e epidemiológicos, bem como a realização de testes sorológicos (excetuando-se HIV) e o armazenamento das amostras, por até cinco anos, para futuras investigações.

No TCLE encontram-se as informações referentes à pesquisa e ao pesquisador, bem como em relação aos direitos, riscos e benefícios, a garantia do sigilo das informações e do anonimato dos participantes.

O presente estudo foi encaminhado ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, recebendo parecer favorável - Protocolo nº 1144/2008 (Anexo B).

Todos os resultados laboratoriais foram entregues aos participantes da pesquisa.

5 RESULTADOS

Durante o ano de 2008 foram notificados ao serviço de vigilância epidemiológica da secretaria de saúde de Dourados/MS 233 casos suspeitos de dengue, resultando em 32 casos confirmados da doença, com uma incidência de 1,7/10.000 habitantes, coeficiente este 99,4% menor que o registrado durante a última epidemia (302,0/10.000), caracterizando o ano de estudo como interepidêmico.

Foram realizadas 93 coletas nos casos sentinela durante o estudo, sendo 69 na vigência dos sintomas (primeira coleta) e 24 na convalescença (segunda coleta) - figura 12.

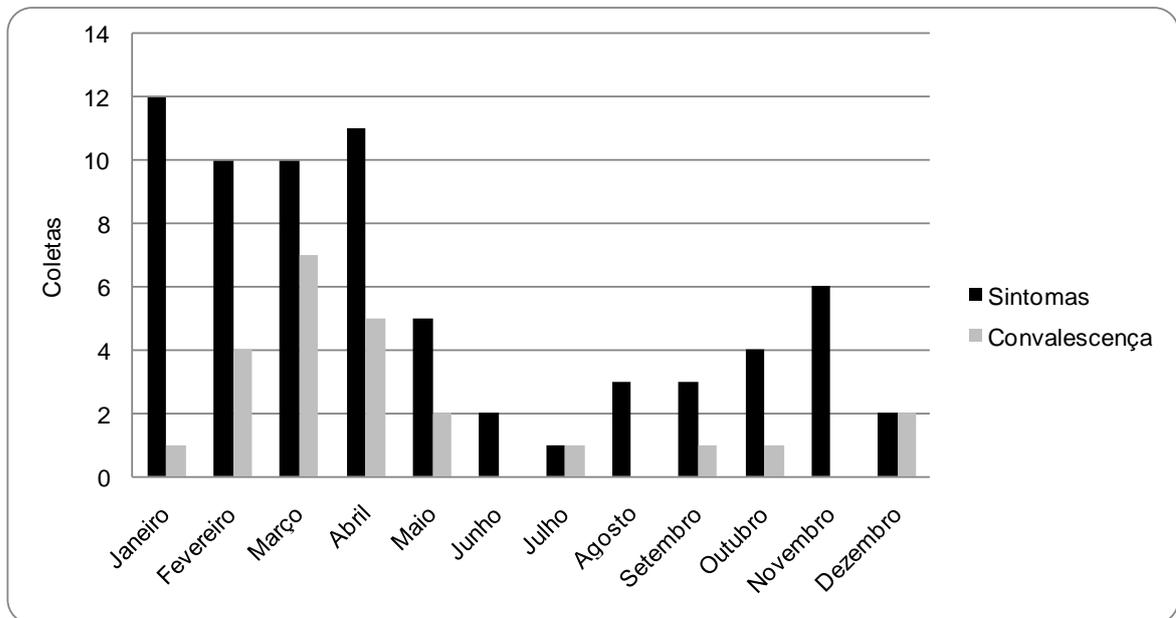


Figura 12 – Número de coletas mensais das unidades sentinela, Dourados/MS, 2008

Os meses com maior número de primeira coleta foram (em ordem decrescente) janeiro, abril, fevereiro, março e novembro, abrangendo 71% da população do estudo.

Na figura 13 observa-se a variação das coletas ao longo do ano baseando-se na projeção de casos esperados por mês, com um intervalo de confiança de 95%. Excetuando-se março e maio, a vigilância sentinela manteve-se dentro dos limites estimados de casos. A estimativa de casos foi construída com base numa série histórica de dez anos (1998-2008), da qual se excluíram os anos epidêmicos

(2002/2003 e 2006/2007), sendo calculados os limites superiores e inferiores de casos esperados por mês (comando “estimação de parâmetros da média” *software BioEstat 4.0*).

Na distribuição espacial dos casos sentinela, 42,1% foram registrados na ESF 22 (área leste); seguido da ESF 16 (área oeste) com 36,2% de registro; ESF 29 (área sul) com 13,0% e ESF 42 (área norte) com 8,7%.

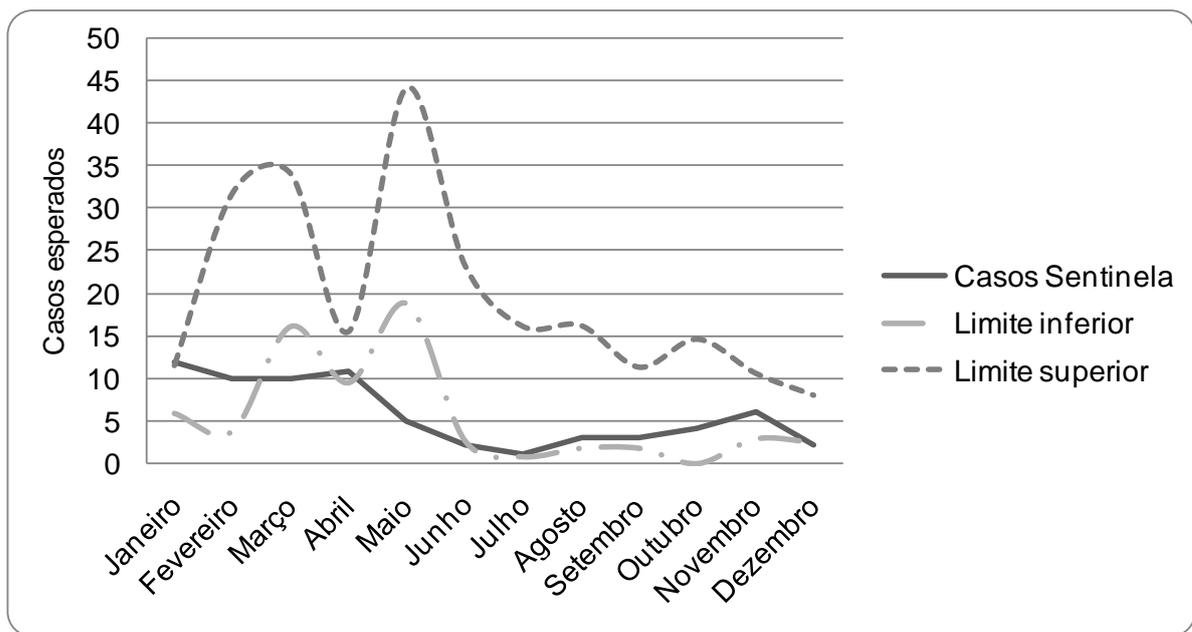


Figura 13 – Variação mensal das coletas sentinelas e estimativa de ocorrência de casos de dengue, Dourados/MS, 2008

Os casos sentinela não mostraram predomínio com relação a sexo (tabela 3). A raça branca destacou-se com 79,7%. Observa-se a concentração dos casos nas idades entre 20 a 49 anos (59,4%), no entanto estão inclusas no estudo idades variando de 2 a 75 anos (média 31,6, DP 18,1).

Quando analisada a correlação entre a notificação dos casos sentinela e os macrodeterminantes (temperatura, umidade relativa do ar, pluviosidade, infestação predial e índice de pendência) observa-se positividade apenas entre casos e umidade do ar ($r 0,71$ $p < 0,05$) e pluviosidade ($r 0,76$ $p < 0,05$), apesar de estes indicadores manterem-se inalterados durante a última epidemia (2007) e o ano de estudo (interepidemia).

No primeiro quadrimestre, que corresponde ao verão no município, registrou-se o maior número de casos sentinela, com um discreto aumento nos dois últimos meses do ano (figura 14).

Tabela 3 – Casos sentinela de dengue, segundo sexo, raça/cor e idade em faixas etárias, Dourados/MS, 2008 (n=69)

Variáveis	Casos Sentinela		
	nº	%	IC _{95%}
Sexo			
masculino	35	50,7	38,4-63,0
feminino	34	49,3	37,0-61,6
Raça/cor			
branca	55	79,7	68,3-88,4
parda	8	11,6	5,1-21,6
negra	4	5,8	1,6-14,2
indígena	2	2,9	0,4-10,1
Faixa etária			
< 5 anos	4	5,8	1,6-14,2
6 a 9 anos	7	10,1	4,2-19,8
10 a 19 anos	7	10,1	4,2-19,8
20 a 29 anos	15	21,7	12,7-33,3
30 a 39 anos	14	20,3	11,6-31,7
40 a 49 anos	12	17,4	9,3-28,4
50 a 59 anos	5	7,3	2,4-16,1
60 a 69 anos	3	4,4	0,9-12,2
> 70 anos	2	2,9	0,4-10,1

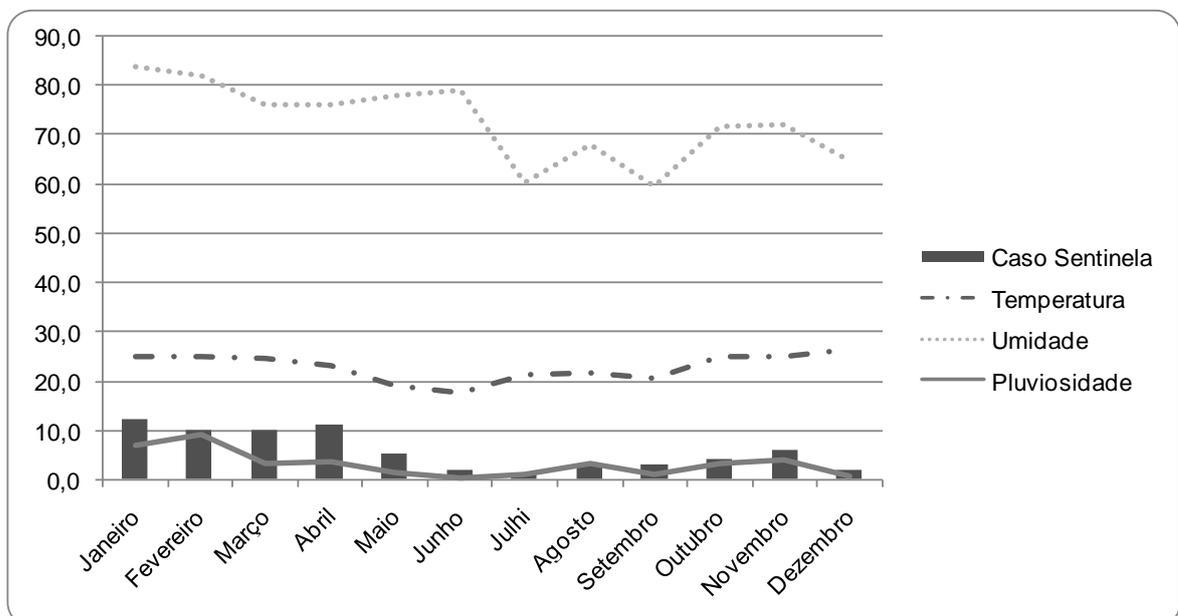


Figura 14 – Correlação entre registro dos casos sentinela de dengue e fatores ambientais, Dourados/MS, 2008

A maioria dos casos sentinela apresentava a sintomatologia clássica dengue: febre (95,7%), cefaléia (91,3%) e mialgia (82,6%). A febre teve duração média de

três dias, variando de um a 13 dias a ocorrência. Foram registrados três casos com sangramento (epistaxe, gengivorragia e gastrointestinal) conforme pode ser visualizado na tabela 4. Não ocorreram internações e/ou complicações e todos os casos evoluíram para a cura.

Tabela 4 – Casos sentinela de dengue, segundo sinais e sintomas, Dourados/MS, 2008 (n=69)

Sinais e sintomas	Casos Sentinela		
	nº	%	IC _{95%}
Febre	66	95,7	87,8-99,1
Cefaléia	63	91,3	84,7-98,0
Mialgia	57	82,6	73,7-91,6
Dor retroorbitária	45	65,3	54,0-76,5
Artralgia	44	63,8	52,4-75,1
Prostração	43	62,4	50,9-73,8
Náusea/vômito	42	60,9	49,4-72,4
Diarréia	13	18,9	9,6-28,1
Exantema	9	13,1	5,1-21,0
Sangramentos	3	4,3	0,9-12,2

A ocorrência prévia de dengue foi registrada em 29% dos casos sentinela, sendo referidas duas em 1996, uma em 2002, uma em 2003, três em 2005, cinco em 2006 e oito em 2007. Não foi encontrada relação entre dengue prévia e sangramento ($p>0,5$).

Dos 69 casos sentinela incluídos no estudo, seis (8,7%) foram diagnosticados como dengue agudo (tabela 5), através de MAC ELISA. Somente uma amostra de segunda coleta foi reagente para imunoglobulina M e, esta já havia sido reagente na primeira coleta 10 dias antes. Não se realizou ELISA NS1 nas amostras de segunda coleta, tendo em vista que a proteína NS1 é expressa até o nono dia a partir do início dos sintomas e, as amostras de segunda coleta foram obtidas em média, 13 dias após o início desses.

Foram submetidas ao isolamento viral 36 amostras (38,3% das coletas), por inoculação em cultura de células de *Aedes albopictus* clone C6/36, sendo todos negativos.

Tabela 5 – Resultado dos ensaios imunoenzimáticos para detecção de anticorpos IgM e antígeno NS1 do dengue, nas amostras dos casos sentinela de dengue, Dourados/MS, 2008 (n 1ª coleta=69, n 2ª coleta=24)

ELISA dengue	1ª coleta				2ª coleta			
	Reagente		Não reagente		Reagente		Não reagente	
	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
NS1	0	0,0	69	100,0	–	–	–	–
IgM	6	8,7	63	91,3	1	4,2	23	95,8

Todas as amostras foram testadas para rubéola e toxoplasmose, numa tentativa de se estabelecer diagnóstico diferencial dos casos sentinela (tabela 6). Observou-se uma prevalência de 13% de toxoplasmose aguda dentre os casos sentinela, sendo que 62% dos casos tiveram detecção de imunoglobulina G. Todos os reagentes para toxoplasmose na primeira coleta correspondem aos sororreagentes da segunda coleta.

Não foram identificados casos de rubéola aguda e, a soroprevalência de imunoglobulina G foi de 95,7%, com dois casos IgG não-reagentes mesmo na segunda coleta (ambos os casos do sexo feminino, idades entre 6 e 29 anos).

Tabela 6 – Diagnóstico diferencial dos casos sentinela de dengue, Dourados/MS, 2008 (n 1ª coleta=69, n 2ª coleta=24)

ELISA	1ª coleta				2ª coleta			
	Reagente		Não reagente		Reagente		Não reagente	
	nº	%	nº	%	nº	%	nº	%
IgM								
Toxoplasmose	9	13,0	60	87,0	5	20,8	19	79,2
Rubéola	0	0,0	69	100,0	0	0,0	24	100,0
IgG								
Toxoplasmose	43	62,0	26	37,7	16	66,7	8	33,3
Rubéola	66	95,7	3	4,3	23	95,8	1	4,2

Dos 69 casos sentinela incluídos no estudo, 21,7% tiveram diagnóstico definido: 13,0% toxoplasmose aguda e 8,7% dengue clássico (figura 15).

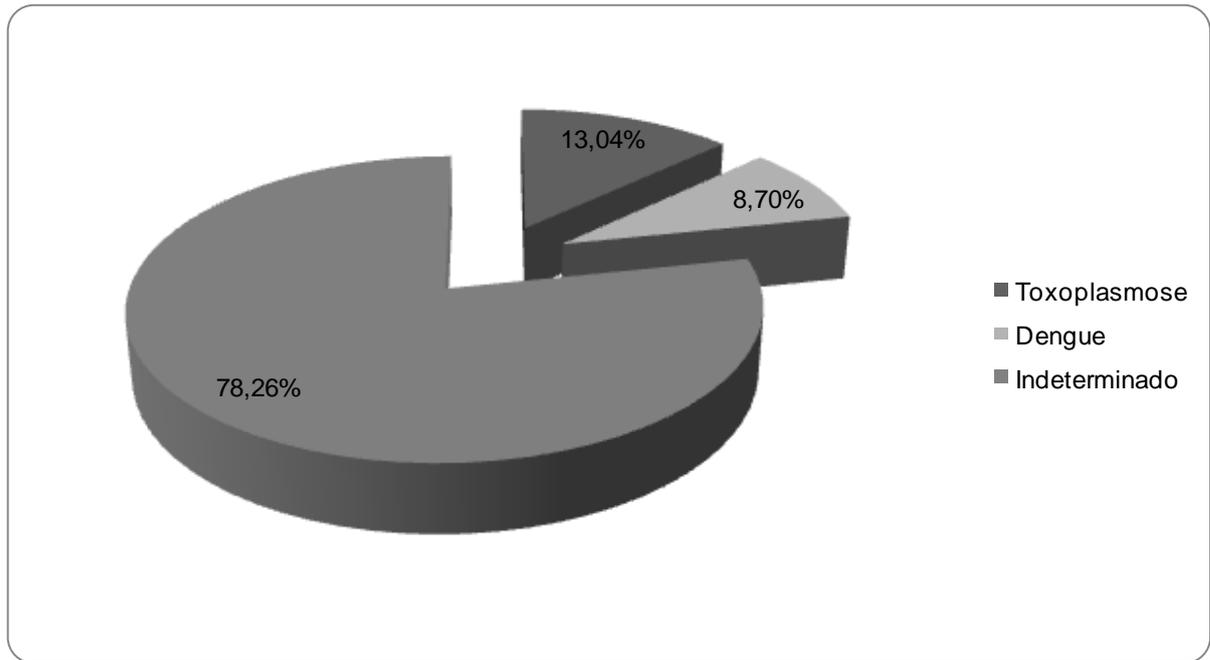


Figura 15 – Etiologia dos casos sentinela de dengue, Dourados/MS, 2008

6 DISCUSSÃO

São poucos os relatos sobre dengue em período interepidêmico, apesar de ser unânime a opinião de que a transmissão viral ocorra, porém em nível pouco expressivo, não sendo detectados os casos pelos sistemas tradicionais de vigilância passiva (ESPINOZA-GÓMEZ *et al.*, 2003; GUBLER, 1989; MARZOCHI, 2004; RIGAU-PERÉZ *et al.*, 2001). O que caracteriza a transmissão viral neste período é a diminuição na incidência de casos (MARZOCHI, 2004), fato registrado no presente estudo, onde o coeficiente de incidência (por 10.000 hab.) diminuiu de 302,0 na epidemia para 1,7 no ano do estudo.

Esta diminuição pode ser explicada por vários fatores, ligados aos hospedeiros, aos vetores e ao ambiente (ALMEIDA *et al.*, 2008). Partindo da observação de que as condições ambientais (temperatura, umidade do ar e pluviosidade) e vetoriais (índice de infestação predial e índice de pendência) mantiveram-se inalteradas desde a epidemia, o esgotamento de suscetíveis parece explicar a queda na incidência. Assim, a forma tradicional de vigilância passiva deve ser substituída por um modelo mais dinâmico na busca de casos semelhantes ao dengue, tal qual propõe a vigilância sentinela (GUBLER, 1989).

A vigilância sentinela para o dengue vem sendo proposta desde a década de 80 (GUBLER, 1989), sendo fundamental para definição de padrões de transmissão. No presente estudo definiu-se caso sentinela como o paciente que apresentava febre e/ou exantema, excluído possibilidade de foco infeccioso aparente. A febre é o sinal clínico mais freqüente nas infecções sintomáticas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1997) e quando associada à cefaléia, dor retro-orbitária, mialgia, artralgia, náuseas/vômitos; define a suspeita de caso (BRASIL, 2005b).

Neste estudo, a implantação da vigilância sentinela contribuiu decisivamente para a monitorização dos casos suspeitos de dengue e aqueles diagnosticados como “virose”, o que segundo Gubler (1989) ocorre com freqüência durante períodos interepidêmicos ou “silenciosos” em decorrência da dificuldade do reconhecimento clínico da doença.

O número de coletas sentinela realizadas no presente estudo (amostra não probabilística) e o percentual de segunda coleta (34,8%) foi menor que relatado por Espinoza-Gómez *et al.*, (2003), que realizaram 433 primeiras coletas, com um percentual de recoleta de 56,6%. Essa diminuição significativa na recoleta pode ser

relacionada à baixa adesão dos sujeitos de pesquisa que, apresentando melhora clínica dos sintomas, deixaram de procurar a unidade de saúde.

Apesar de 2008 ser um ano caracteristicamente interepidêmico não se observou diferença na sazonalidade em relação aos anos epidêmicos. Rios (2008) num estudo das epidemias do município, ocorridas em 2002/2003 e 2006/2007, também constatou que no primeiro quadrimestre concentram-se a maioria dos casos (86% em 2006/2007), o que corrobora os resultados deste estudo.

Esta semelhança na sazonalidade dos períodos epidêmico/interepidêmico está provavelmente associada aos fatores ambientais (temperatura, umidade relativa do ar e pluviosidade) que propiciam condições favoráveis tanto ao desenvolvimento do vetor, quanto sua sobrevivência no ambiente (DONALÍSIO; GLASSER, 2002); já a diminuição no número de casos da doença está, provavelmente, relacionada ao esgotamento de suscetíveis (através da formação de imunidade de grupo), tendo em vista que as condições ambientais não diferiram das registradas durante a epidemia (ALMEIDA *et al.*, 2008; RIOS, 2008).

A imunidade produzida pelos vírus dengue é permanente ao sorotipo homólogo à infecção e transitória (em média três meses) aos demais sorotipos (SABIN, 1950). Durante a última epidemia (2007) circulou no município o DENV 3 (DOURADOS, 2008). Não sendo possível a identificação do sorotipo circulante durante o estudo sentinela, com métodos de isolamento em cultura de células, estudos moleculares serão necessários para complementar os achados e relacionar a formação de imunidade de grupo com a diminuição na incidência da doença.

Na figura 14 observam-se as condições ambientais no ano de 2008, que se mostram favoráveis ao desenvolvimento vetorial nos primeiros meses do ano, quando foi registrado o maior número de casos nas unidades sentinela. Esta associação positiva entre casos de dengue e fatores ambientais também foi encontrada por Gonçalves Neto e Rebêlo (2004) durante estudo da epidemia de São Luís (MA) em 1997 e por Rios (2008) no estudo dos anos epidêmicos no município.

A distribuição dos casos no perímetro urbano mostrou uma concentração desses na região leste (ESF 22) e oeste (ESF 16), provavelmente associada à maior densidade populacional dessas localidades, com a ESF 22 abrangendo um total de 4.266 habitantes (2,3% da população do município) e a ESF 16, 3.217 (1,7% da população do município). Não foram encontrados relatos de distribuição espacial de dengue na interepidemia que abrangessem uma localidade específica, tal qual a

presente casuística que abrangeu apenas o perímetro urbano de Dourados/MS. No entanto, Ribeiro *et al.* (2006) e Almeida *et al.* (2008) relacionaram o aparecimento de casos de dengue (durante a epidemia) com a densidade populacional, onde os bairros densamente povoados foram os mais atingidos.

Não se observou predomínio de sexo no estudo, o que corrobora os estudos de Rigau-Pérez *et al.* (2001) e Espinoza-Gómez *et al.* (2003). Este achado pode ser relacionado à metodologia empregada na seleção de casos, na qual qualquer usuário das unidades sentinela que apresentasse os sintomas de caso sentinela era convidado a participar do estudo. Entretanto, durante a epidemia observou-se o predomínio do sexo feminino (tabela 1), também relatado por Ribeiro *et al.* (2006) em São Sebastião/SP. Esse predomínio do sexo feminino não parece ser unânime pelo que apontam os estudos de Almeida *et al.* (2008) em Belo Horizonte/MG e Casali *et al.* (2004) no Rio de Janeiro/RJ e Montenegro *et al.* (2006) em Recife/PE.

Observou-se o predomínio da raça branca no estudo (79,7%), provavelmente advinda do fato de que 70% da população declara-se pertencente a esta raça. Este dado deve ser interpretado com cautela, uma vez que o mesmo é auto-referido, não partindo de bases biológicas ou antropológicas na sua definição. Esta mesma observação aplica-se a epidemia (tabela 1). Não foram encontradas informações com relação à raça nos estudos interepidêmicos (figura 8).

A distribuição dos casos em faixas etárias (seguindo a mesma padronização do SINAN) não mostra predomínio em nenhuma delas, sendo observada, no entanto, uma concentração desses nas idades de 20 a 49 anos (59,4%), o que corrobora o estudo de Rigau-Pérez *et al.* (2001) e Espinoza-Gómez *et al.* (2003). Na presente casuística explica-se este dado pela distribuição etária da população que concentra 47% dos habitantes nesta faixa de idade. Esta mesma concentração foi observada no período epidêmico, quando 56,5% dos casos estavam nesta faixa de idade (tabela 1). Corroborando os achados do período epidêmico estão os trabalhos de Almeida *et al.* (2008), Casali *et al.* (2004) e Gonçalves Neto e Rebêlo (2004).

As manifestações clínicas observadas na interepidemia diferem das observadas durante a epidemia, sendo menos freqüente o relato de mialgia, dor retro-orbitária, artralgia, prostração e exantema (tabela 2). Gubler (1989) refere que esta diminuição das manifestações clássicas de caso suspeito de dengue, dificulta o reconhecimento da doença, característico nos períodos interepidêmicos.

Com relação às manifestações clínicas presentes na epidemia, Casali *et al.* (2004), Cunha *et al.* (1999) e Guzmán *et al.* (2006b) observaram resultados semelhantes.

O percentual de 8,7% (IC_{95%} 2,0-15,3) de casos agudos de dengue detectados durante o estudo, condiz com Camacho *et al.* (2003), que encontraram positividade de 14,3% (IC_{95%} 11,3-17,2) e foi maior do que o referido por Espinoza-Gómez *et al.* (2003), 2,8% (IC_{95%} 1,2-4,3). Estes autores realizaram em seus estudos, além da pesquisa de anticorpos (IgM e IgG), isolamento viral e detecção de RNA dos vírus dengue, o que, com exceção da primeira, ainda não se realizou no presente estudo, fato que pode elevar o percentual de positivos agudos para dengue.

Conforme observado (tabela 5), todas as amostras foram não reagentes para detecção do antígeno NS1, que pode estar relacionado à sensibilidade do teste utilizado (pan-E Dengue Early ELISA[®]). Segundo o fabricante a sensibilidade seria de 90% mas, estudo realizado por Lima (2009) estimou em 70% a sensibilidade do mesmo. Outro fator associado com a não detecção de antígenos NS1 pode ser a baixa circulação viral, evidenciada pelo resultado negativo de todos os isolamentos virais e diminuição, em relação ao período epidêmico, das manifestações clínicas que Alcon *et al.* (2002), Libraty *et al.* (2002) e Young *et al.* (2000) associaram a baixa expressão de NS1.

No tocante ao isolamento viral, a técnica utilizada pelo LACEN/MS (cultura de células AP C6/36) é amplamente utilizada atualmente para a identificação do sorotipo circulante (NOGUEIRA *et al.*, 1988). Vários fatores estão associados ao sucesso da técnica, entre eles período de coleta, armazenamento e transporte dos espécimes biológicos, que durante o estudo foram satisfatórios. Essa ausência de isolados positivos pode ser relacionada à baixa circulação viral (seis casos positivos para dengue em 93 coletas, quando analisado a presença de imunoglobulina M – através de MAC-ELISA). Assim, a implantação de métodos moleculares para identificação viral tal como propõe o PNCD (BRASIL, 2001b) é fundamental para efetiva vigilância do dengue no município.

O diagnóstico diferencial dos casos sentinela para outras doenças febris (rubéola e toxoplasmose) baseou-se na realidade epidemiológica do estado. Não foram identificados casos de rubéola aguda (presença de anticorpos IgM) o que corrobora o estudo de Campagna *et al.* (2006) e difere de Figueiredo *et al.* (2004) e Oliveira *et al.* (2008). A ausência de casos agudos e a alta prevalência de

imunoglobulina G (95,7%) sugerem imunidade vacinal, tendo em vista que a faixa etária predominante no estudo está incluída no calendário nacional de vacinação (BRASIL, 2009).

Os nove casos (13,0%) com presença de imunoglobulina M para toxoplasmose não corroboram os achados de Campagna *et al.* (2006), porém ressalta-se que o referido estudo foi realizado em menores de 13 anos com exantema. O resultado da presente casuística evidencia a importância da pesquisa do agravo nas amostras de sintomáticos não reagentes para dengue e comprova a circulação do agravo no município, com manifestações clínicas inclusive, já que não foram selecionados pacientes assintomáticos no estudo.

Com relação ao percentual de amostras sororreagentes ao anticorpo IgG para toxoplasmose (62,0%) Riccardi, Sandoval e Mayrink (1975) e Coelho, Kobayashi e Carvalho Junior (2003) encontraram resultados semelhantes aos do presente estudo.

Apenas 21,7% dos casos tiveram diagnóstico etiológico definido, o que não corrobora os resultados de Campagna *et al.* (2003) e de Figueiredo *et al.* (2004), mas é semelhante aos resultados de Oliveira *et al.* (2008). Desta forma é factível a ampliação do diagnóstico diferencial para parvovírus B19, herpes e mononucleose infecciosa, tal qual Oliveira *et al.* (2008).

7 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente estudo evidenciam a circulação do dengue no município. A baixa incidência observada define 2008 como ano interepidêmico.

A circulação interepidêmica apresenta alguns aspectos diferentes da circulação epidêmica, não sendo observado predomínio de sexo e as manifestações clínicas são menos intensas. Por outro lado a faixa etária acometida e a sazonalidade mostram-se semelhantes à epidemia, com concentração dos casos dos 20 aos 49 anos, no primeiro quadrimestre.

Os mesmos fatores ambientais (temperatura, umidade do ar e pluviosidade) e vetoriais (infestação predial e índice de pendência) mantiveram-se constantes nos dois períodos, sendo positiva a correlação entre o aparecimento de casos e aumento da temperatura e umidade relativa do ar.

A pesquisa de imunoglobulina M para toxoplasmose mostrou-se relevante para determinar a etiologia de suspeitos não reagentes para imunoglobulina M anti-dengue. Já a pesquisa para imunoglobulina M anti-rubéola não mostrou relevância tendo em vista a alta prevalência de imunoglobulina G na população.

Estudos envolvendo a pesquisa de imunoglobulina G e detecção de RNA dos vírus dengue são necessários, para verificar o percentual de infecção prévia e determinar o sorotipo viral circulante.

Faz-se necessário a ampliação do diagnóstico diferencial contemplando parvovírus, herpes e mononucleose infecciosa.

REFERÊNCIAS

- AGRAMONTE, A. Some clinical notes upon a recent epidemic of dengue fever. **New York Medical Journal**, v. 84, p. 231-233, Aug. 1906.
- ALCON, S.; TALARMIN, A.; DEBRUYNE, M.; FALCONAR, V. D.; FLAMAND, M. Enzyme-linked immunosorbent assay specific to dengue vírus type 1 nonstructural protein NS1 reveals circulation of the antigen in the blood during the acute phase of disease in patients experiencing primary or secundary infections. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 2, p. 376-381, Feb. 2002.
- ALMEIDA, M. C. M.; ASSUNÇÃO, R. M.; PROIETTI, F. A.; CAIAFFA, W. T. Dinâmica intra-urbana das epidemias de dengue em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, 1996-2002. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 24, n. 10, p. 2385-2395, out. 2008.
- ARAÚJO, J. M. G. **Vírus dengue sorotipo 3 (DENV-3) no Brasil: estudos sobre patogenia, sítios de replicação, filogenia e evolução molecular**. 2009. 149f. Tese (Doutorado em Biologia Celular e Molecular) - Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2009.
- ASHBURN, P. M.; CRAIG, C. F. Experimental investigations regarding the etiology of dengue fever. **Journal of infectious Diseases**, v. 4, p. 440-475, 1907.
- AYRES, C. F. J.; SANTOS, M. A. V. M.; SOLÉ-CAVA, A. M.; FURTADO, A. F. Genetic differentiation of *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae), the major dengue vector in Brazil. **Journal of Medical Entomology**, Washington, v. 40, n. 4, p. 431-435, July 2003.
- AYRES, M.; AYRES JUNIOR, M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. A. S. **BioEstat versão 4.0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas**. Belém: UFPA, 2005.
- BALMASEDA, A.; HAMMOND, N. S.; PÉREZ, M. A.; CUADRA, R.; SOLANO, S.; ROCHA, J.; IDIAQUEZ, W.; HARRIS, E. Assessment of the World Health Organization scheme for classification of dengue severity in Nicaragua. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 73, n. 6, p. 1059-1062, Aug. 2005.
- BANCROFT, T. L. On the etiology of dengue fever. **The Australasian Medical Gazete**, v. 25, p. 17-18. Jan. 1906.
- BRAGA, I. A.; VALLE, D. *Aedes aegypti*: histórico do controle no Brasil. **Epidemiologia e serviços de saúde**, Brasília, v. 16, n. 2, p. 113-118, abr./jun. 2007.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Dengue: instruções para o pessoal de combate ao vetor – manual de normas técnicas**. Brasília: FUNASA, 2001a.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Programa Nacional de Controle da Dengue**. Brasília: FUNASA, 2001b.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Normas para pesquisa envolvendo seres humanos** (Res. CNS nº 196/96). 2. ed. ampl. Brasília: Ministério da Saúde, 2003.

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

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**. 6. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2005b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 5, de 21 de fevereiro de 2006. **Diário Oficial [da] União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 22 de fev. 2006. seção 1, p. 34.

BRASIL. **Calendário de Vacinação**, 2009. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/Gestor/visualizar_texto.cfm?idtxt=28893>. Acesso em: 10 maio 2009.

BRITO, C. A. A.; LUCENA-SILVA, N.; GOMES, P. Different forms of presentation of exanthema in dengue. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 40, n. 3, p. 376-377, May./June 2007.

BUCKY, P.; YOKSAN, S.; PEELING, R. W.; HUNSPERGER, E. Laboratory tests for the diagnosis of dengue virus infection. In: WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Scientific Working Group Report on dengue**. Geneva: WHO, 2006. p. 74-81.

CADAVID, J. F. R. Aspectos entomológicos del dengue. **Infectio**, v. 8, n. 3, p. 231-235, Sept. 2004.

CAMACHO, D. E.; ÁLVAREZ, M.; RODRÍGUEZ-HENRÍQUEZ, F.; QUINTANA, M.; SOLER, M.; CHIARELLO, A.; SIERRA, G.; COMACH, G. Diagnóstico de laboratorio de infecciones por el virus dengue em el estado de Aragua; Venezuela: octubre 1997-diciembre 1998. **Investigación Clínica**, Maracaibo, v. 44, n. 2, p. 91-103, jun. 2003.

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.

CAMPAGNA, D. S.; MIAGOSTOVICH, M. P.; SIQUEIRA, M. M.; CUNHA, R. V. Etiologia de exantema em crianças em uma área endêmica de dengue. **Jornal de Pediatria**, Porto Alegre, v. 82, n. 5, p. 354-358, set./out. 2006.

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.

CAUSEY, O. R.; THEILER, M. Virus antibody survey on sera of residents of the Amazon valley in Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 7, n.1, p. 36 - 41, Jan. 1958.

CENTERS FOR DISEASES CONTROL AND PREVENTION (CDC). Epi Info 2008, version 3.5.1: programs for use by public health professionals. Atlanta: CDC, 2008.

CHAMBERS, T.; HAHN, C.; GALLER, R.; RICE, R. Flavivirus genome organization, expression and replication. **Annual Review of Microbiology**, v. 44, p. 649-688, 1990.

CLARKE, D. H.; CASALS, J. Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod-borne viruses. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 7, n. 5, p. 561-573, Sept. 1958.

COELHO, R. A. L.; KOBAYASHI, M.; CARVALHO JUNIOR, L. B. Prevalence of IgG antibodies specific to *Toxoplasma gondii* among blood donors in Recife, Northeast Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 45, n. 4, p. 229-231, Aug. 2003.

CORRÊA, P. R. L.; FRANÇA, E. Dengue hemorrágica em unidade de referência como indicador de sub-registro de casos no município de Belo Horizonte, estado de Minas Gerais, Brasil, 1998, **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v. 16, n. 3, p. 175-184, jul./set. 2007.

CUNHA, R. V.; DIAS, M.; NOGUEIRA, R. M.; 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./Dec. 1995.

CUNHA, R. V. **Aspectos clínicos e epidemiológicos da infecção pelos vírus dengue em áreas endêmicas do Brasil**. 1997. 124f. Tese (Doutorado em Medicina Tropical) - Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 1997.

CUNHA, R. V.; SCHATZMAYR, H. G.; MIAGOSTOVICH, M. P.; BARBOSA, A. M. A.; PAIVA, F. G.; MIRANDA, R. M. O.; RAMOS, . C. F.; COELHO, J. C. O.; SANTOS, F. B.; NOGUEIRA, R. M. R. Dengue epidemic in the state of Rio Grande do Norte, Brazil, in 1997. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 93, n. 3, p. 247-249, May 1999.

CUNHA, R. V.; NOGUEIRA, R. M. R. Dengue e dengue hemorrágico. In: COURA, J. R. (Org.). **Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. cap. 151, p. 1767-1781.

DEEN, J. L.; HARRIS, E.; WILLS, B.; BALMASEDA, A.; HAMMOND, S. N.; ROCHA, N.; DUNG, N. M.; HUNG, N. T.; HIEN, T. T.; FARRAR, J. J. The WHO dengue classification and case definitions: time for a reassessment. **The Lancet**, London, v. 368, n. 9530, p. 170-173, 2006.

DÍAZ, F. J. Dengue: un problema creciente. **Infectio**, v. 8, n. 3, p.177, mar. 2004.

DIETZ, V. J.; GUBLER, D. J.; RIGAU-PÉREZ, J. G.; PINHEIRO, F.; SCHATZMAYR H. G.; BAILEY, R.; GUNN, R. Epidemic dengue 1 in Brazil, 1986: Evaluation of a clinically based dengue surveillance system. **American Journal of Epidemiology**, v.131, n. 4, p. 693-701, Apr. 1990.

DONALÍSIO, M. R.; GLASSER, C. Vigilância entomológica e controle de vetores do dengue. **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 5, n. 3, p. 259-272, dez. 2002.

DOURADOS (Município). Secretaria Municipal de Saúde. **Relatório de Gestão 2007**. SEMS: Dourados, 2008 (não publicado).

DOURADOS (Município). **Portal de Sistemas de Informações do Banco de Dados Multifinalitário de Dourados**, 2009 Disponível em: <<http://geo.dourados.ms.gov.br/geodourados/map.phtml>>. Acesso em: 31 jan. 2009.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Clima MS**, 2009. Disponível em: <<http://www.cpao.embrapa.br/clima>>. Acesso em: 31 jan. 2009.

ESPINOZA-GÓMEZ, F.; HERNÁNDEZ-SUÁREZ, C. M.; RENDÓN RAMÍREZ, R.; CARRILLO-ALVAREZ, M. L.; FLORES-GONZÁLEZ, J. C. Transmisión interepidémica del dengue em la ciudad de Colima, México. **Revista del salud pública de México**, v. 45, n. 5, p. 365-370, Sept./Oct. 2003.

FERNÁNDEZ-MESTRE, M. T.; GENDZEKHADZE, K.; RIVAS-VETENCOURT, P.; LAYRISSE, Z. TNF- α -308 A allele, a possible severity risk factor of hemorrhagic manifestation in dengue fever patients. **Tissue Antigens**, v. 64, n. 4, p. 469-472, 2004.

FERREIRA, M. L. B. F.; CAVALCANTI, C. G.; COELHO, C. A.; MESQUITA, S. D. Manifestações neurológicas de dengue. **Arquivos de Neuro-psiquiatria**, São Paulo, v. 63, supl. 2-B, p. 488-493, jun. 2005.

FIGUEIREDO, R. M. P.; THATCHER, B. D.; LIMA, M. L.; ALMEIDA, T. C.; ALECRIM, W. D.; GUERRA, M. V. F. Doenças exantemáticas e primeira epidemia de dengue ocorrida em Manaus, Amazonas, no período de 1998-1999. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 37, n. 6, p. 476-479, nov./dez. 2004.

FORATTINI, O. P. **Culicidologia médica**. São Paulo: EDUSP, 2002. (vol. 2).

FORATTINI, O. P.; BRITO, M. Reservatórios domiciliares de água e controle do *Aedes aegypti*. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 37, n. 5, p. 676-677, out. 2003.

FRANCISCO, F. M.; SOUZA, S. L. P.; GENNARI, S. M.; PINHEIRO, S. R.; MURADIAN, V.; SOARES, R. M. Seroprevalence of toxoplasmosis in a low-income community in the São Paulo municipality, SP, Brazil. **Revista do Instituto de**

Medicina Tropical de São Paulo, São Paulo, v. 48, n. 3, p. 167-170, May/June, 2006.

GOMES, A. C. Vigilância da dengue: um enfoque vetorial. **Biológico**, São Paulo, v. 64, n. 2, p. 209-212, jul./dez. 2002.

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

GRAHAM, H. The dengue: a study of its pathology and mode of propagation. **The Journal of Tropical Medicine**, v. 6, p. 209-214, July 1903.

GREEN, S.; ROTHMAN, A. Immunopathological mechanisms in dengue and dengue hemorrhagic fever. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 19, n. 5, p. 429-436, Sept. 2006.

GUBLER, D. J. Surveillance for dengue and dengue hemorrhagic fever. **Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana**, v. 107, n. 1, p. 22-30, July 1989.

GUBLER, D. J. Dengue and dengue hemorrhagic fever: its history and resurgence as a global public health problem. In: GUBLER, D. J.; KUNO, G. (ed.) **Dengue and dengue hemorrhagic fever**. Cambridge: University Press, 1997, cap. 1, p. 1-22.

GUZMÁN, M. G.; KOURI, G. Dengue: an update. **The Lancet infectious diseases**, London, v. 2, n.1, p. 33-42, Jan. 2002.

GUZMÁN, M. G.; GARCIA, G.; KOURÍ, G. El dengue y el dengue hemorrágico: prioridades de investigación. **Revista Panamericana de Salud Pública**, Washington, v. 3, n. 19, p. 204-215, mar. 2006a.

GUZMÁN, M. G.; PELÁEZ, O.; KOURÍ, G.; QUINTANA, I.; VÁZQUEZ, S.; PENTÓN, M.; ÁVILLA, L. C. Caracterización final y lecciones de la epidemia de dengue 3 em Cuba, 2001-2002. **Revista Panamericana de Salud Pública**, Washington, v. 19, n. 4, p. 282-289, Apr. 2006b.

HALSTEAD, S. B.; NIMMANNITYA, S.; YAMARAT, C.; RUSSEL, P. K. Hemorrhagic fever in Thailand: recent knowledge regarding etiology. **Japanese Journal Medical Science and Biology**, v. 20, suppl, p. 96-103, Dec. 1967.

HALSTEAD, S. B. Observations related to pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. VI. Hypotheses and discussion. **Yale Journal of Biology and Medicine**, v. 42, n. 5, p. 350-362, Apr. 1970.

HALSTEAD, S. B. Selective primary health care: strategies for control of disease in the developing world. XI. Dengue. **Reviews of Infectious Diseases**, v. 6, n. 2, p. 251-264, Mar./Apr. 1984.

HALSTEAD, S.B. Pathophysiology and pathogenesis of dengue haemorrhagic fever. In: WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Monograph on Dengue/Dengue**

Haemorrhagic Fever. New Delhi: WHO Regional Office for South-East Asia, 1993, p. 80-103.

HAMMON, W. M.; RUDNICK, A.; SATHER, G. E. Viruses associated with epidemic hemorrhagic Fevers of the Philippines and Thailand. **Science**, v. 131, n. 3407, p. 1102-1103, Apr. 1960.

HARRINGTON, L. C.; EDMAN, J. D.; SCOTT, T. W. Why do female *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) feed preferentially and frequently on human blood? **Journal of Medical Entomology**, v. 38, n.3, p. 411-422, May 2001.

HOTTA, S.; KIMURA, R. Experimental studies on dengue. Isolation, identification and modification of the virus. **Journal of Infectious Diseases**, v. 90, n. 1, p. 1-9, Jan./Feb. 1952.

IGARASHI, A. Isolation of a Singh's *Aedes albopictus* cell clone sensitive to dengue and chikungunya viruses. **The journal of General Virology**, v. 40, n. 3, p. 531-544, Sept. 1978.

JONES, J. L.; KRUSZON-MORAN, D.; WILSON, M.; MCQUILLAN, G.; NAVIN, T.; MCAULEY, J. B. *Toxoplasma gondii* Infection in the United States: seroprevalence and risk factors. **American Journal of Epidemiology**, v. 154, n. 4, p.357-365, Feb. 2001.

KLIKS, S. C.; NIMMANNITYA, S.; NISALAK, A.; BURKE, D. S. Evidence that maternal dengue antibodies are important in the development of dengue hemorrhagic fever in infants. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 38, n. 2, p. 411-419, Mar. 1988.

KOURÍ, G.; GUZMÁN, M. G.; BRAVO, J. Why dengue haemorrhagic fever in Cuba? 2. An integral analysis. **Transactions of the Royal Society of Medicine Tropical and Hygiene**, v. 81, n. 5, p. 821-823, 1987.

KOURÍ, G. El dengue un problema creciente de salud en las Américas. **Revista Panamericana de Salud Pública**, Washington, v. 19, n. 3, p. 143-145, 2006.

KUNO, G.; GUBLER, D. J.; WEIL, N. S. Antigen capture ELISA for the identification of dengue viruses. **Journal of Virological Methods**, v. 12, n. 1-2, p. 93-103, Oct. 1985.

KUNO, G.; GÓMEZ, I.; GUBLER., D. J. Detecting artificial anti-dengue IgM immune complexes using an enzyme-linked immunosorbent assay. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 36, n. 1, p. 153-159, 1987.

KURANE, I.; INNIS, B. L.; NIMMANNITYA, S.; NISALAK, A.; MEAGER, A.; JANIS, J.; ENNIS, F. A. Activation of T lymphocytes in dengue virus infections. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 88, n. 5, p. 1473-1480, Nov. 1997.

KURANE, I. dengue hemorrhagic fever with special emphasis on immunopathogenesis. **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**, v. 30, n. 5-6, p. 329-340, Sept. 2007.

LANCIOTTI, R. S.; CALISHER, C. H.; GUBLER, D. J.; CHANG, G. J.; VORNDAM, V. Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 30, n. 3, p. 545-551, Mar. 1991.

LEE, H. L.; ROHAIN, A. Transovarial transmission of dengue virus in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in relation to dengue outbreak in an urban area in Malaysia. **Dengue Bulletin**, v. 29, p. 106-111, 2005.

LIBRATY, D. H.; YOUNG, P. R.; PICKERING, D.; ENDY, T. P.; KALAYANAROOJ, S.; GREEN, S.; VAUGHN, D. W.; NISALAK, A.; ENNIS, F. A.; ROTHMAN, A. High circulating levels of the dengue virus Nonstructural Protein NS1 early in dengue illness correlate with the development of dengue hemorrhagic fever. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 186, n. 8, p. 1165-1168, Oct. 2002.

LIMA, M. R. Q. **Perspectivas para o diagnóstico laboratorial do Dengue: Avaliação da utilização em potencial de testes de captura de antígeno NS1.** Campo Grande: UFMS, 2009. 49 slides.

LUZ, R. Epidemia de dengue em Valença. In: Congresso Brasileiro de Medicina e Cirurgia, 1889, Rio de Janeiro. **Anais do Primeiro Congresso Brasileiro de Medicina e Cirurgia.** Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, p. 115-124.

MARIANO, F. A dengue. Considerações a respeito da sua incursão no Rio Grande do Sul, em 1916. **Arquivo Brasileiro de Medicina**, v. 7, p. 272-277, 1917.

MARZOCHI, K. B. F. Dengue endêmico: o desafio das estratégias de vigilância. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, n. 37, n. 5, p. 413-415, set./out. 2004.

MIAGOSTOVICH, M. P.; RAMOS, R. G.; NICOL, A. F.; NOGUEIRA, R. M. R.; CUZZI-MARYA, T.; OLIVEIRA, A.; MARCHEVSKY, R. P.; MESQUITA, R. P.; SCHATZMAYR, H. G. Retrospective study on dengue fatal cases. **Clinical Neuropathology**, v. 16, n. 4, p. 204-208, July/Aug. 1997.

MIAGOSTOVICH, M. P.; NOGUEIRA, R. M. R.; SANTOS, F. B.; SCHATZMAYR, H. G.; ARAÚJO, E. S. M.; VORNDAM, V. Evaluation of an IgG enzyme-linked immunosorbent assay for dengue diagnosis. **Journal of Clinical Virology**, v. 14, p. 183-189, Dec. 1999.

MICROSOFT Office Enterprise 2007: Office Excel[®]. [s.l.]: Microsoft Corporation, 2006.

MIRANDA, L. E. C.; MIRANDA, S. J. C.; ROLLAND, M. Case Report: Spontaneous Rupture of the Spleen Due to Dengue Fever. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v. 6, n. 7, p. 423-425, Dec. 2003.

MONATH, T. P.; HEINZ, F. X. Flaviviruses. In: KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M.; GRIFFIN, D. E.; LAMB, R. A.; MARTIN, M. A.; ROIZMAN, B.; STRAUS, S. E. (Eds) **Field's – Virology**. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins Publishers, 2001. cap. 33, p. 852-921.

MONTENEGRO, D.; LACERDA, H. R.; LIRA, T. M.; OLIVEIRA, D. S. C.; LIMA, A. A. F.; GUIMARÃES, M. J. B.; VASCONCELOS, P. G. Aspectos clínicos e epidemiológicos da epidemia de dengue no Recife, PE, em 2002. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 1. n. 39, p. 9-13, jan./fev. 2006.

NOGUEIRA, R. M. R.; SCHATZMAYR, H. G.; MIAGOSTOVICH, M. P. FARIAS, M. F.; FARIAS FILHO, J. D.; Virologic study of dengue type 1 epidemic at Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, n. 83, v. 2, p. 219-225, Apr./June 1988.

NOGUEIRA, R. M. R.; MIAGOSTOVICH, M. P.; LAMPE, E.; SOUZA, R. W.; ZAGNE, S. M. O.; SCHATZMAYR, H. G. Dengue epidemic in the state of Rio de Janeiro, Brazil, 1990-1991: co-circulation of dengue 1 and dengue 2 sorotipes. **Epidemiology and Infection**, v. 111, n. 1, p. 163-170, 1993.

NOGUEIRA, R. M. R.; MIAGOSTOVICH, M. P.; SCHATZMAYR, H. G. Molecular epidemiology of dengue viruses in Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.1, n. 16, p. 205-211, Jan./Mar. 2000.

NOGUEIRA, R. M. R.; MIAGOSTOVICH, M. P.; FILIPPIS, A. M. B.; PEREIRA, M. A. S.; SCHATZMAYR, H. G. Dengue type 3 in Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 96, n. 7, p. 925-926, Oct. 2001.

NOGUEIRA, R. M. R.; SCHATZMAYR, H. G.; FILIPPIS, A. M. B.; SANTOS, F. B.; CUNHA, R. V.; COELHO, J. O.; SOUZA, L. J.; GUIMARAES, F. R.; ARAUJO, E. S. M.; SIMONE, T. S.; BARAN, M.; TEIXEIRA JUNIOR, G.; MIAGOSTOVICH, M. P. Dengue virus type 3, Brazil, 2002. **Emerging Infectious Diseases**, v. 11, n. 9, p.1376-1381, Apr. 2005.

NOGUEIRA, R. M. R.; ARAÚJO, J. M. G.; SCHATZMAYR, H. G. Dengue viruses in Brazil, 1986-2006. **Revista Panamericana de Salud Pública**, Washington, v. 22, n. 5, p. 358-363, Nov. 2007.

OLIVEIRA, M. J. C.; CORDEIRO, M. T.; COSTA, F. M.; MURAKAMI, G.; SILVA, A. M. S.; TRAVASSOS, R. C.; MAGALHÃES, V. Frequência de sarampo, rubéola, dengue e eritema infeccioso entre casos suspeitos de sarampo e rubéola no Estado de Pernambuco, no período de 2001 a 2004. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 41, n. 4, p. 338-344, jul./ago. 2008.

OSANAI, C. H.; ROSA, A. P.; TANG, A. T.; AMARAL, R. S.; PASSOS, A. D.; TAUILL, P. L. Surto de dengue em Boa Vista, Roraima: nota prévia. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, n. 23, v. 1, p. 53-54, 1983.

PADUAN, K. S.; ARAÚJO JUNIOR, J. P.; RIBOLLA, P. E. M. Genetic variability in geographical populations of *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae) in Brazil elucidated by molecular markers. **Genetics and molecular biology**, Ribeirão Preto, v. 29, n. 2, p. 391-395, 2006.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION - PAHO. **Dengue and dengue hemorrhagic fever in the Americas: guidelines for prevention and control**. Washington: PAHO, 1994.

PANG, T.; CARDOSA, M. J.; GUZMÁN, M. G. Of cascades and perfect storms: the immunopathogenesis of dengue hemorrhagic fever-dengue shock syndrome (DHF/DSS). **Immunology and Cell Biology**, v. 85, n. 1. p. 43-45, Jan. 2007.

PEDRO, A. O dengue em Nictheroy. **Brazil-Medico**, v. 1, n. 13, p. 174-177, mar. 1923.

PENNA, M. L. F. Um desafio para a saúde pública brasileira: o controle do dengue. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 19, p. 305-309, jan./fev. 2003.

POLIZEL, J. R.; BUENO, D.; VISENTAINER, J. E.; SELL, A. M.; BORELLI, S. D.; TSUNETO, L. T.; DALALIO, M. M.; COIMBRA, M. T.; MOLITERNO, R. A. Association of human leukocyte antigen DQ1 and dengue fever in a white southern brazilian population. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 99, n. 6, p. 559-562, Oct. 2004.

QUERALES, J. Dengue: causas, características clínicas y prevención. **Gaceta Médica de Caracas**, Caracas, v. 3, n. 110, p. 328-323, jul. 2002.

REGIONAL OFFICE for SOUTH-EAST ASIA (SEARO). **Guidelines for prevention and control of chikungunya fever**. New Delhi: SEARO, 2008.

REGO, J. P. **Esboço histórico das epidemias que tem grassado na cidade do Rio de Janeiro desde 1830 a 1870**. Rio de Janeiro: Typografia Nacional, 1872.

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

RIBEIRO, A. F.; MARQUES, G. R. A. M.; VOLTOLINI, J. C.; CONDINO, M. L. F. Associação entre incidência de dengue e variáveis climáticas. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 40, n. 4, p. 671-676, ago. 2006.

RICCIARDI, I. D.; SANDOVAL, E. F.; MAYRINK, W. Preliminary notes on the prevalence of human toxoplasmosis in Brazil. **Transactions of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 69, n. 5, p. 516-517, 1975.

RICE, L. Dengue fever. A clinical report of the Galveston epidemic of 1922. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 3, p. 73-90, 1923.

RIGAU-PÉREZ, J. G.; CLARK, G. G.; GUBLER, D. J.; REITER, P.; SANDERSE, J.; VORNDAM, A. V. Dengue and dengue haemorrhagic fever. **The Lancet**, London, v. 352, n. 9132, p. 971-977, Sept. 1998.

RIGAU-PÉREZ, J. G.; AYALA-LÓPEZ, A.; VORNAM, A. V.; CLARK, G. Dengue activity in Puerto Rico during an interepidemic period (1995-1997). **The American Society of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 64, n. 1, p. 75-83, 2001.

RIGAU-PÉREZ, J. G.; CLARK, G. G. Cómo responder a una epidemia de dengue: visión global y experiencia en Puerto Rico. **Revista Panamericana de Salud Pública**, Washington, v. 4, n. 17, p. 282-293, abr. 2005.

RIOS, P. C. **Análise comparativa entre fatores ambientais e o aparecimento de novos casos de dengue em Dourados-MS**. 2008. 49f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Enfermagem) – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, Dourados, 2008.

RODHAIN, F.; ROSEN, L. Mosquito vectors and dengue virus-vector relationships. In: GUBLER, D. J.; KUNO, G. (ed.) **Dengue and dengue hemorrhagic fever**. 1. ed. Cambridge: University Press, 1997, cap. 3, p. 45-60.

ROSEN, L. Sexual transmission of dengue viruses by *Aedes albopictus*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 37, n. 22, p. 398-402, 1987.

SABIN, A. B.; The dengue groups of viruses and its family relationship. **Bacteriological reviews**, v. 14, n. 3, p. 225-232, Sept. 1950.

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

SANTOS, N. Q. S.; AZOUBEL, A. C. B.; LOPES, A. A.; COSTA, G.; BACELLAR, A. Guillian-barré syndrome in the course of dengue. **Arquivos de Neuro-psiquiatria**, São Paulo, v. 1, n. 62, p. 144-146, Mar. 2004.

SCOTT, T. W.; MORRISON, A. C.; LORENZ, L. H.; CLARK, G. G.; STRICKMAN, D.; KITTAYAPONG, P.; ZHOU, H.; EDMAN, J. D. Longitudinal studies of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Thailand and Puerto Rico: population dynamics. **Journal of Medical Entomology**, Washington, v. 37, n. 1, p. 77-88, Jan. 2000.

SETIATI, T. E.; MAIRUHU, A. T. A.; KORAKA, P.; SUPRIATNA, M.; GILLAVRY, M. R. M.; BRANDJES, D. P. M.; OSTERHAUS, A. D. M. E.; VAN DER MEER, J. W. M.; VAN GORP, E. C. M.; SOEMANTRI, A. Dengue disease severity in Indonesian children: an evaluation of the World Health Organization classification system. **BMC Infectious diseases**, v. 7, n. 22, p. 1-8, Mar. 2007.

SHU, P. Y.; HUANG, J. H. Current advances in dengue diagnosis. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 11, n. 4, p. 642-650, July 2004.

SILER, J. F.; HALL, M. W.; HITCHENS, A. P. Dengue, its history, epidemiology clinical manifestations, immunity and prevention. **Philippine Journal of Science**, v. 29, p. 1-304, 1926.

SILVA JUNIOR, J. B.; SIQUEIRA JUNIOR, J. B.; COELHO, G. E.; VILARINHOS, P. T. R.; PIMENTA JUNIOR, F. G. El dengue en Brasil: situación actual e actividades de prevención y control. **Boletín Epidemiológico**, Washington, v. 1, n. 23, p. 3-6, 2002.

SIQUEIRA, J. B.; MARTELLI, C. M. T.; COELHO, G. C.; SIMPLICIO, A. C. R.; HATAK, D. L. Dengue and dengue hemorrhagic fever, Brazil, 1981-2002. **Emerging Infectious Disease**, v. 11, n. 1, p. 48-53, Jan. 2005.

SOUZA, L. J.; CARNEIRO, H. G.; SOUTO FILHO, J. T. D.; SOUZA, T. F.; CÔRTEZ, V. A.; GICOVATE NETO, C.; BASTOS, D. A.; SIQUEIRA, E. W. S. Hepatitis in Dengue Shock Syndrome. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v. 6, n. 6, p. 322-327, Dec. 2002.

SOUZA, L. J.; ALVES, J. G.; NOGUEIRA, R. M. R.; GICOVATE NETO, C.; BASTOS, D. A.; SIQUEIRA, E. W. S.; SOUTO FILHO, J. T. D.; CEZÁRIO, T. A.; SOARES, C. E.; CARNEIRO, R. C. Aminotransferase changes and acute hepatitis in patients with dengue fever: analysis of 1,585 cases. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v. 2, n. 8, p. 156-163, Apr. 2004.

SOUZA, L. J.; MARTINS, A. L. O.; PARAVIDINI, P. C. L.; NOUEIRA, R. M. R.; GICOVATE NETO, C.; BASTOS, D. A.; SIQUEIRA, E. W. S.; CARNEIRO, R. C. Hemorrhagic encephalopathy in dengue shock syndrome: a case report. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v. 3, n. 9, p. 257-261, June 2005.

TANAKA, M. Rapid identification of flavivirus using the polymerase chain reaction. **Journal of Virological Methods**, v. 41, n. 3, p. 311-322, Mar. 1993.

TAUIL, P. L. Urbanização e ecologia do dengue. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, n. 17, supl., p. 99-102, 2001.

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

TEIXEIRA, M. G.; BARRETO, M. L.; GUERRA, Z. Epidemiologia e medidas de prevenção do dengue. **Informe Epidemiológico do SUS**, Brasília, v. 4, n. 8, p. 5-33, dez. 1999.

TORRES, E. M. **Dengue**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2005.

TORRES, E. M. La prevención de la mortalidad por dengue: un espacio y un reto para la atención primaria de salud. **Revista Panamericana de Salud Pública**, Washington, v. 20, n. 1, p. 60-74, 2006.

TORRES, E. M. Dengue. **Estudos avançados**, São Paulo, v. 22, n. 64, p. 35-54, 2008.

UEHARA, P. M.; CUNHA, R. V.; PEREIRA, G. R. O L.; OLIVEIRA, P. A. Envolvimento hepático em pacientes com dengue hemorrágico: manifestação rara? **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 6, n. 39, p. 544-547, nov./dez. 2006.

VELOSO, H. H.; FERREIRA JUNIOR, J. A.; PAIVA, J. M. B.; HONÓRIO, J. F.; BELLEI, N. C. J.; PAOLA, A. A. V. Acute atrial fibrillation during dengue hemorrhagic fever. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, Salvador, v. 6, n. 7, p. 418-422, Dec. 2003.

WOLFE, N. D.; DUNAVAN, C. P.; DIAMOND, J. Origins of major human infectious disease. **Nature**, n. 447, p. 279-283, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control**. 2. ed. Geneva: WHO, 1997.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Dengue: world distribution**, 2008. Disponível em: < <http://www.who.int/topics/dengue/en/>>. Acesso em: 31 dez. 2008.

YOUNG. P. R.; HILDITCH, P. A.; BLETCHLY, C.; HALLORAN, W. An antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay reveals high levels of the dengue virus protein NS1 in the sera of infected patients. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38, n. 3, p. 1053-1057, Mar. 2000.

ANEXOS

**ANEXO A - FICHA DE INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA - DENGUE
SENTINELA**

Dados Gerais	1 Tipo de Notificação 2 - Individual		2 Agravo/doença DENGUE		Código (CID10) A 90	3 Data da Notificação	
	4 UF	5 Município de Notificação			Código (IBGE)		
	6 Unidade de Saúde (ou outra fonte notificadora)				Código	7 Data dos Primeiros Sintomas	
Notificação Individual	8 Nome do Paciente					9 Data de Nascimento	
	10 (ou) Idade 1 - Hora 2 - Dia 3 - Mês 4 - Ano		11 Sexo M - Masculino <input type="checkbox"/> F - Feminino I - Ignorado		12 Gestante 1-1º Trimestre 2-2º Trimestre 3-3º Trimestre 4- Idade gestacional Ignorada 5-Não 6- Não se aplica 9- Ignorado		13 Raça/Cor 1-Branca 2-Preta 3-Amarela 4-Parda 5-Indígena 9- Ignorado
	14 Escolaridade 0-Analfabeto 1-1ª a 4ª série incompleta do EF (antigo primário ou 1º grau) 2-4ª série completa do EF (antigo primário ou 1º grau) 3-5ª à 8ª série incompleta do EF (antigo ginásio ou 1º grau) 4-Ensino fundamental completo (antigo ginásio ou 1º grau) 5-Ensino médio incompleto (antigo colegial ou 2º grau) 6-Ensino médio completo (antigo colegial ou 2º grau) 7-Educação superior incompleta 8-Educação superior completa 9-Ignorado 10- Não se aplica						
	15 Número do Cartão SUS			16 Nome da mãe			
	17 UF		18 Município de Residência		Código (IBGE)	19 Distrito	
Dados de Residência	20 Bairro		21 Logradouro (rua, avenida,...)		Código		
	22 Número	23 Complemento (apto., casa, ...)			24 Geo campo 1		
	25 Geo campo 2		26 Ponto de Referência		27 CEP		
	28 (DDD) Telefone		29 Zona 1 - Urbana 2 - Rural <input type="checkbox"/> 3 - Periurbana 9 - Ignorado		30 País (se residente fora do Brasil)		
	Dados laboratoriais e conclusão (dengue clássico)						
	Dados laboratoriais	31 Data da Investigação		32 Ocupação			
Exame Sorológico (IgM) 33 Data da Coleta		34 Resultado 1 - Reagente 2 - Não Reagente 3 - Inconclusivo 4 - Não Realizado		Isolamento Viral 35 Data da Coleta		36 Resultado 1- Positivo 2- Negativo 3- Inconclusivo 4 - Não realizado	
Dados laboratoriais	RT-PCR 37 Data da Coleta		38 Resultado 1 - Positivo 2 - Negativo 3 - Inconclusivo 4 - Não Realizado		39 Sorotipo 1- DEN 1 2- DEN 2 3- DEN 3 4- DEN 4		
	Histopatologia 40 Resultado 1- Positivo 2- Negativo 3- Inconclusivo 4 - Não realizado			Imunohistoquímica 41 Resultado 1 - Positivo 2 - Negativo 3 - Inconclusivo 4 - Não realizado			
	42 Classificação Final 1 - Dengue Clássico 2 - Dengue com Complicações 3 - Febre Hemorrágica do Dengue - FHD 4 - Síndrome do Choque da Dengue - SCD 5- Descartado				43 Critério de Confirmação/Descarte 1 - Laboratório 2 - Clínico-Epidemiológico		
Conclusão	Os casos de dengue com complicações, FHD e SCD: preencher a página seguinte.						
	Local Provável de Infecção (no período de 15 dias)						
	44 O caso é autóctone do município de residência? 1-Sim 2-Não 3-Indeterminado				45 UF	46 País	
	47 Município		Código (IBGE)		48 Distrito	49 Bairro	
	50 Doença Relacionada ao Trabalho 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado			51 Evolução do Caso 1-Cura 2- Óbito por dengue 3- Óbito por outras causas 9- Ignorado			
52 Data do Óbito			53 Data do Encerramento				

**ANEXO B – CARTA DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL**



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 1144 do Pesquisador Roberto Dias de Oliveira intitulado “Dinâmica de Circulação dos Vírus Dengue em Dourados/MS: um estudo sentinela”, 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. Odair Pimentel Martins

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMS

Campo Grande, 30 de abril de 2008.

Comitê de Ética da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
<http://www.propp.ufms.br/bioetica/cep/>
bioetica@propp.ufms.br
fone 0XX67 345-7187