

EXAMES LABORATORIAIS PARA O DIAGNÓSTICO E ACOMPANHAMENTO DA DENGUE

VANESSA APARECIDA SOARES¹
TATIANE FERREIRA PETRONI²
LAIS ANAHI DE PAULA SOUZA²
MARIA ANGELINA DA SILVA ZUQUE²

¹Discente Biomedicina FITL-AEMS

²Docente Biomedicina FITL-AEMS

RESUMO

A dengue é hoje a arbovirose mais importante do mundo. Cerca de 2,5 bilhões de pessoas encontram-se sob o risco de se infectarem, particularmente em países tropicais onde a temperatura e a umidade favorecem a proliferação do vetor. Entre as doenças re-emergentes é a que se constitui em problema mais grave de saúde pública. Por ser o Brasil, e em especial o estado de Mato Grosso do Sul área endêmica para a doença, este trabalho teve como objetivo caracterizar a dengue e apresentar os exames laboratoriais de escolha para diagnóstico e acompanhamento dos suspeitos de dengue.

Palavras-chave: Dengue, Diagnóstico, Revisão

INTRODUÇÃO

A Dengue é causada por um arbovírus, do gênero *Flavivirus*, o qual é subdividido em quatro sorotipos, Den 1, Den 2, Den 3 e Den 4. É transmitida pela inoculação do vírus, através da picada do mosquito fêmea do *Aedes aegypti*; que é o único vetor reconhecido pelos órgãos de saúde pública como transmissor da doença (BARROS et al. 2008).

O mosquito adquire o vírus através da picada de um ser infectado e o retransmite ao hospedeiro, principalmente o homem. O período de incubação do vírus no vetor varia de 8 a 12 dias e no hospedeiro de 5 a 6 dias. É uma doença de fácil disseminação quando não há controle da reprodução do vetor (TAUIL, 2002).

A dengue é uma enfermidade infecciosa aguda, com grande importância para regiões tropicais e subtropicais. Apresenta amplo espectro clínico variando de quadros assintomáticos a quadros mais graves, com hemorragias e/ou choques anafiláticos. Existem três formas reconhecidas da doença: assintomática, clássica e hemorrágica (BOAS et al. 2011).

No Brasil, no ano de 2010, somente até o início de Julho foram notificados 942.153 casos da doença no país. No mesmo período do ano anterior foram notificados 593.669 casos, o que representa um aumento de 58,7%. Os estados com maior número de casos foram o Acre, Mato Grosso do Sul, Goiás, Rondônia, Roraima e Mato Grosso. Estes 8 estados concentram 75% dos casos no país (OLIVEIRA e cols, 2011).

O diagnóstico da dengue em alguns locais onde a doença é endêmica é apenas clínico, pois na maioria das vezes, não apresentam infra-estrutura física e nem profissionais qualificados para a execução dos testes para o diagnóstico laboratorial (OLIVEIRA e cols, 2011). No entanto, o diagnóstico clínico não confirma a infecção, pois outras viroses cursam com os mesmos sintomas. Assim, o diagnóstico laboratorial é útil para o acompanhamento do paciente com suspeita de dengue e para a confirmação da infecção para fins epidemiológicos.

Com isto, este trabalho teve como objetivo caracterizar a dengue e apresentar os exames laboratoriais utilizados no diagnóstico da doença a fim de trazer mais conhecimento aos profissionais da área da saúde onde a doença é endêmica.

DESENVOLVIMENTO

A dengue é hoje um sério problema de saúde pública no Brasil, principalmente em função do crescente número de casos observados ano a ano, nas últimas décadas, pelo Ministério da Saúde (BARROS et al, 2008).

Em termos de saúde pública atual, o foco das campanhas publicitárias de conscientização do Governo, juntamente com o Ministério da Saúde, titulam a dengue como uma das maiores epidemias do final do século XX e início do século XXI. As condições climáticas tropicais, socio-ambientais e ecológicas contribuem

significativamente para o aumento exponencial do vetor *Aedes aegypti* e incidência de casos (CÂMARA et al. 2007).

A dengue é uma arbovirose transmitida ao homem pela picada do mosquito *Aedes aegypti*, o qual pica durante o dia e tem preferência acentuada por sangue humano. Tem como base fisiopatológica uma resposta imune anômala envolvendo leucócitos, citocinas e imunocomplexos, causando aumento na permeabilidade dos vasos por má função vascular endotelial (mas sem destruição do endotélio); extravasamento de líquidos para o interstício, causando queda de tensão arterial; e manifestações hemorrágicas associadas à trombocitopenia. Consequentemente ocorre hemoconcentração com redução da volemia, má perfusão tissular, hipóxia e acidose láctica (VAZ, A.J., 2010).

São fatores de risco para os casos graves: a cepa do sorotipo do vírus infectante, o estado imunitário e genético do paciente, a concomitância com outras doenças e a infecção prévia por outro sorotipo viral da doença (FIGUEIREDO & FONSECA, 1966; PINHEIRO & TRAVASSOS-DA-ROSA, 1996).

Não existe imunidade cruzada, isto é, a infecção por um dos sorotipos só confere imunidade permanente, ou no mínimo duradoura, para aquele sorotipo. É possível que haja uma imunidade cruzada transitória, de curta duração, entre os diferentes sorotipos (TAUIL, 2001).

Clinicamente, a infecção se apresenta como infecção inaparente, dengue clássico (DC), febre hemorrágica do dengue (FHD) e síndrome do choque do dengue (SCD), que pode evoluir para a morte (VAZ, A.J., 2010).

A dengue clássica, relativamente benigna, segundo informações da Fundação Nacional de Saúde, inicia-se com uma febre, geralmente alta (39 a 40°C), de início abrupto, associada a cefaléia, prostração, mialgia, artralgia, dor retroorbitária, exantema maculopapular acompanhado ou não de prurido. Anorexia, náuseas, vômitos e diarreia podem ser observados. No final do período febril podem surgir manifestações hemorrágicas como epistaxe, petéquias, gengivorragia, metrorragia e outros. Em casos mais raros podem existir sangramentos maiores como hematêmese, melena ou hematúria (VAZ, A.J., 2010). Os parâmetros laboratoriais geralmente são normais, exceto pela contagem de plaquetas, que pode estar diminuída (por volta de

100.000/mm³), e pelos níveis das enzimas hepáticas séricas (alanina aminotransferase em particular), que podem estar elevados, raramente ultrapassando a concentração de 100UI/ml (KAUTNER et al, 1997). A recuperação acontece geralmente entre sete e dez dias.

Segundo o Centro de Vigilância Epidemiológica da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, “A Febre Hemorrágica do Dengue/Síndrome do Choque do Dengue-FHD/SCD tem sintomas semelhantes aos do dengue clássico”. No início do quadro clínico, porém evolui com tendências a hemorragias, dores abdominais intensas, palidez cutânea, pele pegajosa e fria, sonolência, dificuldade respiratória, pulso rápido e fraco, podendo levar o paciente ao choque e à morte (VAZ, A.J., 2010). A investigação laboratorial da dengue hemorrágica revela trombocitopenia que pode chegar a menos de 20.000 plaquetas/mm³, hemoconcentração com hematócritos aumentados em até 20% ou mais, hipoalbuminemia e elevação moderada na dosagem de aminotransferases e uréia séricas. Os tempos de tromboplastina parcial (TTP) e de trombina (TT) podem estar aumentados. As dosagens de fibrinogênio e de proteínas do complemento normalmente apresentam-se diminuídas e correlacionam-se com a severidade da doença (CHEN et al, 2007).

Na dengue, a reinfecção pode ocorrer se o indivíduo for infectado com uma cepa viral de um outro sorotipo. No entanto, imunidade cruzada entre os sorotipos pode existir temporariamente. No Brasil, o Centro de Vigilância Epidemiológica do Ministério da Saúde determina a notificação compulsória de todos os casos de dengue (VAZ. A.J., 2010)

O diagnóstico do paciente com suspeita de dengue baseia-se no quadro clínico do paciente, epidemiologia e exames laboratoriais (OLIVEIRA e cols, 2011).

Nos tempos atuais, na maioria dos países em que a prevalência das infecções pelo vírus da dengue é importante, grande parte dos diagnósticos de dengue ainda são feitos com base no julgamento clínico, uma vez que nem todas localidades contam com a existência de laboratórios para a confirmação dos casos ou, que é ainda mais preocupante, não contam com laboratórios clínicos que estejam aptos a realizar testes confirmatórios (OLIVEIRA e cols, 2011). No entanto, o diagnóstico clínico não confirma a infecção, pois outras viroses cursam com os mesmos sintomas. Com isto, o uso de

exames laboratoriais faz-se necessário para o acompanhamento do paciente com suspeita de dengue e para confirmação da infecção.

Dentre os exames laboratoriais incluem-se os Exames Inespecíficos, tais como Hemograma, Coagulograma, Provas de função hepática e Dosagem de albumina sérica; E os Exames Específicos, como Teste de isolamento viral e Testes sorológicos para pesquisa de anticorpos específicos (BARROS et al. 2008).

Em área endêmica, quando há o aparecimento de sintomas clássicos da doença, o hemograma é o exame inespecífico utilizado para triagem e acompanhamento do quadro clínico do paciente. Das alterações encontradas no hemograma, ocorre Leucopenia variável, com leucócitos abaixo de $4000/\text{mm}^3$; linfocitose relativa (60-80%) com presença de linfócitos atípicos; trombocitopenia intensa e elevação do hematócrito na dengue hemorrágica. Há alterações nos testes de TP e TTPA; aumento de uréia e creatinina, e diminuição do complemento C3.

A prova do laço (PL) deve ser realizada obrigatoriamente em todos os casos suspeitos de dengue durante o exame físico. A PL é importante para triagem do paciente suspeito de dengue, pois pode ser a única manifestação hemorrágica de casos complicados ou de FHD, podendo representar a presença de plaquetopenia ou de fragilidade capilar (BRASIL, 2005)

Dos exames específicos, são os testes sorológicos para pesquisa de anticorpos os mais rápidos e utilizados (BARROS et al, 2008).

A detecção de anticorpos é a mais empregada para fins de diagnóstico e pode ser feita por várias metodologias, como a Inibição da Hemaglutinação (IHA), Fixação do Complemento (RFC), Neutralização, ELISA por captura de IgM e ELISA IgG. Atualmente, ELISA é o teste mais empregado na rotina diagnóstica devido à sua alta sensibilidade e praticidade, mas exibe uma reatividade cruzada entre os 4 sorotipos, não permitindo a identificação do sorotipo responsável pela infecção (VAZ, A.J., 2010).

Anticorpos IgM são, em geral, detectáveis a partir do 5º ao 6º dia do início dos sintomas da doença. Os títulos dos anticorpos IgM são mais altos nos casos de infecção primária, podendo aparecer também nas reinfecções em níveis baixos e transitórios (VAZ). Anticorpos IgG aparecem um ou dois dias após as IgM, e geralmente

permanecem em níveis detectáveis pelo resto da vida, conferindo imunidade permanente para o sorotipo específico (BACELO, K.L., 2006; SALGADO et al., 2007).

O isolamento do vírus pode ser feito orientado pela Vigilância Epidemiológica com o objetivo de monitorar os sorotipos circulantes; o período de viremia é de 6 dias, e a amostra de sangue deve ser colhida até o 5º dia após o início dos sintomas (VAZ, A.J., 2010). Os vírus da dengue são termolábeis, portanto deve-se tomar cuidado na manipulação das amostras destinadas ao isolamento viral, tanto em relação ao próprio manuseio, quanto com relação ao tempo de entrega e processamento da amostra no laboratório (BARROS). A inoculação das amostras em mosquitos é o sistema mais sensível para o isolamento dos DEN, podendo ser usados larvas ou mosquitos adultos. A prática de inoculação viral em mosquitos requer bastante perícia técnica, e por isso, na maioria das vezes, é preferível realizar-se o isolamento em cultura de células para a rotina laboratorial. As linhagens celulares utilizadas também são provenientes de mosquitos e mostram-se bastante eficazes no isolamento viral (BARROS).

A identificação de cepa viral isolada é geralmente feita através de técnicas de imunofluorescência (IF) utilizando anticorpos monoclonais anti-dengue sorotipo-específicos sobre as células em cultura. Em geral, as amostras são testadas com anticorpos policlonais como triagem, e sendo positivas, são confirmadas utilizando-se anticorpos monoclonais específicos para cada um dos quatro sorotipos da dengue (OLIVEIRA e cols, 2011).

A Reação em cadeia da polimerase (PCR) apresenta vantagens consideráveis como ferramenta para diagnóstico da dengue. A amplificação do DNA é precedida por uma reação de transcrição reversa para produção de DNA complementar (cDNA) ao RNA genômico viral. Vários protocolos utilizam uma combinação de “primers” ou iniciadores específicos para os quatro sorotipos do DEN ao mesmo tempo. Esses primers podem se anelar em diferentes regiões do cDNA viral, como por exemplo, nas regiões NS1, E, prM e NS5 (BARKHAM et al, 2006). O uso da PCR permite a detecção do vírus da dengue em amostras estocadas por longos períodos (ALVAREZ et al, 1996), permite a vigilância entomológica, ou seja, o controle das espécies de mosquitos vetores que estão participando da transmissão do vírus (KOW et al, 2001); permite a identificação dos sorotipos responsáveis por um dado foco de infecção (McBRIDE et al,

1998) e permite estudar a variabilidade genética das cepas com o objetivo de identificar a origem das epidemias e revelar marcadores de virulência, quando conciliado com sequenciamento de nucleotídeos.

Não há tratamento específico para a dengue, o que a torna eminentemente sintomática ou preventiva das possíveis complicações. As drogas antivirais, o interferon alfa e a gamaglobulina, testadas até o momento, não apresentaram resultados satisfatórios que subsidiem sua indicação terapêutica (BRASIL, 2005). Desta forma a terapia adotada constitui apenas hidratação por via oral ou intravenosa (este em quadros graves) (BOAS et al. 2011).

Não se dispõe ainda de uma vacina eficaz para uso preventivo contra a doença, apesar de todos os esforços de pesquisa para produção e desenvolvimento. Enquanto não se puder contar com esta medida de controle, o único elo vulnerável da cadeia epidemiológica é o vetor. A luta contra os mosquitos vetores deve estar orientada para: a eliminação dos seus criadouros potenciais, que consistem em recipientes artificiais de água, como pneus usados expostos ao ar, depósitos de ferro velho descobertos, latas, garrafas e plásticos abandonados; e limpeza de terrenos baldios; aplicação de larvicida em depósitos de água de consumo, uso de inseticida para as formas adultas do mosquito, durante o período de transmissão (TAUIL, 2001).

É importante a incorporação de determinados hábitos no cotidiano das populações, como evitar potenciais reservatórios de água em quintais, troca periódica da água de plantas aquáticas, e manutenção de piscinas com água tratada (TAUIL, 2001)

Tauil (2002) sugere que o governo precisa estabelecer parâmetros de controle, objetivos e medidas de prevenção, além de reunir conhecimentos técnico-científicos para o combate da epidemia no país.

Considerando a magnitude da doença, sua alta incidência no país, ausência de vacina para sua prevenção, sua transmissão por vetor, e as dificuldades para o seu controle é necessário o investimento do governo nos laboratórios públicos municipais para a realização dos exames confirmatórios e para acompanhamento dos casos possibilitando o tratamento adequado precocemente principalmente nos casos de complicação da doença.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVAREZ et al. 1996. Secuenciación directa a partir de un producto de PCR de una muestra de suero de la epidemia de FHD de 1981. In: OLIVEIRA et al. Diagnóstico Laboratorial da dengue: Situação atual e perspectivas. RBAC, vol 43 (2): 125-130, 2011.

BACELO KL. Dengue: Aspectos clínicos, epidemiológicos e diagnósticos da infecção e avaliação dos resultados das sorologias para dengue solicitadas ao Laboratório Santa Rosa no período de 01/11/02 a 28/02/03. Laes & Haes. 2006; 27(158):256-78.

BARKHAM et al, 2006. The performance of RT-PCR compared with a serological assay for acute dengue fever in a diagnostic laboratory. In: OLIVEIRA et al. Diagnóstico Laboratorial da dengue: Situação atual e perspectivas. RBAC, vol 43 (2): 125-130, 2011.

BARROS, L.P.S et al. Análise crítica dos achados hematológicos e sorológicos de pacientes com suspeita de Dengue. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 30(5): 363-366, 2008.

BRASIL. Dengue : diagnóstico e manejo clínico. 2. ed. , Brasília, Ministério da Saúde, 2005.

CÂMARA et al. 2007. Estudo retrospectivo (histórico) da dengue no Brasil: características regionais e dinâmicas. In: BARROS, L.P.S et al. Análise crítica dos achados hematológicos e sorológicos de pacientes com suspeita de Dengue. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 30(5): 363-366, 2008.

CHEN et al, 2007. Different clinical and laboratory manifestations between dengue haemorrhagic fever and dengue fever with bleeding tendency. In: OLIVEIRA et al. Diagnóstico Laboratorial da dengue: Situação atual e perspectivas. RBAC, vol 43 (2): 125-130, 2011.

FIGUEIREDO, L. T. M. & FONSECA, B. A. L., 1966. Dengue. In: *Tratado de Infectologia* (R. Veronesi & R. Focacia, org.), pp. 201-214, São Paulo: Editora Atheneu.

KAUTNER, I.; ROBINSON, M.J.; KUHNLE, U. Dengue virus infection: Epidemiology, pathogenesis, clinical presentation, diagnosis and prevention. In: OLIVEIRA, A. S. de et al. Diagnóstico Laboratorial da dengue: Situação atual e perspectivas. RBAC, vol 43 (2): 125-130, 2011.

KOW, C.Y.; KOON, L.L.; YIN, P.F. 2001. Detection of dengue viruses in field caught male *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Singapore by type-

specific PCR. In: OLIVEIRA et al. Diagnóstico Laboratorial da dengue: Situação atual e perspectivas. RBAC, vol 43 (2): 125-130, 2011.

McBRIDE et al, 1998. Determinants of Dengue 2 infections among residents of Charters Towers, Queensland, Australia. In: OLIVEIRA et al. Diagnóstico Laboratorial da dengue: Situação atual e perspectivas. RBAC, vol 43 (2): 125-130, 2011.

OLIVEIRA, A. S. de et al. Diagnóstico Laboratorial da dengue: Situação atual e perspectivas. RBAC, vol 43 (2): 125-130, 2011.

PINHEIRO, F. P. & TRAVASSOS-DA-ROSA, J. F. S., 1996. Febres hemorrágicas viróticas. Febre hemorrágica do dengue. In: *Tratado de Infectologia* (R. Veronesi & R. Focacia, org.), pp. 258-263, São Paulo: Editora Atheneu.

SALGADO DM, RODRÍGUEZ JA, GARZÓN M, CIFUENTES G, IBARRA M, VEJA MR, et al. Caracterización clínica y epidemiológica de dengue hemorrágico en Neiva, Colombia, 2004. Rev Salud Public. 2007; 9(1):53-63.

TAUIL, P.L. Urbanização e ecologia do dengue. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 17(Suplemento):99-102, 2001.

TAUIL, P.L. Aspectos críticos do controle do dengue no Brasil. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 18(3):867-871, mai-jun, 2002.

VAZ, A.J., TAKEI, K.; BUENO, E.C. Imunoensaios: Fundamentos e Aplicações. pp. 213. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2010.