

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA DENGUE

LABORATORIAL DIAGNOSTIC OF DENGUE

AMABILE VISIOTI BIASSOTI¹, MARIANA APARECIDA LOPES ORTIZ^{2*}

1. Acadêmica do Curso de Graduação em Farmácia do Centro Universitário Ingá – Uningá, Maringá, Paraná; 2. Docente do Curso de Graduação em Farmácia do Centro Universitário Ingá – Uningá, Maringá, Paraná

* Rodovia PR 317, 6114, Saida para Astorga. Maringá, Paraná, Brasil, CEP: 87035-510. prof.marianaortiz@uninga.edu.br

Recebido em 12/10/2016. Aceito para publicação em 16/12/2016

RESUMO

Nas últimas décadas a dengue tornou-se a mais importante arbovirose em termos de morbidade e mortalidade, afetando milhões de pessoas, especialmente em países tropicais, onde as condições ambientais favorecem a proliferação do mosquito vetor. Como ainda não existem vacinas e os sintomas são semelhantes aos de outras doenças, o diagnóstico rápido e confiável constitui-se como fator primordial ao tratamento e controle de epidemias. Nesse contexto, objetivou-se via revisão da literatura, abordar o Diagnóstico Laboratorial de Dengue. O levantamento evidenciou que no Brasil, para diagnóstico da dengue são empregados exames inespecíficos, como a “prova do laço” e o hemograma e, exames específicos, como a sorologia e o NS1 via isolamento viral e identificação de anticorpos. Concluiu-se que o desenvolvimento continuado de testes diagnósticos específicos, de fácil execução e baixo custo, capazes de proporcionar análises precoces da infecção viral, constitui-se como uma prioridade à prevenção das formas graves da doença e mortalidade.

PALAVRAS-CHAVE: *Aedes aegypti*, prevenção e controle, saúde pública.

ABSTRACT

In recent decades, dengue has become one of the most important arboviral diseases in terms of morbidity and mortality, affecting millions of people, especially in tropical countries, where environmental conditions favor the proliferation of the vector insect. As no vaccines were created yet, and the symptoms are quite similar to other diseases, the rapid and reliable diagnosis is of utmost importance to the treatment and control of epidemics. In this context, this literature review aimed to address the Dengue Laboratorial Diagnosis. This survey showed that in Brazil, are employed non-specific tests such as "tourniquet test" and CBC, and specific tests such as serology and NS1 via viral isolation, and identification of antibodies. In conclusion, the continued development of specific diagnostic tests, easy to perform and inexpensive, capable of providing early analysis of viral infection, is an established priority to the prevention of severe forms of the disease, morbidity and mortality.

KEYWORDS: *Aedes aegypti*, prevention and control, public health.

1. INTRODUÇÃO

A dengue constitui-se a mais importante arbovirose que afeta a espécie humana no continente americano¹. Caracteriza-se como uma doença infecciosa febril aguda, de etiologia viral e de evolução benigna, na maioria dos casos, podendo apresentar duas formas clínicas: Dengue Clássica e Febre Hemorrágica da Dengue/Síndrome do Choque da Dengue². É causada pelo arbovírus, do gênero *flavivirus*, família *flaviviridae*, transmitido pela picada do mosquito *Aedes aegypti* ou *albopictus* que costumam se proliferar em águas sem vazão³. Conforme enfatizam Oliveira e Santos (2012)⁴, os mosquitos do gênero *Aedes* são artrópodes que necessitam de sangue para realizar a reprodução e que apresentam grande atividade em ambientes de clima quente e úmido, “como o ser humano em geral propicia condições para a reprodução do mosquito quando disponibiliza recipientes que podem acumular água e se tornarem criadouros, ele acaba se tornando a maior vítima de suas picadas”⁵.

Milani (2012)⁶ explica que a dengue se constitui na virose humana mais difundida no mundo, pois com exceção da Europa, ocorre em todos os continentes tropicais e subtropicais que possibilitam o desenvolvimento do seu vetor⁶. Assim, com a inexistência de vacina eficaz, a transmissão da doença só pode ser reduzida por meio do controle populacional do mosquito.

O *Aedes aegypti* apresenta um ciclo de vida de 45 a 60 dias, da fase de ovo até a sua morte na fase de mosquito, a qual dura de 36 a 47 dias⁷. Quando um indivíduo está infectado pelo vírus da dengue e o mosquito se alimenta com seu sangue, este se infecta, passando por um período de latência, no qual o mosquito está contaminado, mas não transmite a doença, com duração de 3 a 15 dias, após este período passa a contaminar outros indivíduos dos quais venha a se alimentar. Nos humanos o período de latência varia de 5 a 8 dias. O vírus se desenvolve e apresenta a sintomatologia da doença apenas no ser humano⁷. Atualmente, o *Aedes aegypti* é considerado problema de saúde pública, visto que além do vírus da dengue, “é transmissor da Febre Chikungunya e Febre Zika sendo que a primeira está relatada em 55 países

e territórios do continente americano e a segunda em 18 países ou territórios do mesmo continente, ambas com complicações e sequelas importantes pós infecção”⁸.

Atualmente são conhecidos quatro diferentes sorotipos do vírus da dengue: DEN-1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4. “O ser humano ao ser infectado por um destes quatro tipos de microorganismos desenvolve a dengue e, ao curar-se está protegido para o resto da vida. Isto ocorre graças à produção de defesa específica, porém a proteção não se dá para os outros tipos”⁶. Pompeo (2016)⁸ explica que esse fato ocorre em virtude de os sorotipos do vírus serem “sorologicamente relacionados, porém, antigenicamente distintos, fato que “confere imunidade homóloga permanente e heteróloga transitória, por um período de dois a três meses”⁸.

A dengue apresenta espectro clínico amplo que vai de formas oligossintomáticas até quadros graves com hemorragia e choque, podendo evoluir para óbito⁸, sendo os principais sintomas: febre associada à cefaleia, artralgias, dor retro-orbitária com presença ou não de prurido, outros sintomas como vômito, náuseas e diarreia podem se apresentar durante seis dias após a contaminação. Os casos mais simples com quadro clínico estável e poucas complicações tendem a uma recuperação de até duas semanas, já outros casos podem apresentar hemorragia em algumas partes do corpo o que torna a doença mais perigosa e letal³. Alguns sinais indicam uma possível alteração para as formas mais graves da doença, sendo estes denominados de sinais de alarme: dor abdominal intensa e contínua, vômitos persistentes, hipotensão, hepatomegalia, hemorragias importantes como a hematêmese e/ou melena, sonolência e irritabilidade, diminuição da diurese, aumento do hematócrito, queda abrupta de plaquetas, desconforto respiratório e diminuição da temperatura corpórea⁸.

As primeiras descrições da doença foram registradas na enciclopédia chinesa por volta de 265-420 d.C., sendo o vírus isolado no Japão em 1943 e em Calcutá em 1944⁹. As primeiras grandes epidemias de dengue foram relatadas nos continentes asiático, africano e americano entre os anos de 1779 e 1780 e a primeira epidemia de dengue hemorrágica em 1953, nas Filipinas¹⁰. No Brasil, há referências da doença desde o século XIX, com relatos de epidemias em Niterói, em 1923 e em São Paulo (capital) em 1946, sem a confirmação laboratorial. A primeira epidemia, laboratorialmente diagnosticada, ocorreu em 1981 em Roraima, na cidade de Boa Vista, pelos sorotipos DEN1 e DEN4¹⁰.

De acordo com informações disponibilizadas pelo Ministério da Saúde (2016), em 2015 foram registrados 1.649.008 casos de dengue no país, sendo 1.026.226 casos (62,2%) na região sudeste, 311.519 casos (18,9%) na região nordeste, 220.966 casos (13,4%) na região centro-oeste, 56.187 casos (3,4%) na região sul e 34.110 casos (2,1%) na região norte. Nesse período foram des-

cartados, por meio de diagnóstico laboratorial, 600.432 casos suspeitos de dengue no país¹¹.

Nesse contexto, o diagnóstico laboratorial da dengue torna-se muito importante, visto que diversas doenças febris agudas e exantemáticas apresentam diagnóstico clínico semelhante e podem ser confundidas com a infecção, como é o caso da leptospirose, malária, rubéola, influenza, febre maculosa brasileira e síndrome pulmonar por antavírus.

Nesse contexto, o objetivo desta revisão da literatura foi abordar o Diagnóstico Laboratorial de Dengue utilizado em nosso país.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido através de revisão bibliográfica do tipo exploratória descritiva, baseada em pesquisa de livros e artigos científicos disponibilizados nas bases de dados SciELO (*Scientific Electronic Library onLine*) e LILACS (Literatura Latino Americana e do Caribe em Ciências da Saúde).

5. DESENVOLVIMENTO

O diagnóstico da dengue em humanos é feito com base em dados clínicos, epidemiológicos e laboratoriais, empregando-se para este último, exames inespecíficos, como o hemograma e prova do laço, e exames específicos direcionados ao isolamento viral e sorológicos para pesquisa de anticorpos¹²

Hemograma

Configura-se como o primeiro e principal exame inespecífico, mostrando leucopenia, por vezes intensa, com contagens inferiores a $2,0 \times 10^9/l$ leucócitos; neutropenia com presença de linfócitos atípicos e trombocitopenia, com valores abaixo de $100 \times 10^9/l$ plaquetas¹². “Através do hemograma, observa-se uma neutropenia com linfocitose atípica e trombocitopenia, enquanto, na bioquímica as alterações enzimáticas hepáticas apresentam-se elevadas, sendo que em alguns pacientes o acometimento hepático pode ser fatal”¹³. Todavia, na dengue, o padrão de distribuição do leucograma é variável e apesar da leucopenia e linfocitose esperadas, a leucocitose não afasta a doença e na evolução, podem ocorrer hemoconcentração e plaquetopenia, principalmente no declínio da febre¹⁴.

Sorologia

Dentre os exames específicos, os testes sorológicos para pesquisa de anticorpos configuram-se como os mais rápidos e mais utilizados. Existem várias técnicas, sendo a *Immunoglobulin M Capture –Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay* (MAC-ELISA) o método mais recomendado em virtude de detectar infecções atuais ou

recentes¹⁴, baseando-se na detecção de imunoglobulina M (IgM) para o vírus. A detecção dos anticorpos IgM do vírus da dengue constitui-se de extrema importância, para o diagnóstico de casos suspeitos. Conforme descrito, os anticorpos da classe IgM podem ser detectados a partir do sexto dia do início dos sintomas, embora em infecções secundárias (situação em que já houve uma infecção por outro sorotipo anteriormente) sua detecção possa ocorrer a partir do segundo ou terceiro dia, permanecendo em média por 90 dias¹⁴. As imunoglobulinas 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.

NS1

O teste NS1 permite a detecção qualitativa da proteína NS1 do vírus da dengue no soro ou no plasma humano. É um teste descartável, que utiliza imunocromatografia de fluxo lateral. Segundo as recomendações do fabricante, deposita-se 50 µl do soro do paciente em um tubo de vidro utilizando-se um conta gotas, e em seguida, adiciona-se ao soro uma gota de tampão de migração e insere-se uma fita de indicação no tubo, na posição vertical. A fita deve permanecer no tubo por 15 minutos e posteriormente realizar-se a interpretação do resultado¹⁴.

Prova do Laço

Como método para identificação da dengue a prova de laço é realizada da seguinte maneira: desenha-se no antebraço do paciente um quadrado com 2,5 cm de lado; em seguida verifica-se a pressão arterial do paciente e calcula-se o valor médio (pressão arterial sistólica + pressão arterial diastólica dividido por dois). Logo em seguida o manguito deve ser insuflado até o valor médio e mantido por cinco minutos. Posteriormente a este período, realiza-se a contagem de petéquias que apareceram no quadrado desenhado. Se ocorrer o surgimento de vinte petéquias ou mais, considera-se como positiva a prova de laço⁴.

Critérios e procedimentos clínico-epidemiológicos

O Ministério da Saúde, com intuito de evitar o retardo no diagnóstico de formas graves da doença e no seu tratamento, propõe que, com base no exame físico inicial, todo paciente com suspeita de dengue seja dividido em quatro grupos, orientando a conduta a ser adotada em cada situação⁴:

Grupo A: Casos suspeitos de dengue com prova de laço negativa, sem manifestações hemorrágicas espontâneas e sem sinais de alarme. Neste grupo recomenda-se a coleta de hemograma, que deve ser feita no mesmo dia e o resultado poderá ser analisado pelos profissionais em até 24 horas. O tratamento inicial consiste em hidratação

oral com volume de 60 a 80ml/Kg/dia, sendo 1/3 desse volume com soro de reidratação oral e os 2/3 restantes com líquidos caseiros como água, suco de frutas, chás, entre outros, e sintomáticos como analgésicos, antitérmicos, antieméticos e anti-histamínicos, não devendo ser usados salicilatos e anti-inflamatórios não hormonais em virtude ao risco de sangramento. O paciente deverá ser orientado a retornar ao posto de saúde para nova avaliação assim que ocorra febre ou imediatamente caso apareçam sinais de alarme;

Grupo B: Casos suspeitos de dengue com prova de laço positiva ou manifestações hemorrágicas espontâneas, sem repercussões hemodinâmicas e sinais de alarme ausentes. Neste grupo recomenda-se a coleta de hemograma, que deve ser feita de imediato. O paciente deve ser orientado a permanecer no posto de saúde para receber a hidratação oral e sintomáticos como descrito no grupo A, até que se obtenha o resultado do hemograma, que levará a três situações: a) hemograma normal: o paciente poderá ser liberado para tratamento ambulatorial que deverá ser conduzido igual ao do paciente do grupo A; b) caso seja verificado hematócrito aumentado em até 10% acima do valor basal (ou, na ausência deste, hematócrito entre 40-44 para mulheres e 45-50 para homens) e/ou plaquetopenia entre 50-100.000/mm³ e/ou leucopenia <1.000 células/mm³: o tratamento também poderá ser ambulatorial, mas deverá ser feita hidratação oral vigorosa, com 80ml/Kg/dia, além de sintomáticos. Esse paciente deverá retornar para reavaliação clínico-laboratorial em 24 horas, ou antes, se surgirem sinais de alarme e, nesse retorno, deverá ser re-estadiado; c) caso seja verificado hematócrito aumentado em mais de 10% acima do valor basal (ou, na ausência deste hematócrito acima de 44% para mulheres e acima de 50% para homens) e/ou plaquetopenia <50.000/mm³: o paciente deverá ficar em observação por um período mínimo de 6 horas. Nesse período, realizar hidratação oral supervisionada ou parenteral, com infusão de 1/3 do volume calculado para 80ml/Kg/dia na forma de solução salina. Após isso, reavaliar o hematócrito. Se estiver normal, tratamento ambulatorial com hidratação oral vigorosa e retorno para reavaliação clínico-laboratorial em 24 horas. Se a resposta for inadequada, deve-se repetir a conduta e avaliar necessidade de internação hospitalar. “Se surgirem sinais de alarme ou aumento do hematócrito na vigência de hidratação adequada, é indicada a internação hospitalar. Pacientes com plaquetopenia <20.000/mm³, mesmo sem repercussão clínica, devem ser internados e reavaliados clínica e laboratorialmente a cada 12 horas”⁴.

Grupo C: Casos suspeitos de dengue com presença de algum sinal de alarme, podendo as manifestações hemorrágicas estarem presentes ou ausentes. Nesse grupo constitui-se como procedimento obrigatório a coleta de hemograma e de tipagem sanguínea, dosagem de albumina sérica e radiografia de tórax. Outros exames podem

ser avaliados conforme a necessidade, como glicose, ureia, creatinina, eletrólitos, transaminases, gasometria arterial, ultrassonografia de abdome e de tórax. Os pacientes deverão permanecer sob supervisão médica por um período mínimo de 24 horas. Deve ser iniciada imediatamente a hidratação endovenosa, com 25ml/Kg de solução fisiológica ou ringer lactato em 4 horas, que posteriormente deverá ser reavaliada. Se houver melhora clínica e laboratorial, deve-se iniciar a etapa de manutenção, administrando inicialmente 25ml/Kg em 8 horas e depois o mesmo volume em 12 horas. Se a resposta for inadequada, repetir conduta inicial, o que pode ser feito por até três vezes, reavaliando-se ao final de cada etapa. Caso a resposta persista insatisfatória o paciente deverá ser tratado como pertencente ao grupo D;

Grupo D: Casos suspeitos de dengue apresentando pressão arterial convergente, hipotensão arterial ou choque e manifestações hemorrágicas presentes ou ausentes. Os exames laboratoriais são os mesmos indicados aos pacientes do grupo C, devendo os pacientes permanecer sob cuidados médicos por no mínimo 24 horas. Deve-se iniciar hidratação parenteral com solução salina isotônica (20ml/Kg em até 20 minutos) imediatamente e, caso considerado necessário, deve ser repetido por até três vezes. Deve ser feita reavaliação clínica a cada 15-30 minutos e colhido hematócrito após 2 horas do início do tratamento. Caso ocorra melhora clínica (normalização da pressão arterial, do débito urinário, pulso e respiração), o paciente deve ser tratado como no grupo C, sendo iniciada a etapa de manutenção da hidratação. Se a resposta for inadequada, avaliar a hemoconcentração: a) Hematócrito elevado e choque, após a hidratação adequada: utilizar expansores plasmáticos (colóides sintéticos – 10ml/Kg/h e, na falta deste, fazer albumina – 3ml/Kg/h); b) Hematócrito em queda e choque: investigar hemorragias (e transfundir concentrado de hemácias, se necessário); coagulopatia de consumo e hiper-hidratação (tratando com diuréticos, caso avalie-se como necessário). Em ambos os casos, se a resposta for inadequada, o paciente deve ser encaminhado para a unidade de terapia intensiva. Todavia, não se deve realizar transfusão de concentrado de plaquetas apenas baseado na contagem plaquetária, “já que a plaquetopenia ocorre principalmente por destruição periférica, e as plaquetas recebidas pelo paciente seriam destruídas em curto prazo. Ela poderá ser indicada se houver plaquetas $<50.000/\text{mm}^3$ com suspeita de sangramento do sistema nervoso central e em casos de plaquetas $<20.000/\text{mm}^3$ na presença de sangramentos importantes”¹². Nesses casos, as plaquetas são transfundidas para tamponamento no local de sangramento e não para aumentar a contagem plaquetária. Com a resolução do choque, há reabsorção do plasma extravasado com queda adicional do hematócrito, mesmo com suspensão da hidratação parenteral. Essa reabsorção po-

derá causar hipervolemia, edema pulmonar ou insuficiência cardíaca, requerendo vigilância clínica redobrada.

3. CONCLUSÃO

O diagnóstico preciso da dengue configura-se como fator primordial para o tratamento clínico dos pacientes, diferenciação perante outras infecções e para controle das formas mais graves da doença. Atualmente existem diversas técnicas que possibilitam a confirmação da infecção por dengue, que variam desde testes clínico-epidemiológicos até os sorológicos e virológicos. Cada técnica existente apresenta características específicas e vantagens (sensibilidade, especificidade, rapidez e detecção do sorotipo). Com intuito de evitar o retardo no diagnóstico e agravamento da doença considera-se que juntamente com a análise clínico-epidemiológica seja solicitado exames laboratoriais específicos disponíveis na unidade, como por exemplo, o hemograma, a sorologia e o teste NS1.

REFERÊNCIAS

- [1] Ferreira BJ, Souza MDFM, Soares Filho AM. Evolução histórica dos programas de prevenção e controle da dengue no Brasil. *Ciência e Saúde Coletiva*. 2009; 14(3): 961-972.
- [2] WHO. World Health Organization. Global strategy for dengue prevention and control 2012-2020. Geneva: World Health Organization, 2012.
- [3] Garcia ACPR, Santos JLC, Batista LB, Sanches LRR, Hamden NR, Gagliani, LH. Dengue: aspectos epidemiológicos, clínicos e diagnóstico laboratorial. In: IX Mostra de Trabalhos Acadêmicos -III Jornada de Iniciação Científica: 2015: out 26: Santos. São Paulo.
- [4] Oliveira ACND, Santos JF. Dengue: principais características e aspectos epidemiológicos.[monografia] Pindamonhangaba: Faculdade de Pindamonhangaba. 2012.
- [5] Lorbieski R, Hachmann DR, Rizzi RL, Rizzi CB, Brun, AL. Uma Contribuição ao Controle da Dengue em Cascavel/PR através de um Software com Informações Georreferenciadas. *Revista Paranaense Perio/Implante*, 2011; 5: 19-25.
- [6] Milani MR. Representações sociais da dengue: aproximações e afastamentos entre o discurso da comunidade e da mídia impressa. [tese] João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba. 2012.
- [7] Simoneto AC. Modelagem Matemática Aplicada a Transmissão da Dengue. [monografia] Cascavel: Universidade Estadual do Oeste do Paraná. 2008.
- [8] Pompeo CM. Dengue: Caracterização clínica e variáveis associadas ao agravamento. [dissertação] Campo Grande: Universidade Federal do Mato Grosso do Sul; 2016.
- [9] Simmons CP, Farrar, JJ, Chau NVV, Whills B. Dengue. *The New England Journal of Medicine*. 2012; 366(15):1423-1432.
- [10] Gluber DJ. Dengue. NovartsFondation. 2006. [acesso 01 jun. 2016] Disponível em: <http://books.google.com.br>.
- [11] Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de vigilância epidemiológica. [acesso 01 jun. 2016] Disponível em:

<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf>. 2014.

- [12] Barros LPS, Igawa SES, Jocundo SY, Brito Junior LC. Análise crítica dos achados hematológicos e sorológicos de pacientes com suspeita de Dengue. *Revista Hemoter.* 2008;30(5); 363-366.
- [13] Bezerra LFD. Diagnóstico laboratorial de dengue e leptospirose em pacientes com síndrome febril aguda. [dissertação] Fortaleza: Universidade Federal do Ceará. 2012.
- [14] Licks JGDS. Caracterização da investigação laboratorial de casos suspeitos de dengue no Estado de Goiás. [dissertação] Goiânia: Universidade Federal de Goiás. 2013.