

Sexta-feira, 24 de novembro de 2006.
 Profa. Sônia

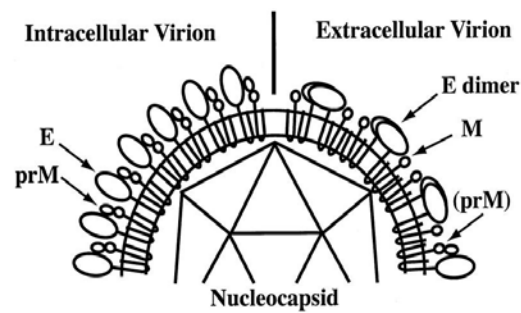
Dengue.

A aula foi preparada de modo a tornar desnecessária a leitura dos slides da professora.

Dengue

- Doença febril aguda causada por um dos quatro sorotipos de um arbovírus (DENV-1, DENV-2, DENV-3, DENV-4) do gênero Flavivirus e da família Flaviviridae (mesma família do vírus da febre amarela, do HCV e do HDV).
- Vírus de genoma de RNA simples fita, polaridade positiva, capsídeo icosaédrico, envelopado.
- Transmitido por mosquitos da espécie *Aedes aegypti* que também transmitem o vírus da febre amarela. Em outras regiões outras espécies de mosquitos são capazes de transmitir o vírus da dengue.
- Arbovírus: vírus transmitidos por picadas de artrópodes (mosquito ou carrapato).

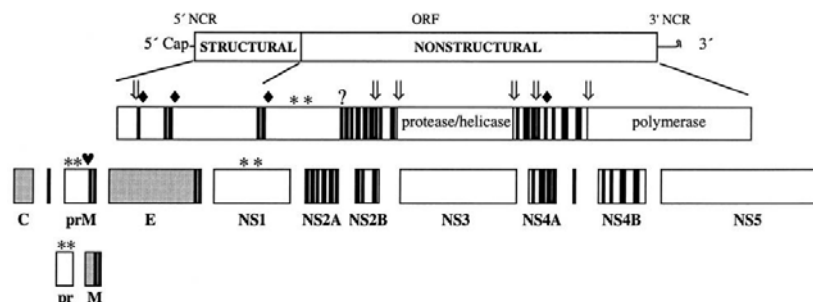
Representação esquemática da estrutura do vírus Dengue



- Vírus envelopado.
- Proteínas específicas do vírus:
 - Proteína de pré-membrana (prM)
 - Proteína de Membrana
 - Glicoproteínas de superfície:
- ✓ E ("E" de envelope): merece destaque porque corresponde à proteína que interage com o receptor da célula hospedeira. Foram modificações antigênicas nesta glicoproteína que deram origem aos 4 sorotipos de vírus Dengue.

Organização do genoma dos Flavivirus

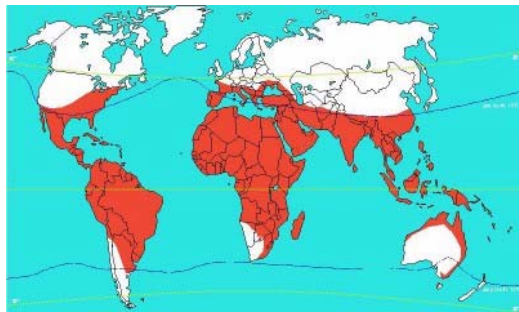
Esta organização é válida para todos os Flavivirus, não somente para o da dengue.



Os Flavivirus possuem genes que codificam proteínas estruturais (prM, capsídeo e E) e não estruturais (proteínas funcionais). São 7 as proteínas não estruturais, geralmente com funções enzimáticas: NS3 (protease/helicase) e NS5 (polimerase) devem ser destacadas porque são objetos de estudo para produção de drogas antivirais.

Vírus da dengue

- A infecção com cada sorotipo produz imunidade específica, mas apenas imunidade parcial e de curta duração para os outros 3 sorotipos.
- Todos os sorotipos podem causar doença severa (dengue hemorrágica e choque da dengue) e doença fatal. Entretanto, existem alguns sorotipos com potencial maior de causar doenças graves.
- Há variantes genéticas dentro dos sorotipos: o sorotipo 3 encontrado na Ásia apresenta variação em relação ao sorotipo 3 encontrado nas Américas.
- Algumas variantes genéticas parecem ser mais virulentas ou apresentar maior potencial epidêmico.

Distribuição mundial do Aedes aegypti em 2002

As áreas tropicais e subtropicais são as mais acometidas pela dengue porque é nesses locais quentes que se instala o hospedeiro intermediário (o mosquito).

Larvas do Aedes aegypti sob a superfície da água

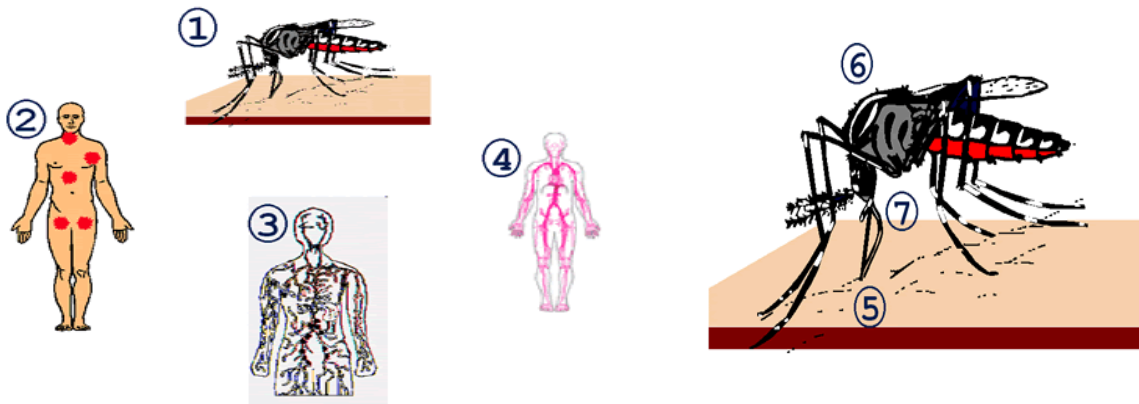
A larva do mosquito fica sob a água limpa.

Aedes aegypti se alimentando de sangue de pessoa na fase de viremia na dengue

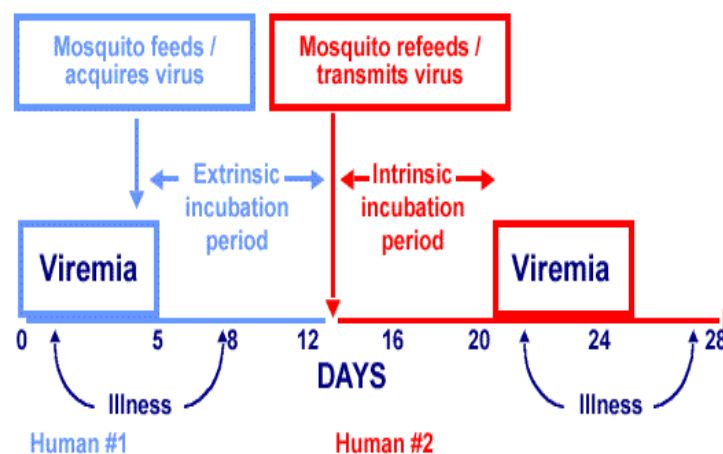
O mosquito para transmitir deve picar um hospedeiro na fase de viremia (que dura de 6 a 12 dias).

Ciclo de transmissão do vírus da dengue

Replicação e transmissão do vírus da Dengue.



1. Vírus transmitido ao homem na saliva do mosquito.
O vírus tem que se multiplicar antes para pode ser transmitido pelo mosquito.
Se houver pouca quantidade de vírus no aparelho bucal do mosquito, é pequena a chance de transmissão.
2. Vírus se replica nos órgãos alvos (linfonodos locais e fígado).
3. Vírus se dissemina para o sangue e infecta leucócitos e outros tecidos linfáticos.
As principais células infectadas pelo vírus da dengue são macrófagos e, principalmente, as células dendríticas da pele.
4. Vírus livres circulam no sangue.
Corresponde ao pequeno período de viremia.
5. O segundo mosquito ingere vírus com o sangue.
6. Vírus se replica no inseto e em outros órgãos e infecta as glândulas salivares.
7. Vírus nas glândulas salivares é excretado na saliva do mosquito.

Transmissão do vírus da dengue pelo *Aedes aegypti*

- **Período de incubação extrínseco:** ocorre no hospedeiro intermediário e corresponde ao período em que o mosquito está apto a transmitir, ou seja, está com o vírus na saliva.
- **Período de incubação intrínseco:** ocorre no hospedeiro definitivo.

Síndromes clínicas da dengue

A dengue é uma infecção viral que nem sempre se manifesta clinicamente, ou seja, existem quadros de infecção assintomática.

- **Febre inespecífica:** sintomas inespecíficos semelhantes aos de um resfriado: febre, coriza e sintomas respiratórios do trato superior.
- **Febre dengue clássica:** felizmente é a mais comum. Por apresentar-se com dor muscular intensa é chamada de febre quebra-ossos. Manifesta também dor retro-orbitária e febre. Às vezes há um exantema urticariforme que pode ser localizado em áreas específicas ou que pode se disseminar e coalescer (os exantemas juntam-se uns aos outros). Em algumas ocasiões ocorre prurido que pode ser muito intenso. Assim, pode ser necessário o uso de anti-alérgicos no tratamento da Febre dengue clássica.
- **Febre dengue hemorrágica (DHF)**

A DHF pode evoluir para:

- **Síndrome do choque da dengue (DSS)**

Características clínicas da febre dengue

- Febre
- Cefaléia
- Dores musculares e nas articulações.
- Náuseas/vômitos: apesar de relativamente freqüente, nem todas as pessoas manifestam.
- Exantema.
- Manifestações hemorrágicas: ocorrem mesmo na dengue clássica. Visualizam-se hemorragias pequenas que não são de risco, mas que devem ser monitoradas para evitar quadros mais graves.

Manifestações hemorrágicas da dengue

Além das manifestações anteriores, podem ocorrer:

- Hemorragias na pele: petéquias, púrpuras e equimoses.
- Sangramento gengival.
- Sangramento nasal.
- Sangramento GI: caracterizado por hematêmese, melena, hematoquezia.
- Hematúria.
- Fluxo menstrual aumentado.



Petéquias: manifestação hemorrágica da DF



Grande hemorragia sub-cutânea no braço de paciente com DHF

Situações que indicam fragilidade capilar.

A diagnóstico da dengue em períodos de surtos epidêmicos é eminentemente clínico. Numa área sem quadros comuns, com poucos casos de dengue, o diagnóstico é difícil, devendo-se pensar em diagnóstico diferencial em relação a doenças com sintomas comuns. Ou seja, só a clínica não é suficiente para diagnosticar dengue, apesar de em épocas de epidemia ela constituir um recurso diagnóstico importante.

Critérios para definição de caso DHF

- Febre, ou história recente de febre aguda.
- Manifestações hemorrágicas.
- Contagem de plaquetas baixa ($100.000/\text{mm}^3$ ou menos).

É importante quantificar as plaquetas: deve ser dada especial atenção quando se verifica um número inferior a $200.000/\text{mm}^3$ e um número próximo de $100.000/\text{mm}^3$ já fornece suspeita de dengue.

Contagem de plaquetas entre 100.000-200.000 pode ser decorrente de dengue clássica.

- Evidência objetiva de "fragilidade capilar":
 - hematócrito elevado (20% ou mais acima do limiar): ocorre perda de plasma a partir dos vasos sanguíneos e esse extravasamento de líquidos para o interstício leva a uma concentração do sedimento no hematócrito.
 - albumina baixa.
 - derramamento pleural ou outros (observar perda de líquido num raio X de tórax, por exemplo).
- Pode haver ascite e também outras cavidades podem ser tomadas por líquidos.

Quatro graus da DHF (OMS)

O termo Dengue severa ou Dengue grave correspondem à Dengue hemorrágica.

Grau 1

- Febre e sintomas constitucionais inespecíficos (assim como na dengue clássica).
- Prova do laço (teste do torniquete) positivo é a única manifestação hemorrágica.

A prova do laço é bem indicada para os casos de dengue. Apesar de ser facilmente realizável, não é freqüentemente utilizada porque é desconfortável para o paciente e requer "muito tempo" do médico (5 minutos) para obtenção do resultado.

Nem todos os pacientes evoluem para o grau subsequente (grau 2).

Grau 2

- Manifestações do grau 1 + sangramentos espontâneos leves (sangramento gengival, epistaxe, enfim, sangramentos não muito intensos).

Grau 3

- Colapso circulatório com pulso fraco e rápido, estreitamento da pressão arterial, hipotensão, pele pegajosa e fria.

Ocorrem hemorragias em vários órgãos (hemorragia intestinal, em órgãos do abdome e do tórax). Assim, o paciente possui risco de apresentar hemorragia generalizada.

Pode haver alteração do fígado e elevação das transaminases, entretanto a hepatomegalia e a alteração de enzimas podem ser pequenas. Quando estas estão muito aumentadas sugerem DH porque o vírus também se multiplica nas células hepáticas, levando às hemorragias.

O paciente em Grau 3, se não tratado e monitorado, freqüentemente evolui para choque da dengue (grau 4).

Grau 4

- Choque profundo, com ausência de pressão arterial e pulso imperceptível.

Sinais de perigo na febre dengue hemorrágica

- Dor abdominal – intensa e constante

As crianças podem ter dor abdominal mesmo na dengue clássica.

- Vômitos persistentes

Os vômitos não são como os da dengue clássica: eles são persistentes e consistentes. Por isso, o paciente precisa ser hidratado endovenosamente.

- Alteração brusca de febre para hipotermia, com transpiração e prostração.
- Mudança do estado mental do paciente, podendo ser inquietação ou sonolência.

O vírus alcança o cérebro e pode levar a hemorragias e alterações mentais que podem regredir, ou levar o paciente a morte, ou deixá-lo com alguma seqüência neurológica.

Fatores de risco relatados para DHF

Por que alguns pacientes evoluem para dengue hemorrágica e outros não? Na realidade, não há explicação, o que existem são várias teorias que isoladamente não são capazes de explicar este fato.

➤ **Amostra do vírus (genótipo)**

- potencial epidêmico: nível de viremia, infecciosidade.
- risco maior para DENV-2, seguido pelo DENV-3, DENV-4 e DENV-1.

O sorotipo 4 desapareceu do Brasil e não existe mais em nosso país. Entretanto, pode ser reintroduzido futuramente.

O sorotipo 3 apareceu no Brasil em 2000, ou seja, é recente.

O sorotipo 1 apareceu em 1986, correspondendo aos primeiros casos de dengue no país.

Enfim, assim como no resto do Brasil, existem 3 sorotipos circulando em Vitória.

➤ **Anticorpos anti-dengue pré-existent:**

A presença de anticorpos pré-existent tornaria uma segunda infecção com mais capacidade de evolução para DHF.

- infecção prévia.
- anticorpos maternos em bebês: essa teoria ganha força a partir da ocorrência de uma epidemia de DHF na Tailândia, onde milhares de pessoas foram acometidas, inclusive recém-nascidos. Como estes pacientes eram muito jovens para já terem tido contato com dois sorotipos do vírus (ver teoria do risco aumentado abaixo), supõe-se que eles possuíam anticorpos maternos transmitidos transplacentariamente. Neste caso, a mãe já teria sido acometida por uma infecção anterior e o filho, em contato com novo sorotipo, desenvolveriam a DHF.

➤ **Genética do hospedeiro:** determinantes genéticos no hospedeiro parecem ser importantes na evolução para DHF.

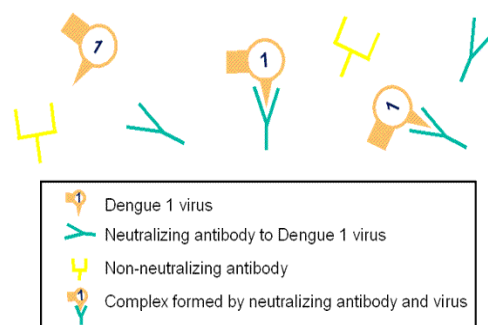
➤ **Idade:** crianças e adultos jovens são mais propensos a ter DHF.

➤ **Maior intensidade em infecções secundárias**

➤ **Risco aumentado em localidades com dois ou mais sorotipos circulando simultaneamente em altos níveis (transmissão hiper-endêmica).**

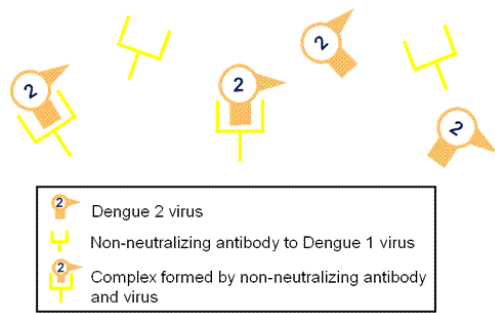
Teoria da DHF relacionada à resposta imunológica

Corresponde à teoria dos anticorpos e é mais aceita pelos médicos.

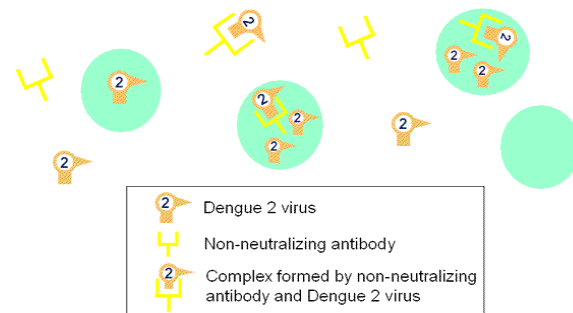


Resposta de anticorpos na infecção primária

Infecção primária: o indivíduo desenvolve anticorpos neutralizantes (verdes) e não-neutralizantes (amarelos) contra o primeiro sorotipo do vírus da dengue com o qual entrou em contato (não quer dizer que seja o sorotipo 1). Os anticorpos não neutralizantes dirigem-se a epítomos do vírus da dengue e de outros vírus semelhantes. Os anticorpos neutralizantes são protetores e numa segunda infecção por aquele **mesmo sorotipo** surgirão rapidamente e impedirão a progressão da mesma.



Infecção subsequente com sorotipo diferente da primeira infecção.

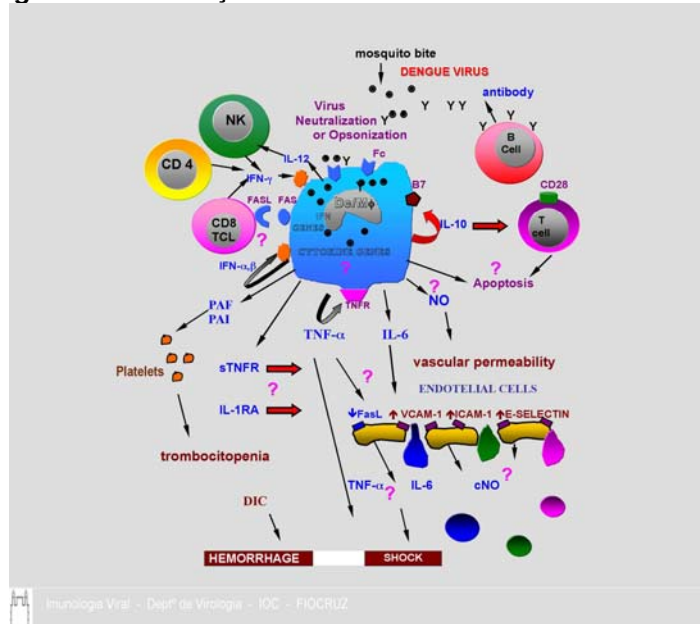


Anticorpos heterólogos formam complexos infecciosos (penetração em monócitos).

Infecção secundária: quando o indivíduo entra em contato com outro sorotipo do vírus da dengue (vírus 2 na figura), ele não possui anticorpos neutralizantes contra tal parasita. Entretanto, possui os anticorpos não-neutralizantes que não são tão específicos e ligam-se ao vírus. Este complexo antígeno-anticorpo é de risco porque facilita a penetração do vírus na célula humana. Isto porque na superfície das células (monócitos) existem receptores para a porção Fc da imunoglobulina. Ou seja, o anticorpo além de não impedir, faz com que o vírus penetre mais rapidamente e em maior quantidade do que se estivesse isolado.

Porque desenvolve DH

Teoria da imunopatologia: teoria da ação das citocinas e mediadores vasoativos na DHF



- A infecção com ou sem o anticorpo neutralizante induz a produção de citocinas (IL-10, IL-6, TNF-alfa).
- Além disso, a célula infectada libera PAF e PAI que promovem plaquetopenia.
- O TNF-alfa atua sobre o endotélio de vasos e permite a ruptura dos mesmos.
- IL-1 e TNF-alfa age em receptores vasculares específicos.

Avaliação clínica na febre dengue

- Pressão arterial
- Evidência de hemorragia na pele ou em outros sítios.
- Estado de hidratação do paciente
- Evidência de permeabilidade vascular aumentada – efusão pleural, ascite.
- Prova do laço (teste do torniquete): simples e fácil de ser feita que é desprezada pelo desconforto e porque toma tempo do médico.

Prova do laço



- Inflar o esfigmomanômetro (do mediador de pressão arterial) até um ponto intermediário entre a pressão sistólica e a diastólica, e manter durante 5 minutos.
- Prova positiva: 20 ou mais petéquias por polegada quadrada (2,54 cm²).

Testes laboratoriais na febre dengue

Testes clínicos e de laboratório

- Contagem das células sanguíneas – contagem de leucócitos (normalmente há leucopenia, mas pode haver leucocitose), plaquetas, hematócrito.
- Albumina: observa-se queda.
- Testes de função hepáticas: ligeiramente elevada na dengue clássica e muito alta na dengue hemorrágica.
- Urina: checar hematúria (presença de hemácias na urina) pela microscopia.

Testes específicos para dengue

- **Isolamento do vírus** para determinar o sorotipo.
 - Em cultura de célula de mosquito.
 - Por inoculação intra-gástrica em mosquito.
 - É o **melhor teste**.
 - Apresenta muitas dificuldades técnicas: envolve risco de disseminar o vírus a partir do laboratório. Não é de rotina e só é realizado por laboratórios especializados.
- **Sorologia**
 - Detecção de IgM e IgG pelo ELISA, HI – inibição por hemoaglutinação - (boa sensibilidade, mas sem especificidade. E só diagnostica a infecção, sem dizer o sorotipo do vírus), NT – teste por neutralização - (melhor das técnicas: mais específica, mais sensível e determina inclusive o sorotipo do vírus. Entretanto, é mais trabalhosa).
 - Dependendo do teste podem ser necessários mais dias do que o PCR (que requer 5) para detecção dos anticorpos e liberação do resultado.
 - São técnicas de rotina e correspondem às mais utilizadas.
 - O ELISA é a técnica mais empregada: o IgM aparece de 8 a 10 dias depois dos sintomas. O IgG demora um pouco mais. Essa técnica não detecta o sorotipo de vírus, mas é barata e fácil de ser reproduzida. Na infecção secundária pode haver IgM geralmente com títulos mais baixos do que numa infecção primária.
- **Detecção molecular**
 - Hibridização de ácido nucléico RNA viral hibridizado com sonda marcada (com biotina ou P32) e RT-PCR. P O PCR é mais vantajoso pela rapidez e pela facilidade de trabalho.
 - Não constituem técnicas de rotina.

Outros testes inespecíficos**Febre Dengue Clássica**

➤ Hemograma: leucopenia (leucócitos diminuídos até 2.000/mm³), linfocitose relativa com atipia linfocitária e desvio à esquerda. Trombocitopenia ocasional

Febre Dengue Hemorrágica

➤ Hemograma: pode ocorrer leucopenia até leucocitose leve. De destaque: hemoconcentração e a trombocitopenia (contagem de plaquetas igual ou abaixo de 100.000/mm³).

➤ Coagulograma: aumento nos tempos de protrombina, trombotoplastina parcial e trombina. Diminuição de fibrinogênio, protrombina, fator VIII, fator XII, antitrombina e alfa-antiplastina.

➤ Bioquímica: diminuição da albumina no sangue, albuminúria e discreto aumento nos testes de função hepática.

➤ Principal característica: efusão de plasma - hemoconcentração = valores crescentes no hematócrito.

Ou seja, o que caracteriza realmente a dengue hemorrágica é efusão do plasma observada pelo hematócrito.

Inoculação intra-torácica

O mosquito escolhido não transmite o vírus. Inocula-se no tórax do mosquito uma quantidade de soro do paciente que se supõe ter o vírus da dengue. A seguir, deixa-se o mosquito 10 dias a 30 graus. O animal é sacrificado e sua cabeça é massada, quando se detecta ou não o vírus no cérebro e na saliva por imunofluorescência (considerando que de 8-10 dias após inoculação, os vírus deveriam estar na saliva do mosquito). Também é possível determinar o sorotipo do vírus por meio de anticorpos monoclonais.

Teste sorológica de Elisa de captura de IgM específica (MAC – ELISA)

Não determina sorotipos.

1. Poços de micro-placa com Ac anti-IgM humana adsorvido.
2. Adição de soro teste (do paciente) contendo IgM anti-vírus.
3. Adição de Ag específico (vírus).
4. Adição de Ac marcado com enzima, específico para o antígeno viral.
5. Adição do substrato da enzima.
6. Leitura da cor desenvolvida.

Dependendo da quantidade de IgM a cor é mais ou menos intensa.

Colheita e processamento das amostradas para diagnóstico laboratorial

Devem ser feitas coletas de duas amostras de sangue: uma da fase aguda e outra da fase de convalescença.

Tipo de Espécime	Tempo de Colheita	Tipo de Análise
Sangue de fase aguda (0-5 dias após início). Fase de viremia.	Quando o paciente retorna, colher a segunda amostra (convalescença).	Isolamento do vírus e/ou sorologia.
Sangue na convalescença.	Entre os dias 6 e 21 após o início.	Sorologia.

Obs: em caso de óbito utilizam-se tecidos, entretanto isso não é muito fácil.

Tratamento da febre dengue

- Não há uma droga anti-viral que atue no vírus dengue.
- Pacientes devem ter monitorados a pressão arterial, o hematócrito, contagem de plaquetas (quase que diariamente para saber se o paciente está melhorando) e o nível de consciência.
- De acordo com os sintomas:
 - repor fluidos e eletrólitos.
 - antitérmico.
 - administrar plasma.
 - administrar concentrado de plaquetas.

Prevenção da dengue**Vacina**

- Não há licenciada até o presente momento.
- Há vacinas candidatas em experimentação.
- Vacina efetiva deve ser tetravalente.

Controle do mosquito vetor (*Aedes aegypti*)

- Controle físico (melhoria das condições do ambiente e saneamento básico).
- Controle químico (uso de inseticidas)
- Controle biológico (?)

Outras medidas

- Não deixar água limpa parada em recipientes abertos.
- Uso de barreiras para o vetor (telas e cortinados).