

Contribuição ao diagnóstico laboratorial da dengue.

Contribution to the laboratory diagnosis of dengue.

Valdir Martins **MANZATO***

Paulo Cesar **NAOUM****

*Bacharel em Farmácia pelo Centro Universitário de Votuporanga- UNIFEV (2012). Pós Graduando no curso de Hematologia Clínica e Laboratorial da Academia de Ciência e Tecnologia de São José do Rio Preto, SP.

**Biomédico professor titular pela UNESP, diretor da Academia de Ciência e Tecnologia de São José do Rio Preto, SP

Resumo

A dengue é uma arbovirose transmitida pela fêmea do mosquito *Aedes aegypti* e se espalha rapidamente no mundo. Possui quatro sorotipos conhecidos (DEN-1, DEN-2, DEN-3 E DEN-4) e dois tipos de apresentação: A forma clássica, considerada benigna, ou na forma hemorrágica, forma mais grave da doença. O diagnóstico laboratorial da dengue pode ser realizado através dos exames inespecíficos, como o Hemograma, exame de simples realização e baixo custo, pode apresentar indícios importantes logo no início da infecção, como: Leucopenia, plaquetopenia, linfocitose relativa e atipia linfocitária que juntamente com as manifestações clínicas do paciente, auxiliam no diagnóstico da doença. Os exames específicos são realizados através das reações sorológicas, isolamento do vírus, determinações de anticorpos e antígenos específicos, entretanto, estes exames devem ser realizados em laboratórios especializados para estes fins e muitas vezes, não fornecem um diagnóstico rápido, mas se tornam essenciais para a confirmação da doença e para fins epidemiológicos. O presente estudo, através do levantamento bibliográfico, objetiva-se em apontar as principais alterações dos padrões hematológicos, bioquímicos e sorológicos em pacientes portadores do vírus da dengue.

Descritores: Dengue; Técnicas de laboratório clínico; Testes hematológicos.

Introdução.

A dengue é causada por um arbovírus do gênero *Flavivirus*, onde são conhecidos quatro sorotipos: Den-1, Den-2, Den-3 e Den-4. Acredita-se que o vírus chegou ao Brasil no período colonial e veio da África, trazido pelos escravos. Há referências de epidemias de dengue desde 1916 em São Paulo e em 1923, no Rio de Janeiro. O primeiro surto registrado no Brasil, após a reentrada do mosquito no país, aconteceu em 1982, quando foram isolados os vírus DENV-1 e DENV-4, em Boa Vista, Roraima ^{1,2}. A doença apresenta-se sob a forma clássica, de evolução benigna, ou grave, na forma hemorrágica. A transmissão ao homem é por meio da picada da fêmea do mosquito *Aedes*

aegypti. O período de incubação no mosquito varia de 8 a 12 dias. No homem, o período de incubação varia de 3 a 15 dias, em média de 5 a 6 dias. O período de transmissão começa um dia antes do aparecimento da febre e vai até o 6º dia da doença ².

A infecção é caracterizada por um amplo espectro de manifestações clínicas, que vão desde edema dos membros inferiores até a morte, sendo a trombocitopenia uma característica proeminente da infecção ^{3,4}. Febre de início agudo, com duração de 2 a 7 dias, associada a mal estar generalizada, cefaleia, dor retrocular, dores articulares e erupções cutâneas, também são características clínicas da doença. Em casos mais graves, nas manifestações hemorrágicas, o aumento do hematócrito associado a um aumento da permeabilidade vascular pode causar derrames e choque hipovolêmico. Geralmente estes casos de maior gravidade, se dão em pacientes que já tiveram em contato com a dengue por algum sorotipo da doença (Infecção primária) e se infectam novamente (Infecção secundária) por um sorotipo diferente, porém, não implica necessariamente que toda a infecção secundária conduzirá a dengue grave ^{5,6}.

A fim de evitar e controlar a progressão da enfermidade, a Organização Mundial da Saúde (OMS) propôs um sistema de vigilância para a dengue, este sistema estabelece o diagnóstico preciso e inicial da doença relatando tal atividade para as autoridades de saúde pública. Assim, um diagnóstico rápido e preciso da dengue é de suma importância para o controle efetivo dos surtos das doenças ^{7,8}.

O diagnóstico da dengue em humanos é feito com base em dados clínicos, epidemiológicos e laboratoriais, utilizando-se, para este último, exames inespecíficos (hemograma, coagulograma, provas de função hepática e dosagem de albumina sérica) e específicos (testes de isolamento viral e sorológicos para pesquisa de anticorpos) ².

O principal objetivo do presente estudo é, através do levantamento bibliográfico, apontar as alterações dos padrões hematológicos, por meio do diagnóstico laboratorial em pacientes portadores do vírus da dengue, associando com as manifestações clínicas, para uma melhor elucidação diagnóstica.

Alterações nos exames inespecíficos no diagnóstico da Dengue.

Exames inespecíficos podem ser caracterizados por determinações como hemograma completo, velocidade de hemossedimentação (VHS), dosagem de fibrinogênio, tempo de tromboplastina parcial (PTT), tempo de protrombina (TAP), dosagem do complemento C3, D-dímero, dosagem de proteínas totais e frações, ureia, creatinina, dos eletrólitos (sódio, potássio e cloro), das transaminases (ALT e AST), proteína C-reativa (PCR) e gasometria ¹.

Como principais achados dos exames inespecíficos, destacamos os observados no hemograma, o primeiro e mais relevante mostrando leucopenia, por vezes intensa, com contagens inferiores a $2,0 \times 10^9/l$ leucócitos; neutropenia, presença de linfócitos atípicos e trombocitopenia, com valores abaixo de $100 \times 10^9/l$ plaquetas ².

O hemograma completo na dengue não apresenta diferença da maioria das viroses. Na dengue clássica, já no segundo dia de febre, observa-se leucograma com leucopenia e neutropenia, sendo que no quarto ou quinto dia esta leucometria pode apresentar valores de 2 mil a 4 mil leucócitos, com apenas 20%-40% de neutrófilos. Raros plasmócitos e linfócitos atípicos são às vezes encontrados no quinto e sexto dias ¹.

Em estudo realizado por Oliveira et. al 2009 ⁹, foram analisados 543 casos de Dengue Clássica (DC) e Febre Hemorrágica do Dengue (FHD) ocorrida no ano de 2007 em Campo Grande, Mato Grosso do Sul. As principais alterações hematológicas obtidos deste estudo foram: a leucopenia, plaquetopenia, linfopenia e presença de linfócitos atípicos. A febre hemorrágica do dengue desencadeou linfopenia e plaquetopenia acentuadas e maior número de linfócitos atípicos. As alterações hematológicas da FHD apresentaram evolução diária semelhante às encontradas no dengue clássico, exceto a plaquetopenia, que ocorreu mais precocemente na FHD.

A Velocidade de Hemossedimentação (VHS) depende das proteínas plasmáticas (fibrinogênio, beta-globulina, albumina, alfa e gamaglobulinas), do volume e da forma dos glóbulos vermelhos ^{10,11}. É um exame inespecífico, mas ela está aumentada nos processos infecciosos, inflamatórios e neoplásicos. É mais útil no controle de tratamento. Na doença dengue, a VHS se encontra

aumentada devido principalmente ao processo inflamatório ¹. Sendo assim, sugere-se que este teste seja solicitado na abordagem inicial do paciente com suspeita de dengue, uma vez que se trata de um exame de baixo custo e com boa correlação diagnóstica com a dengue, inclusive nas suas formas mais graves ¹⁰.

A investigação laboratorial da dengue hemorrágica revela trombocitopenia que pode chegar a menos de 20.000 plaquetas/mm³, hemoconcentração com hematócrito elevados em até 20% dos casos, hipoalbuminemia, elevação moderada na dosagem de aminotransferases e uréia séricas. Os tempos de tromboplastina parcial (TTP) e de trombina (TT) podem estar prolongados. As dosagens de fibrinogênio e de proteínas do complemento normalmente apresentam-se diminuídas e correlacionam-se com a severidade da doença ¹². Nos casos de dengue hemorrágica, coagulopatias associam-se ha uma redução da antitrombina III e α -2-anti-plasmina. Há reduções ligeiras ou moderadas em fatores II, V, VII, VIII, IX, X e XII e um ligeiro aumento do dímero-D ¹³.

A proteína C-reativa (PCR), no diagnóstico da doença dengue, encontra-se aumentada, devido ao fato de que ocorre a ativação das interleucinas, que são secretadas pelos monócitos e que irão estimular o tecido hepático na sua liberação ¹.

A forma clássica do dengue é definida, entre outros fatores, pela presença de leucopenia detectada pelo hemograma. Os sinais de alerta para formas mais graves incluem queda acentuada de plaquetas ($\leq 100.000/\mu\text{L}$) e aumento do hematócrito. Logo, a observação de quaisquer dessas alterações no hemograma pode guiar as suspeitas iniciais de dengue, amparadas ainda pelos achados clínicos indicativos ^{14,15}.

Exames específicos no diagnóstico da dengue.

O diagnóstico definitivo da infecção pelo vírus da dengue deve ser realizado em laboratório especializado para este fim e depende do isolamento deste vírus, detecção de antigénios virais ou RNA no soro ou tecidos, ou detecção específica de anticorpos no soro do paciente ⁷.

Exames específicos podem ser caracterizados por determinações como isolamento do vírus, reações sorológicas, imuno-histoquímica, teste de proteínas não estruturais e determinações de anticorpos ou antígenos específicos. Os exames específicos devem contribuir principalmente para fins de vigilância epidemiológica, no isolamento e na identificação e tipagem do vírus no soro, nos primeiros cinco dias da doença ¹.

Dentre os exames específicos, por sua vez, estão os testes sorológicos para pesquisa de anticorpos que são mais rápidos de serem executados e mais utilizados. Realizados após o 6º dia do início da doença, mostram níveis de IgM aumentados, até o seu pico máximo, que ocorre em torno do 10º dia de evolução da doença, com posterior declínio, até tornarem-se não detectáveis por volta do 70º dia ¹⁶.

Os principais testes sorológicos utilizados para o diagnóstico da dengue como doença são: Inibição da Hemoaglutinação (HI), Teste de Fixação de Complemento (CF), Teste de neutralização (NT) e Teste imunoenzimático de captura de anticorpos (ELISA). As limitações destas técnicas são o alto índice de reação cruzada observada com estes testes. Além disso, na doença dengue, os anticorpos são facilmente detectados ao redor do quinto dia de início da doença, tornando esta técnica inviável para um rápido diagnóstico ^{7,17}.

Os testes rápidos para a demonstração das imunoglobulinas são muito utilizados na detecção de doenças infecciosas. Podem usar sangue total (não processado), com a vantagem de fornecerem resultados na beira do leito (*point of care*). Esses testes são sensíveis e específicos, apresentando uma boa acurácia. Na detecção da infecção por dengue pode-se utilizar vários testes rápidos para demonstração das imunoglobulinas dos tipos IgA, IgM e IgG. Com esses testes rápidos podemos demonstrar a presença dos antígenos de superfície dos tipos NS1, NS2, NS3 e NS4 ¹.

Muitos laboratórios ainda não disponibilizam testes rápidos para o diagnóstico da dengue. Além disso, o teste rápido tem maior custo que os testes imunoenzimáticos usuais. Nestes casos, o hemograma tem se revelado um bom aliado no diagnóstico e acompanhamento da evolução da doença ^{18,19}.

Eficácia do hemograma no diagnóstico inicial da dengue.

Oliveira et al. 2012 ¹⁴ traçou o perfil laboratorial das alterações hematológicas da doença dengue, na população de Uberaba, Minas Gerais no período compreendido entre 2005 - 2006 e 2009-2010 através da seleção de hemogramas de pacientes com suspeita inicial (fase aguda) da doença e confirmados após sete dias pelo teste sorológico (IgM) comparando-os entre si os biênios. As alterações hematológicas foram semelhantes em ambos os períodos estudados com relação à leucopenia, linfopenia e monocitose, parâmetros estes, que quando alterados e aliados a suspeita clínica, poderão servir como importante alerta.

Barros e Botelho 2013 ¹⁸ analisaram os resultados dos hemogramas, testes rápidos para NS1 (glicoproteína encontrada circulando no soro durante a fase aguda da doença), IgM e IgG específicas de 171 pacientes. Deste total, 49% apresentaram plaquetopenia, 52% leucopenia, 40% linfocitose, 46% atípia linfocitária e 36% não apresentaram alterações. Assim, incluindo-se os casos que exibiram alterações hematológicas, seja leucopenia, plaquetopenia, linfocitose e ou atípia linfocitária, conclui-se que o hemograma apresenta uma sensibilidade de 64% como exame sugestivo de dengue nos primeiros cinco dias de infecção. Transcorridos oito dias de infecção, o hemograma demonstrou possuir 97,2% de sensibilidade como método auxiliar no diagnóstico da dengue.

Corroborando com os demais estudos Aragão et al. 2012 ²⁰, realizou a análise de 72 hemogramas, de casos confirmados de Dengue no município de Santos, São Paulo, onde 43,1% dos hemogramas analisados apresentaram leucopenia, plaquetopenia e 31,9% linfocitose relativa. Sendo que 25% apresentaram leucopenia e plaquetopenia simultaneamente e 18,1% destes pacientes apresentaram concomitantemente plaquetopenia, leucopenia e linfocitose relativa.

Antes da confirmação do teste sorológico, testes hematológicos geralmente são realizados, como o hemograma, exame de fácil acesso e rápida realização, que proporciona dados indispensáveis, como a leucopenia. Este achado no período de estado febril, de 02 a 07 dias de duração, associado a mais um ou mais das seguintes manifestações: cefaleia, dor

retroorbital, mialgia, dor nas articulações, exantema e manifestações hemorrágicas – definem casos suspeitos de dengue, tornando-se assim um consequente indicador da necessidade terapêutica ²¹.

Conclusão

Conclui-se com base na literatura analisada, a importância dos exames inespecíficos no diagnóstico inicial da dengue, em especial, o hemograma: exame simples e rentável que, associado com as manifestações clínicas do paciente, fornece subsídios para o diagnóstico diferencial da dengue.

A alteração do hemograma tem um valor muito importante diante de situações endêmicas porque muitas vezes não existem *kits* suficientes para a realização dos exames em razão da elevada demanda, uma vez que estes exames sorológicos não são usados rotineiramente ¹⁴.

Referências Bibliográficas

1. Xavier AR, Freitas MS, Loureiro FM, Borghi DP, Kanaan S. Manifestações clínicas na Dengue- Diagnostico Laboratorial. Jbm março/abril, 2014 vol. 102 · no 2
2. Barros LPS, Igawa SES, Jocundo S Y, Brito Junior LC. Análise crítica dos achados hematológicos e sorológicos de pacientes com suspeita de Dengue. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2008;30(5):363-366
3. Lemes RPG, Comments on the clinical and laboratory characteristics of patients with dengue hemorrhagic fever manifestations and their transfusion profile. Rev bras hematol hemoter. 2014; 36(2):100-101
4. Teixeira MG, Barreto ML. Diagnosis and management of dengue. BMJ. 2009;339:b4338.

5. Frantchez V, Fornelli R, Sartori G.P, Arteta Z, Cabrera S, Sosa L, Medina J. Dengue en adultos: diagnóstico, tratamiento y abordaje de situaciones especiales. *Rev Méd Urug* 2016; 32(1):43-51
6. Dalrymple NA, Mackow ER. Endothelial cells elicit immune enhancing responses to dengue virus infection. *J Virol* 2012; 86(12):6408-15.
7. Paula SO, Fonseca BAL. Dengue: A Review of the Laboratory Tests a Clinician Must Know to Achieve a Correct Diagnosis. *BJID* 2004;8(6):390-398
8. Miagostovich MP, Santos FB, Simone TS. Genetic characterization of dengue virus type 3 isolates in the state of Rio de Janeiro, 2001. *Braz J Med Biol Res* 2002;35(8):869-72.
9. Oliveira ECL, Pontes ERJC, Cunha RV, Froés IB, Nascimento D. Alterações Hematológicas em pacientes com dengue. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 42(6):682-685, nov-dez, 2009.
10. Souza LJ, Rocha NSM, Campos TF, Silva FS, Souza LA. Velocidade de hemossedimentação na dengue: rastreo e prognóstico. *Rev Bras Clin Med*, 2009;7:309-312
11. Santos VM, Cunha SF, Cunha DF. Erythrocyte sedimentation velocity: current use and limitations. *Rev Assoc Med Bras*, 2000;46:232-236.
12. Chen, RF. Different clinical and laboratory manifestations between dengue haemorrhagic fever and dengue fever with bleeding tendency. *RBAC*, vol 43 (2): 125-130, 2011.
13. Cunha RV, Oliveira ECL. Hematological and biochemical findings in patients with dengue fever: a current issue. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2012;34(2):73-9.

14. Oliveira ACS, Terra APS, Silva Teixeira DN, Dulgheroff ACB, Ferreira DA, Abreu MTCL, Martins PRJ. Alterações do hemograma no diagnóstico da dengue: Um estudo de 1.269 casos na cidade de Uberaba, Minas Gerais. Rev Patol. Trop. Vol. 41 (4): 401-408. out.-dez. 2012
15. World Health Organization. Guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. New edition. Geneva, 2009. Disponível em: http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241547871_eng.pdf. Acesso em 10/10/2016.
16. Chanama S, Anantapreecha S, A-nuegoonpipat A, Sa-gnasang A, Kurane I, *et al.* Analysis of specific IgM responses in secondary dengue virus infections: levels and positive rates in comparison with primary infections. J Clin Virol. 2004; 31(3): 185-9.
17. Guzman M.G. and Kouri G. Advances in dengue diagnosis. Clin Diagn Lab Immunol 1996;3:621-7.
18. Barros EVLP, Botelho RMA. Alterações no hemograma e pesquisa de ns1, IgM e IgG em pacientes com suspeita de dengue. Artigo científico - 2013
19. Soares ML, Collares GB. Diagnostico Laboratorial da Dengue. Lab.com. 2009; 1 (3): e1. <http://www.lab.com.br>. Acesso em 08/05/2016
20. Aragão EPS, Oliveira OMNPF, Ferreira ECPM, Souza TA. Estudo das alterações hematológicas dos pacientes com diagnóstico sorológico de dengue de um hospital privado em Santos – SP Revista UNILUS Ensino e Pesquisa, v. 9, n. 16, jan./jun. 2012.
21. Organización Panamericana de La salud (OPAS). *Dengue y dengue hemorrágico en las Américas*: guías para su prevención y control. Washington: Pan-AmericanHealth Organization; 2000.

