

Informes em Saúde Pública

SIMPÓSIO SOBRE DENGUE

Almério de Castro Gomes

Coordenador



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE SAÚDE PÚBLICA

Comissão de Cultura e Extensão Universitária

saúde pública
saúde pública
saúde pública

Informes em Saúde Pública, 2



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE SAÚDE PÚBLICA

Comissão de Cultura e Extensão Universitária

saúde pública
saúde pública
saúde pública



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Reitor

Prof. Dr. Jacques Marcovitch

Vice-Reitor

Prof. Dr. Adolpho José Melfi

Pró-Reitor de Cultura e Extensão Universitária

Prof. Dr. Adilson Avansi de Abreu



FACULDADE DE SAÚDE PÚBLICA

Diretor

Prof. Dr. Jair Lício Ferreira Santos

Vice-Diretora

Prof^a. Dr^a. Márcia Faria Westphal

Comissão de Cultura e Extensão Universitária (CCEX)

Presidente

Prof. Assoc. Chester Luiz Galvão Cesar

Departamento de Epidemiologia

Membros

Prof. Dr. Delsio Natal

Departamento de Epidemiologia

Prof. Assoc. Rubens de C. F. Adorno

Departamento de Saúde Materno-Infantil

Prof. Dr. Ivan França Junior

Departamento de Saúde Materno-Infantil

Prof^a. Dr^a. Wanda Maria Rizzo Günther

Departamento de Saúde Ambiental

Prof. Dr. Pedro Caetano Sanches Mancuso

Departamento de Saúde Ambiental

Prof^a Dr^a. Ana Maria Cervato Mancuso

Departamento de Nutrição

Prof^a. Dr^a. Patrícia H. de Carvalho Rondó

Departamento de Nutrição

Prof^a. Dr^a. Alice Moreira Dertl

Departamento de Prática de Saúde Pública

Prof^a. Dr^a. Maria Cecília Focesi Pelicioni

Departamento de Prática de Saúde Pública

Carla Vanessa de Souza Caratin

Representante Discente

Márcia Tiveron de Souza

Representante Discente Suplente

Secretária

Renata Andrade Baptista Eufrásio

Equipe de Publicações da CCEX

Coordenador

Prof. Assoc. Chester Luiz Galvão Cesar

Departamento de Epidemiologia

Membros

Prof^a. Dr^a. Alice Moreira Dertl

Departamento de Prática de Saúde Pública

Prof. Dr. Eliseu Alves Waldman

Departamento de Epidemiologia

Prof^a Dr^a. Ana Maria Cervato Mancuso

Departamento de Nutrição

Bibliotecária Angela Maria Belloni Cuenca

Biblioteca/CIR

Av. Dr. Arnaldo, 715
São Paulo - SP
01246-904
f 0 XX 11 3066-7787

Publicações CCEX

A Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo oferece cursos de Graduação em Nutrição, de Pós-Graduação em Saúde Pública e de Extensão Universitária, na forma de cursos de Especialização, Aperfeiçoamento, Atualização e Difusão Cultural.

Os cursos de Extensão Universitária destinam-se à formação de especialistas, aperfeiçoamento e atualização de profissionais, e a difusão de conhecimentos e práticas no campo da Saúde Pública. A temática desenvolvida nesses cursos é ampla e dinâmica, acompanhando as necessidades do público alvo. Os cursos são oferecidos ao longo do ano, incluindo programação especial na forma de um Programa de Verão.

Visando dar maior divulgação às atividades acadêmicas e científicas desenvolvidas pela Faculdade de Saúde Pública, a Comissão de Cultura e Extensão Universitária (CCEX) inicia uma linha editorial composta de três séries: *INFORMES EM SAÚDE PÚBLICA*, *PRÁTICAS EM SAÚDE PÚBLICA* e *CADERNOS DE APOIO DIDÁTICO*.

A série *INFORMES EM SAÚDE PÚBLICA* tem por objetivo divulgar temas de saúde pública abordados em eventos e reuniões técnico-científicos promovidos pela Faculdade, como o Dia Mundial da Saúde (7 de abril) e o Dia Internacional do Meio Ambiente (5 de junho) entre outros. Esses eventos envolvem especialistas nos temas propostos, dentro de uma perspectiva de contribuição para a discussão das políticas públicas. São também divulgados seminários e reuniões científicas sobre temas relevantes para a Saúde Pública.

A série *PRÁTICAS EM SAÚDE PÚBLICA* pretende divulgar, junto a comunidades específicas e profissionais da área, conhecimentos técnicos de saúde pública como subsídio à melhoria das condições de saúde da população. Nela estão incluídos

guias, manuais e similares com linguagem e figuras que facilitem a compreensão dos seus conteúdos pela comunidade à qual se destina.

A série **CADERNOS DE APOIO DIDÁTICO** objetiva tornar disponível material instrucional para ser utilizado nos cursos da Faculdade de Saúde Pública, ou em programas de capacitação de recursos humanos vinculados à saúde pública. Inclui textos com conteúdos teóricos, cadernos de exercícios e materiais diversos importantes para esse tipo de capacitação.

A Comissão de Cultura e Extensão Universitária da Faculdade de Saúde Pública, com essa linha editorial, pretende contribuir com a formação dos profissionais da área da Saúde Pública, e facilitar a comunicação entre a Universidade e os diversos segmentos da sociedade.

Chester Luiz Galvão Cesar
Comissão de Cultura e Extensão Universitária
Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo

Informes em Saúde Pública, 2

SIMPÓSIO SOBRE DENGUE

Almério de Castro Gomes
coordenador

São Paulo
2000

© 2000 Faculdade de Saúde Pública
Universidade de São Paulo

É autorizada a reprodução parcial ou total deste documento, desde que citada a fonte.

SIMPÓSIO SOBRE DENGUE

Data de realização: 29/05/1998

Local: São Paulo, SP.

Promoção: UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE SAÚDE PÚBLICA

Coordenação geral: Prof. Dr. Almério de Castro Gomes

Apoio: Fundação Nacional de Saúde

Simpósio sobre dengue / [organização de] Almério de Castro
Gomes. -- São Paulo : Faculdade de Saúde Pública da Univer-
sidade de São Paulo, 1999. (Informes em Saúde Pública, 2)
97 p.;

1. Dengue I. Gomes, Almério de Castro II. Título III. Série

Editoração: Virgínia Castilho
f 0 XX 11 9142-5155

Índice

Introdução

Almério de Castro Gomes 1

Características dos vírus dengue e de suas replicações

Marize Miagostovich 3

Patogenia do dengue

Luiz Tadeu de Moraes Figueiredo 13

Reflexões sobre aspectos clínicos do dengue

Sônia Maris Oliveira Zagne 25

Diagnóstico laboratorial de dengue clássico e hemorrágico

Luiza Terezinha Madia de Souza 37

Estrutura hospitalar para atenção ao dengue hemorrágico

Marcos Boulos 45

Dengue nas Américas

Carlos Catão Loiola 49

Dengue no Brasil

Paulo Eduardo Guedes Sellera 57

As características temporais, espaciais e pessoais do dengue no Estado de São Paulo

Lygia Busch Iversson 63

Ecologia da transmissão da dengue

Oswaldo Paulo Forattini 69

***Aedes albopictus*: implicações vetoriais em área de ocorrência de febre amarela**

Almério de Castro Gomes 75

Perspectivas das vacinas de dengue.

Luiz Tadeu Moraes Figueiredo 81

Programa do Simpósio 93

Introdução

A realização do Simpósio sobre Dengue na Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo nasceu da necessidade de um debate mais aprofundado dos problemas atuais causados pela introdução e expansão das áreas geográficas da doença no Brasil. Ao mesmo tempo, avaliar aspectos comuns e diferenciados da dengue clássica e hemorrágica na América Latina.

O objetivo principal do Simpósio foi oferecer e discutir, simultaneamente, diferentes abordagens e experiências científicas dos pesquisadores da área, sob a óptica de temas que ampliassem a compreensão das diferentes situações eco-epidemiológicas geradas pelos sorotipos presentes em nosso meio, complementados pela clínica, pelo diagnóstico, pela atenção hospitalar e pelos aspectos sócio-demográficos e vetoriais.

Os temas apresentados no Simpósio resultaram de uma seleção dos aspectos relevantes da dengue que, de alguma forma, pudessem esclarecer situações de risco e contribuir às medidas de combate da doença. Lembra-se que a ausência de alguns temas nos trabalhos ora apresentados foi devido à não revisão dos textos pelos autores, para que os mesmos fossem publicados em tempo hábil.

Os diferentes artigos apresentados demonstraram, mais uma vez, que a dengue encontra-se em franco processo de expansão no Brasil, a despeito da existência oficial de um programa de controle. Se o curso da doença não tem sido alterado significativamente é porque ajustes se fazem necessários, pois há carência de recurso humano devidamente preparado e equipado no setor público.

Por outro lado, além do papel importante do *Aedes aegypti*, este quadro se agrava ainda mais diante da introdução de *Aedes albopictus* em vários estados brasileiros. Afora a dengue, a infestação de *Ae.albopictus* em áreas contendo focos naturais de arbovírus autóctones, como o da febre amarela e outros, associados a presença urbana de *Ae.aegypti*, representa uma incógnita ao risco de novas infecções humanas emergentes.

Finalmente, cresce a preocupação pela falta de um caminho momentâneo, tampouco a médio prazo, para um controle efetivo da doença. Por isso, cresce a preocupação do aumento da incidência dos casos humanos até ser atingido o nível de esgotamento das pessoas suscetíveis para os sorotipo 1e 2. Como se não bastasse esses aspectos particulares do Brasil, existem as pressões para reinfestação permanente dos vetores e introdução de agentes oriundos dos países limítrofes, bem como de outros mais distantes cuja globalização os encarregariam de aproximá-los. Assim sendo, o simpósio foi importante porque trouxe fatos novos e desencadeou um debate, em nível elevado, graças a participação de representantes das universidades, institutos de pesquisa, instituições federais, estaduais, municipais e expressiva platéia, com os quais se fez uma avaliação crítica da situação atual, ao mesmo tempo identificando possibilidade de aprimoramento das medidas de controle da doença.

Prof. Dr. Almério de Castro Gomes

Departamento de Epidemiologia

Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo

Características dos vírus dengue e de suas replicações

Marize Miagostovich

Departamento de Virologia da Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

O dengue é uma doença infecciosa aguda, de etiologia viral, transmitida ao homem pela picada de mosquitos do gênero *Aedes*. É a arbovirose humana de maior importância médica no mundo, com aproximadamente 2,5 bilhões de pessoas expostas ao risco de infecção em cerca de 100 países de clima tropical e sub-tropical (Knudsen ⁹ 1996).

Os vírus dengue (DEN) são descritos como pequenos vírus RNA com propriedades antigênicas diferentes caracterizando 4 sorotipos denominados vírus DEN-1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4 (Sabin ²¹ 1952; Hammon et al. ⁶ 1960). A infecção com qualquer um dos sorotipos leva a uma doença febril conhecida como febre do dengue (dengue clássico). Entretanto, algumas vezes, a infecção segue um curso mais grave com o aparecimento de hemorragias e/ou choque hipovolêmico, caracterizando o dengue hemorrágico (DH) e a síndrome de choque por dengue (SCD). A infecção com um tipo sorológico confere proteção parcial e temporária contra os outros sorotipos, sendo possível a ocorrência de infecções secundárias ou sequenciais, após um período relativamente curto (OMS ¹⁶ 1987).

Os primeiros relatos do dengue datam de mais de 200 anos e descrevem epidemias ocorridas em três diferentes continentes. Em 1779 ocorreram epidemias no Cairo e na Indonésia e em 1780, Benjamin Rush relata uma enfermidade ocorrida de

forma epidêmica na Filadélfia, que pelas características apresentadas sugeriam dengue (Siler et al. ²² 1926).

As primeiras amostras dos vírus foram isoladas durante a Segunda Guerra Mundial, a partir de soros de soldados que contraíram a infecção em Calcutá, Nova Guiné e Havaí (Sabin ²¹ 1952). Os vírus provenientes da Índia, Havaí e uma cepa de Nova Guiné foram antigenicamente semelhantes e denominadas de vírus DEN-1, sendo a cepa Havaí considerada protótipo. Outras cepas de Nova Guiné apresentaram características antigênicas diferentes, permitindo a identificação do vírus DEN-2, hoje considerado prototipo. Os vírus DEN-3 e DEN-4 foram isolados em 1956, durante epidemia de dengue ocorrida em Manila, Filipinas (Hammon et al. ⁶ 1960) e as cepas DEN-3 H87 e DEN-4 H241 são consideradas protótipos.

Inicialmente, os vírus dengue foram classificados como *Flavivirus* do grupo B, gênero pertencente a família *Togaviridae*. Entretanto, foi demonstrado que embora bastante similares em sua morfologia aos membros desta família, os *Flavivirus* apresentam diferenças na estratégia de replicação e morfogênese. Atualmente, os vírus DEN pertencem à família *Flaviviridae* (Westaway et al. ²⁸ 1985) e ao gênero *Flavivirus*, que reúne 68 espécies em 8 grupos sorologicamente relacionados (4 transmitidos por mosquitos, 2 por carrapatos e 2 sem vetores) e um grupo de vírus que não se classificam dentro destes sorogrupos por neutralização, onde se inclui o vírus da febre amarela.

Do ponto de vista epidemiológico os vírus dengue são classificados como arbovírus, pois são mantidos na natureza por um ciclo de transmissão envolvendo hospedeiros

vertebrados e artrópodos hematófagos. A transmissão biológica se dá pela picada da fêmea do mosquito vetor, que ao se alimentar de sangue infectado fornece um mecanismo de transmissão salivar. Este mecanismo requer um intervalo de tempo - denominado de período de incubação extrínseca - entre a ingestão de sangue contendo o vírus e a secreção salivar do vírus.

O homem, os primatas não-humanos e mosquitos do gênero *Aedes* são os hospedeiros naturais dos vírus dengue, sendo o homem o único a desenvolver a forma clínica da doença.

Devido a seus hábitos domésticos o *Ae. aegypti* está envolvido no ciclo urbano do dengue, sendo a espécie mais importante na transmissão dos vírus ao homem. O *Ae. aegypti* está associado à epidemias explosivas que, em geral, tem início durante as estações chuvosas, quando o mosquito vetor existe em abundância (Ehrenkranz et al. ⁵ 1971). Espécies do gênero *Aedes* sub-gêneros *Finlaya*, *Diceromyia* e *Stegomyia* estão envolvidas nos ciclos de transmissão rural e florestal enzoótico, demonstrados na Ásia e África Ocidental.

Morfologia, estrutura do genoma e replicação

Os vírus dengue são esféricos, envelopados, com aproximadamente 40-50 nm de diâmetro. O genoma é constituído por um RNA de fita simples, de polaridade positiva com cerca de 11 kb. O RNA viral é envolto por um nucleocapsídeo de simetria icosaédrica, composto por uma única proteína denominada C, circundada por uma bicamada lipídica associada às proteínas de membrana (M) e envelope (E). A proteína

E forma projeções de 5-10 nm de comprimento, com terminações arredondadas de cerca de 2 nm de diâmetro, ao longo da superfície externa do vírus (Brinton ³ 1986).

A proteína E é a principal proteína estrutural do vírus e é responsável por atividades biológicas do ciclo viral, tais como: montagem da partícula viral, interação com receptores celulares e fusão de membrana, além de ser o principal alvo de anticorpos neutralizantes e possuir atividade hemaglutinante. As proteínas não estruturais NS1, NS3 e NS5 são as proteínas de maior peso molecular e mais conservadas entre os flavivirus. As proteínas NS2a, NS2b, NS4a e NS4b são pouco conservadas, mas possuem domínios hidrofóbicos similares entre os *Flavivirus* (Chambers et al. ⁴ 1990).

O genoma dos *Flavivirus* possui apenas uma fase aberta de leitura, codificando proteínas estruturais (S) e não estruturais (NS). Os genes que codificam as proteínas estruturais C, prM/M e E estão localizados na região 5' do genoma viral. A partir desta região, no sentido 3', estão localizados os genes que codificam as proteínas NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b e NS5 (Chambers et al. ⁴ 1990).

O ciclo de replicação tem início pela entrada dos vírus na célula por endocitose, através da proteína viral do envelope (E) com receptores da membrana plasmática. Anticorpos em concentrações sub-neutralizantes também podem mediar a entrada dos vírus nas células. Este mecanismo de entrada é denominado *ADE (antibody dependent enhancement)* e pode ter papel importante no desenvolvimento do DH/SCD. A síntese de proteínas virais específicas está associada ao retículo endoplasmático rugoso e a replicação do RNA está localizada na região perinuclear

(Brinton ³ 1986). Seguindo a síntese de uma poliproteína de cerca de 3300 aminoácidos residuais, as proteínas virais são individualizadas após clivagem por proteases específicas e as primeiras proteínas liberadas são as estruturais: C, prM (M) e E; seguidas pelas não estruturais: NS1, NS3 e NS5 (Rice et al. ¹⁸ 1986). A fase inicial de latência do ciclo de replicação leva cerca de 12 horas, após as quais a prole do vírus começa a ser liberada.

No homem, os sítios de replicação destes vírus parecem estar restritos as células da linhagem fagocítica mononuclear. Estudos tem demonstrado a presença de antígenos virais em células mononucleares fagocitárias do fígado, pulmão e baço. A presença de antígeno viral no hepatócito sugere a replicação destes vírus no fígado e a detecção de infiltrado de macrófagos CD68+ no cérebro demonstrou que esta pode ser uma das vias de entrada dos vírus no cérebro (Innis et al. ⁷ 1990; Miagostovich et al. ¹⁴ 1997).

Diversidade antigênica e genética dos vírus dengue

A variação intratípica entre os vírus dengue foi inicialmente estudada por meio de técnicas sorológicas que demonstraram diferenças antigênicas e biológicas entre amostras de um mesmo sorotipo (McCloud et al. ¹³ 1971; Russel e McCown ²⁰ 1972). Outras metodologias, tais como a análise antigênica através de painel de anticorpos monoclonais (Monath et al. ¹⁵ 1986), hibridização de cDNA-RNA (Block et al. ¹ 1984; Block ² 1985), hibridização utilizando peptídeos sintéticos (Kerschener et al. ⁸ 1986) e análise com endonucleases de restrição de produtos de RT-PCR (Vorndam et al. ²⁷ 1994), têm demonstrado a variabilidade antigênica e genética entre os vírus dengue.

A determinação de um padrão de *fingerprinting* para cada sorotipo de dengue (Veza et al. ²⁶ 1980) permitiu a análise molecular de variantes dentro de cada sorotipo (Repik et al. ¹⁷ 1983; Trent et al. ²³ 1983, ²⁴ 1989). Assim, Trent et al. ²⁵ (1990) definiram o termo “topotipo”, que representa variantes genéticas que apresentam homologia em pelo menos 70% dos oligonucleotídeos maiores. Com base nesta análise foram definidos oito topotipos para os vírus DEN-1 e dez para os DEN-2.

Entretanto, a técnica de sequenciamento do genoma viral substituiu os estudos com *fingerprinting*, uma vez que permite uma melhor análise das relações genéticas entre as amostras. O sequenciamento de 240 nucleotídeos da região E/NS1, realizado por Rico-Hesse ¹⁹ (1990) caracterizou cinco grupos genômicos para os vírus DEN-1 e cinco para os vírus DEN-2. Posteriormente, o sequenciamento completo do gene que codifica a proteína E do vírus DEN-2 (Lewis et al. ¹² 1993) determinou cinco subtipos que correspondem, essencialmente, aos sugeridos por Rico-Hesse ¹⁹ (1990). O sequenciamento parcial de diferentes amostras de vírus DEN-3 e DEN-4 demonstraram a existência de quatro e dois subtipos genéticos, respectivamente (Lanciotti et al. ¹⁰ 1994; Lanciotti et al. ¹¹ 1997).

A caracterização molecular dos vírus dengue tem sido útil para determinar a origem das amostras, o impacto destas sobre a população e, principalmente, na tentativa de se estabelecer uma correlação de virulência das amostras e sua importância epidemiológica.

Referências bibliográficas:

1. Blok J, Henchal EA, Gorman BM. Comparison of dengue viruses and some other flaviviruses by cDNA/RNA hybridization analysis and detection of a close relationship between dengue virus serotype 2 and Edge Hill viruses. *J Gen Virol* 1984; 65: 2173-81.
2. Blok J. Genetic relationship of the dengue virus serotypes. *J Gen Virol* 1985; 66: 1323-25.
3. Brinton MA. Replication of flavivirus. In: Schlesinger S, Schlesinger M. *The Togaviridae and Flaviviridae*. New York: Plenum Press; 1986. p. 327-65.
4. Chambers TJ, Hahn CS, Galler R, Rice C. Flavivirus genome organization, expression, and replication. *Annu Rev Microbiol* 1990; 44: 649-88.
5. Ehrenkranz NJ, Ventura AK, Cuadrado RR, Pond WL, Porter JE. Pandemic dengue in Caribbean countries and Southern United States: past, present and potential problems. *N Engl J Med* 1971; 285: 1460-9.
6. Hammon WMcD, Rudnick A, Sather GE. Viruses associated with epidemic hemorrhagic fever of the Philippines and Thailand. *Science* 1960; 31: 1102-3.
7. Innis BL, Myint KSA, Nisalak A, Ishak KG, Nimmannitya S, Laohapand T et al. Acute liver is one important cause of fatal dengue infection. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1990; 21 (4): 695-6.
8. Kerschner JH, Vorndam V, Monath TP, Trent DW. Genetic and epidemiological studies of dengue type 2 viruses by hybridization using synthetic deoxyoligonucleotides as probes. *J Gen Virol* 1986; 69: 2645-61.
9. Knudsen AB. Global strategy for the prevention and control of dengue and dengue haemorrhagic fever. In: *Abstracts of the 27th International Seminar On Dengue / 1st Dengue Rio*; 1996; Rio de Janeiro.
10. Lanciotti RS, Lewis JG, Gubler DJ, Trent DW. Molecular evolution and epidemiology of dengue-3 viruses. *J Gen Virol* 1994; 75: 65-75.

11. Lanciotti RS, Gubler DJ, Trent DW. Molecular evolution and phylogeny of dengue-4 viruses. *J Gen Virol* 1997; 78: 2279-86.
12. Lewis JA, Chang GJ, Lanciotti RS, Kinney RM, Mayer LW, Trent DT. Phylogenetic relationship of dengue -2 viruses. *Virology* 1993; 197: 216-24.
13. McCloud TG, Cardiff RD, Brandt WE, Chewsilp D, Russel PK. Separation of dengue strains on the basis of a nonstructural antigen. *Am J Trop Med Hyg* 1971; 20 (6): 964-8.
14. Miagostovich MP, Ramos RG, Nicol AF, Nogueira RMR, Cuzzi-Maya T, Oliveira AV et al. Retrospective study on dengue fatal cases. *Clin Neuropathol* 1997; 16 (4): 204-8.
15. Monath TP, Wands JR, Hill LJ, Brown NV, Marciniar RA, Wong MA et al. Geographic classification of dengue 2 virus strains by antigen signature analysis. *Virology* 1986; 154: 313-24.
16. Organização Mundial da Saúde [OMS]. *Dengue hemorrágico: diagnóstico, tratamento e controle*. Genebra; 1987.
17. Repik PM, Dalrymple JM, Brandt WE, McCown JM, Russel PK. RNA fingerprinting as a method for distinguishing dengue virus 1 strains. *Am J Trop Med Hyg* 1983; 32 (3):577-89.
18. Rice CM, Strauss EG, Strauss JH. Structure of the flavivirus genome. In: Schlesinger S, Schlesinger M. *The Togaviridae and Flaviviridae*. New York: Plenum Press; 1986. p.279-326.
19. Rico-Hesse R. Molecular evolution and distribution of dengue viruses type 1 and 2 in nature. *Virology* 1990; 174: 479-93.
20. Russel PK, McCown JM. Comparison of dengue 2 and dengue 3 virus strains by neutralization tests and identification of a serotype of dengue 3. *Am J Trop Med Hyg* 1972; 21 (1): 97-9.
21. Sabin AB. Research on dengue during World War II. *Am J Trop Hyg* 1952; 1: 30-50.

22. Siler JF, Hall M, Hitchens AP. Dengue, its history, epidemiology, mechanism of transmission, etiology, clinical manifestations, immunity and prevention. *Philipp J Sci* 1926; 29 (1/2):1- 302.
23. Trent DW, Grant JA, Rosen L, Monath TP. Genetic Variation among dengue 2 viruses of different geographic origin. *Virology* 1983; 128: 271-84.
24. Trent DW, Grant JA, Monath TP, Manske CL, Corina M, Fox GE. Genetic variation and microevolution of dengue 2 virus in Southeast Asia. *Virology* 1989; 172: 523-35.
25. Trent DW, Manske CL, Fox GE, Chu MC, Kliks SC, Monath TP. The molecular epidemiology of dengue viruses: genetic variation and microevolution. In: Kurstak E, Marusky RG, Regenmortel MHV, editors. *Applied virology research*. New York: Plenum Press; 1990. v. 2: Virus variation and epidemiology.
26. Vezza A, Rosen L, Repik P, Dalrymple JM, Bishop DHL. Characterization of the viral RNA species of prototype dengue viruses. *Am J Trop Med Hyg* 1980; 29: 643-52.
27. Vorndam V, Nogueira RMR, Trent DW. Restriction enzymes analysis of American region dengue viruses. *Arch Virol* 1994; 136:191-6.
28. Westaway EG, Brinton MA, Gaidamovich SYA, Horzinek MC, Igarashi A, Kaariainen L et al. Flaviviridae. *Intervirology* 1985; 24: 183-92.

Patogenia do dengue

Luiz Tadeu de Moraes Figueiredo

Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

Após serem inoculados através da picada do mosquito os vírus do dengue fazem uma primeira replicação em células musculares estriadas, lisas e fibroblastos bem como em linfonodos locais. Seguindo-se a esta multiplicação iniciam viremia disseminando-se por todo o organismo. Os vírus podem circular livres no plasma ou no interior de monócitos/macrófagos. Sabe-se que os vírus do dengue tem tropismo por estas células fagocitárias, as quais são os maiores sítios de replicação viral.

Os sintomas gerais do dengue com febre e mal-estar surgem após período de incubação de 2 a 7 dias, coincidindo com a viremia. Estes sintomas relacionam-se a níveis séricos elevados de citocinas liberadas por macrófagos ao interagirem com LT *helper* ativados. Observa-se altos teores séricos de IL-2 e de seu receptor solúvel, de CD4 solúvel, IFN- γ com elevação mantida até a convalescença, TNF- α , IL-1 e PAF. A leucopenia e a discreta e transitória depressão medular que se apresentam nestes casos, também, relacionam-se aos altos teores de citocinas macrofágicas. As mialgias são conseqüentes, em parte, à multiplicação viral no próprio tecido muscular, inclusive músculos óculo-motores são acometidos, sendo responsáveis por cefaléia retro-orbitária que muitos pacientes apresentam.

A febre do dengue, nas formas indiferenciada e clássica é alta limitada e o desapa-

recimento da doença coincide com o aparecimento de vigorosa resposta imune³. Os anticorpos, principalmente os que se ligam a epitopos da proteína E, promovem lise do envelope ou bloqueio de seus receptores com conseqüente neutralização viral. A proteína E localizada nas espículas do envelope dos vírus do dengue é fundamental para a ligação viral ao receptor de membrana e possui os mais importantes domínios antigênicos destes microorganismos. Os epitopos de E definem a produção de anticorpos específicos para o tipo viral e para o gênero dengue. Podem ser detectados por múltiplos testes sorológicos (ensaios imuno-enzimáticos e de imunofluorescência; testes de neutralização, de inibição da hemaglutinação e de facilitação da infectividade). A estrutura tridimensional da proteína E consiste de um complexo dimérico com duas subunidades idênticas. E é subdividida em três regiões distintas: I, região central da molécula, contendo o radical amina terminal; II, contém a maior parte dos contatos do dímero; III, inclui o C terminal e tem relação com a virulência de determinadas cepas virais. Os anticorpos contra E são dirigidos a epitopos existentes em toda a superfície externa da molécula. Os anticorpos neutralizantes relacionam-se à específica conformação do epitopo de E nas regiões I e II para um determinado vírus. O mecanismo de neutralização relaciona-se a dissociação do dímero E pela presença do anticorpo, impedindo alterações conformacionais da molécula em determinadas circunstâncias, tais como, mudança de pH. A neutralização, também pode ocorrer com anticorpos ligados à região III, obstruindo o sítio de ligação viral ao receptor de membrana celular.

Anticorpos, produzidos contra NS1, promovem lise viral fixando o complemento. A NS1,

com 40 KDa, possui atividade na maturação viral e é encontrada na superfície, ligada à membrana da célula infectada sendo, também secretada. A imunização com NS1 é capaz de proteger camundongos da encefalite, após serem inoculados com vírus do dengue. Entretanto, o mecanismo de proteção conferido pelas NS1 não é neutralizante das partículas virais e relaciona-se à destruição das células infectadas previamente à liberação da progênie viral. Anticorpos contra NS1 atuam como mediadores de fenômenos de citotoxicidade por linfócitos, através de seus receptores para a porção Fc de imunoglobulinas. A NS3, que apresenta-se em contato com a superfície celular ou é secretada, também, possui capacidade imunogênica. Esta proteína, com 69 KDa, é uma enzima bifuncional nucleotídeo trifosfatase/helicase viral. A presença de NS3 estimula a destruição das células infectadas por LT citotóxicos. LT *helper* e citotóxicos de pacientes com dengue apresentam capacidade de reconhecer epitopos de E, NS1 e NS3 .

Nos pacientes com dengue a resposta humoral produzida por plasmócitos resultantes da ativação de linfócitos B costuma ser vigorosa. Os anticorpos IgM específicos são detectáveis a partir do 4º dia, após o início dos sintomas, atingindo os níveis mais elevados por volta do 7º ou 8º dia e declinando lentamente, passando a não ser detectáveis após alguns meses. As IgG específicas são observadas, em níveis baixos, a partir do 4º dia após o início dos sintomas, elevam-se gradualmente atingindo altos teores em 2 semanas e mantêm-se detectáveis por vários anos, conferindo imunidade contra o tipo infectante, provavelmente, por toda a vida. Anticorpos obtidos durante infecção por um tipo de dengue, também, protegem da infecção por outros

tipos, entretanto, esta imunidade é mais curta, com duração de meses ou poucos anos. Infecções por dengue, em indivíduos que já tiveram contato com outros sorotipos do vírus ou, mesmo, outros *Flavivirus* (como os vacinados contra a febre amarela), podem alterar o perfil da resposta imune, que passa a ser do tipo anamnésico ou de infecção secundária (reinfecção), com baixa produção de IgM e liberação intensa e precoce de IgG.

A resposta imune celular citotóxica por LT ocorre sob estímulo das proteínas NS1, NS3 e E dos vírus do dengue. LT *helper* atuam na presença das células infectadas com dengue que expressam receptores HLA tipo II, produzindo IFN γ , IL-2 e o fator estimulador de colônias de macrófagos e granulócitos. Os linfócitos citotóxicos agri-dem diretamente as células infectadas com dengue, que expressam receptores HLA tipo I, lisando-as. Portanto, as células T participam ativamente na resposta imune reduzindo o número de células infectadas com o vírus, inclusive, conferindo proteção contra reinfecção.

A segunda forma de resposta imune aos vírus do dengue é paradoxal, ou seja, prejudica o hospedeiro infectado e é responsável pela imunopatologia do dengue hemorrágico/síndrome de choque do dengue (*dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome* - DHF/DSS). Esta resposta imune pode ser observada em 2 grupos de indivíduos: acima de 1 ano de idade com uma segunda infecção por dengue (mais de 90% dos casos) e crianças, menores de 1 ano, infectadas pela primeira vez, filhos de mães possuidoras de anticorpos para dengue.

DHF/DSS é comum em países do Sudeste Asiático e Oceano Pacífico Ocidental, onde esta virose ocorre endemicamente, com circulação simultânea de mais de um tipo viral. Nestes locais, a doença acomete, mais comumente, crianças. No Brasil, atualmente, vive-se esta situação com a circulação simultânea dos dengue tipo 1 e 2. Entretanto, em surtos de DHF/DSS ocorridos nas Américas e particularmente, no Brasil, os doentes são, predominantemente, indivíduos adultos de ambos os sexos.

Uma seqüência de infecções por dengue foi claramente definida como importante fator de risco para DHF/DSS. Em epidemias ocorridas no Sudeste Asiático e Ilhas do Oceano Pacífico, observou-se que pacientes com DHF/DSS sofreram, com maior freqüência, infecção inicial por dengue tipo 1, 3 ou 4, seguida, após intervalo de 1 a 5 anos, de infecção por dengue tipo 2. Em 1981, na epidemia de DHF/DSS ocorrida em Cuba, isolou-se de pacientes o tipo 2, 4 anos após a ocorrência de uma epidemia *benigna* pelo tipo 1. Na ocasião, determinou-se que o risco de DHF/DSS, em infecção secundária, seria aproximadamente 100 vezes maior do que em uma primo-infecção. A importância de uma infecção secundária ou terciária por dengue aumentando o risco de DHF/DSS foi corroborada em estudo mais recente efetuado em Myanmar.

Observa-se que nos casos de infecção seqüencial por dengue apresentando DHF/DSS os anticorpos preexistentes, obtidos quando da infecção prévia por outro tipo viral, não neutralizam o segundo vírus infectante de tipo diferente e amplificam a infecção, facilitando a este novo tipo infectante, a penetração em macrófagos. Os vírus utilizam a porção Fc destes anticorpos ligados ao envelope para a ligação com os receptores de membrana Fc γ presentes na membrana celular macrófágica.

Trata-se do fenômeno de facilitação por anticorpos da penetração viral em macrófagos (*antibody dependent enhancement* - ADE). O segundo grupo de pacientes de risco para DHF/DSS são lactentes que receberam, intra-útero, anticorpos maternos contra dengue. Com o passar de meses, estes anticorpos, que apresentam decaimento paulatino, atingem níveis sub-neutralizantes. No caso de infecção destes lactentes pelo mesmo tipo de dengue que causou a infecção materna e na presença dos anticorpos sub-neutralizantes, ocorreria ADE e estes pacientes desenvolveriam DHF/DSS.

Na fisiopatologia do DHF/DSS, agrava o ADE estímulo de IFN γ liberado por LT *helper* ativados, causando uma aumentada exposição de receptores Fc γ em membrana dos macrófagos, tornando-os mais permissíveis ao vírus. Acredita-se que indivíduos com DHF/DSS possuam populações de macrófagos maciçamente infectadas e produzam viremias elevadas. A presença aumentada de moléculas HLA classes I e II nos macrófagos apresentando antígenos, facilita o reconhecimento de múltiplos epítopos virais pelos LT *helper* e citotóxicos.

Os antígenos de dengue expressos na membrana macrofágica induzem fenômenos de eliminação imune por LT *helper* e citotóxicos. Os macrófagos, ativados pelos linfócitos e agredidos ou lisados pelas células citotóxicas, liberam tromboplastina, iniciando fenômenos da coagulação e proteases ativadoras do complemento, causadoras de lise celular e de choque. O TNF- α , de origem macrofágica e linfocitária, encontra-se em níveis séricos elevados, em casos graves de DHF/DSS afetando células inflamatórias e endoteliais, contribuindo para a trombocitopenia, induzindo IL-8, estimulando liberação de histamina pelos basófilos e aumentando a permeabilidade

vascular². A IL-6 sérica elevada, observada em alguns casos graves de DHF/DSS, provavelmente, induz a hipertermia apresentada por estes pacientes. Também, anafilotoxinas como C_{3a} e C_{5a}, leucotrienos, histamina e o fator inibidor do ativador do plasminogênio (impede a fibrinólise e leva à deposição de fibrina intravascular) encontram-se presentes por curto tempo no DHF/DSS.

Estudos mostram altos teores séricos de moléculas CD4 e CD8 solúveis em casos de DHF/DSS sugerindo a ativação de linfócitos T. Nestes mesmos estudos detectou-se altos níveis de IFN- γ , IL-2, TNF- α . Na infecção secundária por dengue, epitopos de células T, particularmente os de proteínas NS, podem ser reconhecidos de forma cruzada entre os vírus e influiriam na agressão macrófágica. A IL-2 conseqüente à ativação de LT estimula extravasamento capilar e ativação de complemento. A agressão pelos LT citotóxicos ativados sobre os macrófagos infectados com dengue é reconhecida. Também, um fator citotóxico induzido pelos vírus do dengue, com 43KD, liberado por LT *helper* foi descrito inicialmente em camundongos. Animais inoculados com este fator simulavam quadro apresentado por pacientes de dengue hemorrágico, com extravasamento de líquidos do intravascular para o interstício. Trata-se de uma citocina com características distintas das outras conhecidas até então, que age sobre células liberadoras de histamina e mata seletivamente algumas células T, macrófagos e megacariócitos. Seu mecanismo de ação é dependente de cálcio e relaciona-se à produção de nitritos e de oxigênio. Sob efeito do fator citotóxico, células desenvolvem apoptose, ocorre liberação de histamina com aumento da permeabilidade vascular e alterações hematológicas. Fator citotóxico similar ao de

camundongos já foi encontrado em seres humanos a partir de células mononucleares ativadas do sangue periférico. O fator citotóxico humano, também, causa efeito dose-dependente similar ao de camundongo. Este efeito pode ser bloqueado com anticorpos específicos contra o fator e antihistamínicos, abrindo futuras perspectivas terapêuticas para o DHF/DSS.

Recentemente, foram descritos em pacientes com dengue anticorpos de reação cruzada entre um epitopo da proteína E e o plasminogênio. A importância destes anticorpos causando uma eventual perturbação da fibrinólise e interferindo nos fenômenos hemorrágicos relacionados a esta doença ainda precisa ser melhor avaliada.

A cepa de dengue infectante nos casos de infecção secundária é reconhecida como provável fator determinante para o aparecimento de DHF/DSS. Evidência disto são diferenças entre seqüências de nucleotídios de cepas de dengue tipo 2 envolvidas em epidemias de DHF/DSS. Também, observa-se nestas epidemias de dengue agravamento clínico dos casos com a progressão do surto sugerindo um aumento da virulência do microorganismo após passagens sugestivas em seres humanos.

Finalmente, fatores do hospedeiro tem papel reconhecido no desenvolvimento de DHF/DSS. Na epidemia de dengue hemorrágico cubana, em 1981, observou-se o maior número de casos em brancos e relacionou-se ainda a anemia falciforme, diabetes melitus e asma brônquica como fatores de risco. Também, fatores genéticos como o haplotipo HLA relacionam-se à gravidade dos casos.

Portanto, o DHF/DSS tem como base fisiopatológica uma resposta imune anômala

envolvendo leucócitos, citocinas e imunocomplexos, causando aumento da permeabilidade por má função vascular endotelial sem destruição do endotélio, com extravasamento de líquidos para o interstício, causando queda da pressão arterial e manifestações hemorrágicas, associadas a trombocitopenia. Conseqüente a estas manifestações surgem hemoconcentração com redução da volemia, má perfusão tissular, hipóxia e acidose láctica. Em autópsias destes casos observa-se hemorragias cutâneas, em trato gastrointestinal, no septo interventricular cardíaco, no pericárdio, em espaços subaracnoideos e superfícies viscerais. Também, a hepatomegalia e derrames cavitários são achados comuns. Os derrames em cavidade abdominal e espaço pleural possuem alto teor protéico com predomínio de albumina e contem pouco material hemorrágico. Nas análises microscópicas de materiais de necropsia observa-se edema perivascular com grande extravasamento de hemácias e infiltrado rico em monócitos e linfócitos. Entretanto, não parece haver dano de paredes vasculares. Em alguns pacientes adultos, com hemorragias, observam-se abundantes megariócitos em capilares pulmonares, glomérulos renais, sinusóides hepáticos e esplênicos. São evidências de coagulação intravascular. Em linfonodos e baço há proliferação linfoplasmocitária com grande atividade celular e necrose de centros germinativos. Reduz-se a polpa branca esplênica e ali observa-se linfocitólise abundante com fagocitose destas células. Na medula óssea ocorre bloqueio da maturação megacariocítica e de outras linhagens celulares. No fígado observa-se hiperplasia, necrose hialina de células de Kuppfer e a presença, em sinusóides, de células mononucleares com citoplasma acidófilo e vacuolizado, semelhantes a corpúsculos de Councilman, lembrando aspecto encontrado na febre amarela. Os hepatócitos

apresentam graus variáveis de esteatose e necrose mediozonal. Os rins tem glomerulonefrite relacionada, provavelmente, à deposição de imunocomplexos em membrana basal glomerular. Chama atenção o fato de que as lesões patológicas observadas, excetuando-se as relacionadas a hemorragias profusas, não justificam a extrema gravidade e o óbito nestes casos de DHF/DSS.

Leitura recomendada:

Allison SL et al. Oligomeric rearrangement of tick-borne encephalitis virus envelope proteins induced by na acidic pH. *J Virol* 1995; 69: 695-700.

Barbosa ML. Dengue: Revisão. *Rev Inst Adolfo Lutz* 1996; 56: 27-45.

Bhamapravati N et al. Pathology of Thailand haemorrhagic fever: study of 100 autopsy cases. *Ann Trop Med Parasitol* 1967; 61: 500-10.

Chambers TJ et al. Flavivirus: genome organization, expression, and replication. *Ann Rev Microbiol* 1990; 44: 649-688.

Chambers TJ et al. Vaccine development against dengue and Japanese encephalitis: report of a World Health Organization meeting. *Vaccine* 1997; 15: 1494-502.

Chen LK et al. Generation and characterization of organ –tropism mutants of Japanese encephalitis virus in vivo and in vitro. *Virology* 1996; 223: 79-8.

Feighny R et al. Purification of native dengue-2 viral proteins and ability of purified proteins to protect mice. *Am J Trop Med Hyg* 1992; 47: 405-12.

Figueiredo LTM, Fonseca BAL. Dengue. In: Veronesi R, Focaccia R, editors. *Tratado de Infectologia*. São Paulo: Atheneu; 1996. p. 201-14.

Figueiredo LTM et al. Study on an enzyme immunoassay for dengue IgG and IgM antibodies detection using infected mosquito cells as antigen. *Trans R Acad Trop Med Hyg* 1989; 83: 702-7.

- Halstead SB et al. Dengue viruses and mononuclear phagocytes I. Infection enhancement by non-neutralizing antibody. *J Exp Med* 1977; 46: 201-217.
- Hober D et al. Serum levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), and interleukin-1b (IL-1b) in dengue infected patients. *Am J Trop Med Hyg* 1993; 48: 324-31.
- Ilkal MA et al. Entomological investigations during outbreaks of dengue fever in certain villages in Maharashtra State. *Indian J Med Res* 1991; 93: 174-8.
- Kliks SC et al. Evidence that maternal dengue antibodies are important in the development of dengue hemorrhagic fever in infants. *Am J Trop Med Hyg* 1988; 38: 411-419.
- Kouri GP et al. Hemorrhagic dengue in Cuba: history of an epidemic. *Bull Pan Am Health Organ* 1986; 20: 24-30.
- Kurane I et al. Dengue virus-specific human CD4⁺ cytotoxic T-cell clones: multiple patterns of virus cross reactivity recognize by NS3-specific T cell clones. *J Virol* 1991; 65: 1823-928.
- Kurane I, Eennis FE. Immunity and immunopathology in dengue virus infections. *Semin Immunol* 1992; 4:121-127.
- Monath TP. Pathology of the Flaviviruses. In: Schlesinger S, Schlesinger M, editors. *The Togaviridae and Flaviviridae*. New York: Plenum Press; 1986. p. 375-424.
- Monath TP, Heinz F. Flaviviruses. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, editors. *Virology*. Philadelphia: Lippincott - Raven; 1996. p.961-1034.
- Monath TP, Tsai TF. Flaviviruses. In: Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG, editors. *Clinical Virology*. New York: Churchill Livingstone; 1997. p.1113-85.
- Morens DM, Halstead SB. Disease severity related antigenic differences in dengue 2 strains detected by dengue 4 monoclonal antibodies. *J Med Virol* 1987; 22: 169-74.
- Nogueira RMR et al. Dengue haemorrhagic fever/dengue shock syndrome (DHF/DSS) caused by serotype 2 in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1991; 86: 269.
- Rey FA et al. The envelope glycoprotein from tick-borne encephalitis virus at 2 Å resolution. *Nature* 1995; 375: 291-8.

Rico-Hesse R et al. Molecular evolution of dengue type 2 virus in Thailand. *Am J Trop Med Hyg* 1998; 58: 96-101.

Rothman AL et al. Molecular basis of immunopathogenesis of dengue hemorrhagic fever. In: *Summaries of the First Dengue in Rio*; 1996; Rio de Janeiro. p. A19.

Russell PK. Immunopathologic mechanisms in the dengue shock syndrome. In: Amos B, editor. *Progress in immunology*. New York: Academic Press; 1971. p. 831-8.

Sangkawibha N et al. Risk factors in Dengue shock syndrome: a prospective epidemiologic study in Rayong, Thailand. *Am J Epidemiol* 1984; 120: 653-69.

Sittisomut N et al. Possible occurrence of a genetic bottleneck in dengue serotype 2 viruses between the 1980 and 1987 epidemic seasons in Bangkok, Thailand. *Am J Trop Med Hyg* 1997; 57: 100-8.

Thant KZ et al. Sequences of E/NS1 gene function from four dengue-2 viruses of Northeastern Thailand and their evolutionary relationships with other dengue-2 viruses. *Microbiol Immunol* 1995; 39: 581-90.

Thein S et al. Risk factors in dengue shock syndrome. *Am J Trop Med Hyg* 1997; 56: 566-72.

Vasconcelos PFC et al. A large epidemic of dengue fever with dengue hemorrhagic cases in Ceará State, Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1995; 37: 253-5.

Woodring JL et al. Natural cycles of vector-borne pathogens. In: Beaty BJ, Marquardt WC, editors. *The biology of disease vectors*. Liwot, Colorado: University Press of Colorado; 1996. p. 51-72.

World Health Organization. *Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment and control*. Geneva: WHO; 1986.

Yang KD et al. Production of cytokines and platelet activating factor in secondary dengue virus infections. *J Infect Dis* 1995; 172: 604-5.

Zagne SMO et al. Dengue haemorrhagic fever in the State of Rio de Janeiro, Brazil: a study of 56 confirmed cases. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1994; 88: 677-9.

Reflexões sobre aspectos clínicos do dengue

Sônia Maris Oliveira Zagne

Departamento de Medicina Clínica da Universidade Federal Fluminense,
Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

O objetivo desta apresentação, é trazer subsídios para a reflexão sobre os conceitos envolvidos no diagnóstico do dengue, que irão permear ou influenciar, a assistência ao paciente. E refletem a necessidade de ampliação da discussão em alguns tópicos, que foram aparecendo com a vivência e reflexão de membros da própria equipe que estruturou o manual, de Dengue, Vigilância Epidemiológica e Atenção ao Doente do M.S. de 1996, que é o documento básico para orientação dos conceitos .

Na introdução, o conceito da doença é: o dengue é uma doença febril aguda, de etiologia viral e de evolução benigna na forma clássica, na maioria dos casos. Pode apresentar duas formas clínicas: Dengue Clássica (DC) e Febre Hemorrágica do Dengue (FHD).

Do ponto de vista clínico, a grande maioria dos pacientes evoluirá para a cura; porem, o conceito de evolução benigna, do meu ponto de vista é questionável. Quando o paciente que tem dengue, sente-se muito doente e fica incapacitado temporariamente, para uma série de atividades do seu cotidiano, na sua rotina da casa e do trabalho, levando a uma piora significativa na sua qualidade de vida. Esta situação tem reflexos na família e sociedade, fazendo com que epidemias de dengue tenham grande custo social e econômico.

Este conceito de evolução benigna lentitica a tomada de posição político e de enfrentamento da situação. A epidemia de dengue pelo sorotipo DEN-1 em 1986-1987 na cidade de Niterói, onde foram notificados 18.644 casos, teoricamente, todos por infecção primária, e no entanto, deixa na cidade cinco óbitos reconhecidos, e hoje confirmados por técnicos de imunohistoquímica. O conceito de que a primeira epidemia de dengue é benigna e só há risco na entrada do segundo sorotipo, deve ser reavaliada dentro da nossa realidade.

A definição de caso clínico abaixo colocada é a que aparece no manual nas páginas 35 e 36.

1 Definição de caso

1.1 Caso suspeito de Dengue Clássico

Paciente que tenha doença febril aguda com duração máxima de 7 dias, acompanhada de pelo menos dois dos seguintes sintomas: cefaléia, dor retro-orbitária, mialgia, artralgia, prostração, exantema.

Além destes sintomas deve ter estado, nos últimos 15 dias, em área onde esteja ocorrendo transmissão de dengue ou tenha a presença do *Aedes aegypti*.

1.2 Caso suspeito de Febre Hemorrágica do Dengue

É todo caso suspeito de Dengue Clássico, de apresente também manifestações hemorrágicas, variando desde prova do laço positiva até fenômenos mais graves como hematêmese, melena e outros.

A ocorrência de pacientes com manifestações hemorrágicas, acrescidas de sinais e sintomas de choque cardiovascular (pulso arterial fino e rápido ou ausente, diminuição ou ausência de pressão arterial, pele fria e úmida, agitação), levam à suspeita de síndrome de choque.

1.4 Caso confirmado de Dengue Clássico

É o caso confirmado laboratorialmente.

Caso confirmado por critério clínico-epidemiológico: é o caso suspeito de dengue clássico, durante uma epidemia, que tenha casos já comprovados laboratorialmente.

1.4 Caso confirmado de Febre Hemorrágica do Dengue

É o caso em que todos os critérios abaixo estão presentes:

- Febre ou história recente de febre de 7 dias ou menos.
- Tendências hemorrágicas evidenciadas por pelo menos uma das seguintes manifestações: prova do laço positiva, petequias, equimoses, púrpura, sangramentos do trato gastrointestinal, de mucosas e outros.
- Trombocitopenia (Plaquetas < 100.000/mm).
- Extravasamento plasmático devido a um incremento da permeabilidade capilar, manifestado por. Hematócrito incrementado em 20% sobre o basal na admissão ou queda do hematócrito em 20% após o tratamento, ou derrame pleural, ascite e hipoproteinemia.
- Confirmação laboratorial.

1.5 Caso confirmado de Síndrome de Choque do Dengue

É o caso de apresenta todos os critérios de FHD mais evidências de choque.

1.6 Caso autóctone

Caso confirmado que foi detectado no mesmo local onde ocorreu a transmissão.

1.7 Caso importado

É o caso confirmado que foi detectado em um local diferente daquele onde ocorreu a transmissão.

1.8 Critérios para descarte de casos

- Caso suspeito com diagnóstico laboratorial negativo (2 IgM amostras pareadas), desde que comprove que as amostras foram coletadas e transportadas adequadamente
- Caso suspeito de dengue com diagnóstico laboratorial de outra entidade clínica.
- Caso suspeito, sem exame laboratorial, cuja investigação clínica e epidemiológica são compatíveis com outras patologias.

Na realidade, falta a definição de caso confirmado clínico-epidemiologicamente de dengue clássico, associando o conceito mantido no caso suspeito, item 1.1 e do critério de exclusão de caso, onde se afasta o caso suspeito, sem exame laboratorial , cuja investigação clínica e epidemiológica são compatíveis com outras patologias.

Embora isto possa parecer óbvio ou redundante, o que se tem observado durante as epidemias de dengue, é uma negligência ou despreocupação com o diagnóstico diferencial da síndrome febril, fazendo com que alguns pacientes, com infecção por outros agentes, notadamente os de etiologias bacteriana, tenham seu diagnóstico e tratamento retardados.

Hoje quando a doença já é endêmica no Brasil, outras formas de apresentação devem ser divulgadas e incorporadas ao conhecimento da equipe de saúde. As manifestações pouco usuais no dengue incluem, alterações do sistema nervoso central, hepatites, pancreatites, síndrome de Reye e a púrpura tromboatopenica imunológica. As manifestações neurológicas podem variar de alterações do nível de atenção a de consciência. Podendo haver também, manifestações motoras, como fraqueza. alteração do tonos, incoordenação motora convulsões. A evolução do quadro neurológico ocorre de 1 a 4 dias e ao exame, o liquor mostra celularidade baixa, com predomínio de células mononucleares e com proteínas elevadas.

As alterações das enzimas hepáticas, não são incomuns no D.H., e em estudo realizado na cidade de Niterói, em 33 pacientes internados com dengue hemorrágico, com sorologia positiva) a dosagem de aminotransferases esteve elevada em 70% dos casos, com média de 131 UI/dl para a AST (TGO) e de 99 UI/dl para a ALT (TGP). Há relato na literatura de hepatite fulminante com óbito por dengue. A síndrome de Reye é uma doença caracterizada por encefalite aguda, associada a infiltração gordurosa e disfunção hepática. Pode levar ao óbito em aproximadamente 10% dos casos. Ocorre após o período febril, com vômitos incoercíveis associado a letargia e ou delírio, e elevação das transaminases com tendência a hipoglicemia.

Na pancreatite, há dor abdominal, vômitos e elevação de amilase e lipase, a semelhança do descrito em outras viroses. A suspeita de púrpura trombocitopenica imunológica, ocorre quando não há recuperação dos níveis de plaquetas, após a primeira semana de doença, que é o comportamento usual, na infecção secundária.

A realidade do dia a dia, no atendimento aos pacientes com dengue, tem mostrado que em alguns, há dificuldade de classificação nos critérios acima descritos. E são exemplo desta dificuldade as situações abaixo listados;

a) Pacientes com quadro clínico epidemiológico de dengue que apresentam plaquetopenia e variação de hematócrito menor que 20%. Ora, poderíamos dizer que trata-se de um paciente com dengue clássico, com plaquetopenia. Mas, se este paciente, esteve internado e recebeu 2.000 ml de solução salina e o mesmo volume de glicosada E.V em 24 hs e mesmo assim, seu hematócrito elevou-se. Deverá ser classificado como?

b) Paciente com quadro clínico epidemiológico de dengue sem plaquetopenia, com hematócrito elevado, sem sinais clínicos de desidratação, que após hidratação abundante em 24 horas, apresenta hematócrito normal. Como classificá-los?

c) Paciente que tem parentes com quadro clínico de dengue e que no mesmo período apresenta cefaléia, mialgia, artralgia, anorexia e exantema. Deve-se colher sorologia para investigação de dengue mesmo na ausência de febre?

Poderíamos aqui listar muitas outras perguntas, mas como o objetivo é só o de fornecer subsídios para um repensar sobre a situação, acho que estes exemplos são suficientes.

Do entendimento de que a doença é única, porém com várias formas de apresentação e que pode ser extremamente dinâmica, é que sai a proposta de classificação e tratamento no capítulo nove, pag. 45. Este tem por filosofia básica, uma orientação aos médicos do atendimento, procurando discutir a forma de apresentação da doença quando o paciente procura o serviço, o local ideal de atendimento, respeitando-se os níveis de complexidade do sistema e da doença. A conduta sobre a solicitação de exames, orientações e plano terapêutico, assim como a necessidade de retorno agendado, são discutidos.

Dengue - Conduta Clínica - Grupo A

1) Identificação:

* Dados epidemiológicos:

- presença do vetor ou casos de dengue na área, ou
- aumento dos casos febris ou de doenças exantemáticas na comunidade, ou
- procedência do paciente

*Quadro clínico: Nos adultos, geralmente há presença de febre, cefaléia, astralgia, mialgia, dor retroorbital, astenia, prostração, exantema, prurido, eritema facial, vômitos, pouca ou nenhuma manifestação respiratória. Nas crianças, o dengue apresenta freqüentemente clínica semelhante a uma síndrome viral inespecífica.

*Prova do laço negativa.

2) Laboratório

- Específico: de acordo com a situação epidemiológica.
- Inespecífico.

3) Conduta

- Tratamento sintomático em casa (antipiréticos, hidratação).
- Retomo ambulatorial após 48 a 72 horas.

Dengue - Conduta Clínica – Grupo B

1) Identificação

- Dados de identificação do Grupo A+
- Qualquer manifestação hemorrágica (prova do laço, petequias, gengivorragia, epistaxe, metrorragia, hematêmese, melena, e/ou outras Hemorragias).

2) Laboratório

- Específico: é recomendado.
- Inespecífico: monitorar hematócrito e plaquetas pelo menos 1 vez por dia. Se existir suspeita clínica de derrames cavitários, solicitar raio X de tórax e outros exames complementares

3) Conduta

- Reidratação oral em regime ambulatorial. Uso de antitérmicos.
- Reidratação parenteral.

Dengue – Conduta Clínica - Grupo C

1) Identificação

- Dados de identificação do Grupo B+
- Sinais de Alerta.

2) Laboratório

- Específico: é obrigatório.
- Inespecífico:
- Tipagem sangüínea.
- Monitorar hematócrito de 4/4 horas.
- Plaquetas (1 vez ao dia).
- Rx de Tórax, para identificar derrame pleural

3) Conduta

- Hidratação venosa em Unidade Hospitalar.
- Infusão de solução salina ou colóide.
- Monitorização hemodinâmica.
- Monitorização laboratorial.

Dengue -conduta Clínica - Grupo D

1) Identificação

As manifestações clínicas incluem alteração do sensório, hipotensão relativa, taquicardia, oligúria, acidose metabólica. pulsos fracos ou ausentes, palidez, sudorese e pele fria.

2) Laboratório

a- Específico: é obrigatório.

b- Inespecífico:

- Tipagem sangüínea;
- Monitorar o hematócrito (pelo menos de 1/2 horas);
- Dosagem de eletrólitos séricos e gasometria sangüínea;
- Contagem de plaquetas, tempo de trombina e protrombina, tempo parcial de tromboplastina;
- Testes de função hepática:
- Monitorar a. perda de plasma através da dosagem de albumina, Rx de tórax e outros exames complementares.

3) Conduta

- Hospitalização imediata. em unidade de terapia intensiva (UTI);
- Acesso de emergência a uma ou mais veias, para infusão de fluídos:
- Infusões intravenosas com solução salina, albumina ou expansores plasmáticos;
- oxigenoterapia;
- administração de sangue total ou componentes do sangue, se necessário;
- prevenção do edema pulmonar.

Outro ponto extremamente constrangedor a este autor, é o seu dever de lembrar, que o paciente com dengue tem direito e necessidade de consulta, ou seja deve ter uma história clínica e exame físico que orientarão o diagnóstico e as condutas decorrentes. Isto do ponto de vista de um único paciente, pode parecer fácil, mas se lembramos que estas epidemias são explosivas, a equipe de saúde ainda tem pouco domínio sobre o manejo destes pacientes e que o sistema de saúde está frágil e sucateado, veremos então o enorme risco para as nossas populações.

É neste aspecto que há necessidade de reforçar a discussão da Rede de Saúde e não só o papel da unidade básica de saúde, pois o que se tem visto no Brasil é que as epidemias de dengue só agudizam e denunciam as crises da assistência. No estudo de casos graves e de óbitos é freqüente a informação de que o paciente procurou o sistema, sem ser atendido com resolutividade ou não foi atendido. O tratamento a uma coletividade com dengue passa por haver.

- a) Uma rede de saúde com recursos humanos em número adequado, capacitado e sensibilizado para a questão.
- b) Pelo modelo assistencial proposto para o Município.
- c) Pela vigilância a saúde exercendo ativamente seu papel.
- d) Pelas medidas efetivas de controle de vetor.
- e) E sobre tudo, de como os técnicos e a comunidade conseguem gerar vontade política nos detentores do poder, para que os itens acima ocorram.

Outra condição que deve ser avaliada é o tempo excessivo da consulta, destinado ao preenchimento de fichas, ou seja, hoje em Niterói um diagnóstico de dengue gera a história no prontuário ou ficha da unidade, uma ficha de investigação ou de notificação, uma solicitação de sorologia e ou de hematócrito e plaquetas, uma receita médica e orientação, sendo que nenhuma destas fichas tem formatação que permita a superposição das informações comuns a todos.

Dentro desta proposta de reflexão sobre o dengue, há outro aspecto que precisa ser apontada. Quem é o responsável pela doença? É a Saúde? Ou seja, nos cabe a responsabilidade por resolver a situação dos doentes e evitar que a doença continue acontecendo? Ou isto na realidade ocorre pela baixa qualidade de vida e educação que nos é próprio. Nesta versão é necessário perguntar onde estão os parceiros do Meio Ambiente, da Educação, do Saneamento e das Finanças pelo governo e onde está a Sociedade Civil) Organizada, para que efetivamente, esta situação seja resolvida?

Diagnóstico laboratorial de dengue clássico e hemorrágico

Luiza Terezinha Madia de Souza

Serviço de Virologia da Divisão de Biologia Médica do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP, Brasil.

A partir de 1986, com a introdução do sorotipo 1 levando ao aparecimento de epidemias nos estados de Rio de Janeiro, Ceará e Alagoas, no Estado de São Paulo a Dengue passa a ser considerada uma doença de notificação compulsória e se estabelece um grupo de trabalho composto pelo Centro de Vigilância Epidemiológica - CVE, pela Superintendência de Controle de Endemias - SUCEN e pelo Instituto Adolfo Lutz - IAL.

A seção de Vírus Transmitidos por Artrópodes do IAL já possuía uma tradição no diagnóstico das Arboviroses e se qualifica dentro da rede da Américas como um Laboratório de referência no diagnóstico de Dengue, uma vez que o diagnóstico laboratorial passa a ser um dos critérios fundamentais para identificar precocemente os indivíduos infectados e para permitir ações de prevenção e controle da doença.

Hoje nas Américas nos temos 53 laboratórios compondo esta rede, em 14 países. Somente 4 países possuem uma rede nacional de laboratórios: (Brasil, Colômbia, México e Venezuela) Todos eles utilizam as mesmas metodologias, reagentes e materiais de consumo da mesma marca e mesmo tipo de equipamentos de forma a garantir um mesmo padrão. Anualmente estes Laboratórios são submetidos a uma prova para aferir a qualidade de seus testes laboratoriais.

No Estado de São Paulo a partir de 1986 iniciamos a realização das técnicas de diagnóstico somente no Laboratório Central do IAL. Em 1987 no Município de Guararapes região de Araçatuba, foram diagnosticados, pela primeira vez, casos autóctones de dengue em nosso Estado. No verão de 1990 e 1991 foi registrada uma grande epidemia na região de Ribeirão Preto, mostrando a necessidade de se descentralizar o diagnóstico laboratorial. Esta descentralização procurou levar em conta a distância com a capital, número de habitantes, índices de densidade larvária do *Aedes aegypti*, incidência da doença. Também procuramos avaliar os Laboratório já estabelecidos dentro da rede de Vigilância do Sarampo e Rubéola, pois quando possível, na época não epidêmica, os casos com faixa etária > 10 anos, com clínica febril mais exantema, que tenham exames negativos para Sarampo e Rubéola são submetidos ao diagnóstico sorológico para Dengue. Estes exames em algumas regiões foram importantes para detectar o aparecimento de casos de dengue em adultos com suspeita de Rubéola. Hoje o diagnóstico sorológico já está descentralizado para 5 regiões atendidas pelos Laboratório de Ribeirão Preto, Presidente Prudente, São José do Rio Preto, Campinas e Marília. A próxima descentralização, em avaliação, deverá ser para a região de Santos.

A confirmação Laboratorial pode ser feita através de técnicas sorológicas e virológicas:

Na sorologia a técnica de escolha hoje é a de MAC – ELISA, que é uma técnica imuno enzimática que permite realizar a captura de anticorpos da classe IgM. Embora um pouco menos específica, sabe-se que ela é mais sensível do que a técnica de Inibição de Hemaglutinação (HI), considerada a técnica padrão para sorologia dos Arbovírus.

Com amostra única colhida a partir do quinto dia de doença a técnica de MAC – ELISA nos permite realizar o diagnóstico, enquanto que para a realização do HI são necessárias duas amostras colhidas na fase aguda e de convalescência da doença, de forma que se possa demonstrar o aumento de quatro vezes no título de anticorpos da classe IgG. Sabemos que na nossa realidade é muito difícil conseguir que o paciente retorne para uma segunda coleta de sangue.

A técnica de Mac-ELISA é a de escolha na rede de Laboratórios pois é sensível e permite liberar resultado em um tempo menor (até 48 horas) , importante para definir medidas de controle. Esta metodologia utilizada no diagnóstico sorológico só nos permite afirmar que se trata de infecção recente pelo vírus Dengue Por isto orientamos, sempre que possível, que a coleta de sangue seja feita no quinto dia de doença porque desta forma você tem a possibilidade de estar detectando anticorpos da classe IgM e ainda tem a chance de isolar o vírus circulante.

O diagnóstico virológico é muito importante pois é o único que nos permite isolar o vírus e identificá-lo através de anticorpos monoclonais específicos. A partir desta identificação é que vamos poder afirmar qual o sorotipo circulante (dengue 1,2,3,4) nas diferentes regiões do Estado e do País e detectar a introdução de um novo sorotipo. O isolamento viral é realizado utilizando-se células de mosquito (C6/36) onde o vírus se desenvolve muito bem como na natureza. Alguns sorotipos podem ser isolados em camundongos latentes. A inoculação em mosquitos é mais utilizada de forma experimental para levantar o título de uma amostra que esta sendo estudada. O isolamento viral para o Estado de São Paulo só é realizado no Laboratório Central,

que também atende os Estados de Mato Grosso do Sul, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Como existe uma grande demanda, com o auxílio e orientação da Vigilância é feita uma priorização das áreas e se realiza um percentual dos casos. Uma vez confirmado o sorotipo circulante de uma região, vamos priorizar outra região de forma que possamos monitorar todo o Estado.

O Laboratório tem também um papel importante que é o da realização de inquéritos soro epidemiológicos para determinar os níveis reais de incidência e prevalência da doença em determinadas regiões.

A presença de antígenos virais pode se detectada em tecidos, através da técnica de imuno histoquímica. A técnica de PCR pode ser realizada a partir do soro ou do isolado viral mas, também pode ser aplicada a bloco de tecido parafinado.

O sucesso do diagnóstico laboratorial depende da qualidade das informações recebidas e da forma de coleta e transporte do material. É importante que a ficha que acompanha a amostra ao Laboratório seja preenchida de forma que tenhamos além do nome, idade e sexo do paciente, pelo menos informações sobre a data do início dos sintomas e data da coleta da amostra. É sabido que a viremia está presente nos primeiros seis dias da doença e o aparecimento de anticorpos da classe IgM só ocorre a partir do quarto dia de doença enquanto que dos anticorpos IgG a partir do sétimo dia. Se a informação das datas de início dos sintomas e coleta da amostra estiver registrada na papeleta o resultado será mais confiável pois, se houver um equívoco na solicitação de exame, por exemplo um MAC –ELISA solicitado em

amostra com 3 dias de doença poderá dar falso negativo pois ainda é cedo para se detectar a presença de anticorpos. Neste caso o próprio Laboratório observando na papeleta o registro das datas, poderá realizar a tentativa de isolamento viral que é mais adequada para esta amostra colhida com 3 dias de doença.

Na infecções primárias o aparecimento do IgG é mais tardio. Nas infecções secundárias o IgG já está elevado no primeiros três dias da doença. A técnica de PCR é muito sensível e pode substituir o isolamento viral mas é muito cara e requer um laboratório de biologia molecular muito bem montado, razão pela qual só é utilizado nos casos de dengue hemorrágico onde não se fechou o diagnóstico por outras metodologias.

Gostaríamos de chamar a atenção para a importância do diagnóstico de Dengue Hemorrágico. Do ponto de vista do Laboratório de Virologia o diagnóstico é realizado da mesma forma mas o que vai diferenciar este diagnóstico são as informações clínicas epidemiológicas associadas aos resultados das provas de dosagem de plaqueta e hemoglobina, bem como a prova do laço e pressão postural.

O fato de se isolar dengue tipo 2 em uma região não é o suficiente para se afirmar que vamos ter dengue hemorrágico. A circulação de 2 sorotipos em um mesmo município aumenta as chances ou predispõe para o aparecimento de casos com clínica hemorrágica.

No Estado de São Paulo em 90/91 tivemos uma epidemia com grande número de casos. Nos anos seguintes de 92/93 e 94 houve uma redução do número de casos, graças a uma efetiva atuação da SUCEN, órgão responsável pelo controle do vetor. Nos anos de 95 ,96 volta a subir a incidência dos casos . Neste ano de 97 com

certeza vamos ter um número maior de municípios com transmissão. Temos observado mudanças no comportamento da epidemia de dengue. Antes o maior número de casos eram confirmados nos meses de dezembro a março, hoje como podemos ver temos municípios onde a transmissão se inicia em abril e os gráficos mostram uma distribuição de casos de novembro a julho.

No Estado de São Paulo por definição do programa de Vigilância de Dengue só são confirmados os casos com diagnóstico laboratorial, diferentemente de todos os outros estados do país onde somente alguns casos possuem resultado de sorologia ou isolamento. Durante muito tempo o laboratório questionou se não poderíamos realizar apenas um percentual das amostras, pois durante as epidemias os nossos Laboratórios ficam muito sobrecarregados com a imensa demanda que chega para ser processada diariamente. Estudos realizados pela Vigilância Epidemiológica mostram que no estudo realizado comparando a clínica dos casos confirmados com a dos não confirmados, ela era muito semelhante, ficando muito difícil se confirmar o caso sem o auxílio do exame laboratorial.

Isto mostra que o diagnóstico laboratorial é importante mas mais importante é que o médico clínico tenha muito cuidado na definição de caso suspeito pois temos mantido uma média de 30% de casos confirmados dentre os notificados como Dengue. Com a possibilidade de termos o aparecimento de casos com quadro grave, hemorrágico o diagnóstico clínico torna-se ainda mais importante.

Para finalizar gostaria de falar da experiência frutífera do Estado de São Paulo, num

trabalho integrado: Vigilância (CVE), Controle (SUCEN) e Laboratório (IAL). A luta pela descentralização das medidas de controle, do diagnóstico, colocando como prioridade a troca de informações de forma mais ágil a nível regional, ainda que com prejuízo das informações a nível central. Com esta articulação o resultado sai imediatamente para a Vigilância e SUCEN, possibilitando que as ações a nível local sejam tomadas o mais rápido possível, agilizando as medidas de controle. A nova proposta do Ministério da Saúde, contida no plano de erradicação do *Aedes aegypti*, teoricamente é muito boa mas a prática nos parece bastante difícil. Esperamos que tenha sucesso pois a cada ano que passa aumenta nossa preocupação com a dispersão do mosquito e dos casos de doença em nosso Estado.

Estrutura hospitalar para atenção ao dengue hemorrágico

Marcos Boulos

Departamento de Doenças Infecciosas e Parasitárias da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

Dengue é a maior causa de morbidade em áreas tropicais e subtropicais. Estima-se que ocorram cerca de 100 milhões de casos de dengue anualmente com mais de 250.000 graves devido à forma hemorrágica¹.

Sabe-se que a maioria dos casos graves ocorrem entre crianças, provavelmente devido aos estímulos imunogênicos contínuos que transformam os adultos em imunes (as infecções ocorrem principalmente quando crianças).

Aprendemos ainda, com as repetidas epidemias de dengue hemorrágico ocorridas, que entre 10 a 15% das pessoas infectadas necessitam de hospitalização e que a maior ou menor mortalidade está relacionada a melhor ou pior estrutura de saúde (hospitalar) existente.

Assim é que em epidemias de dengue hemorrágico ocorridas nas Filipinas onde o serviço hospitalar é deficitário, a mortalidade estimada foi de 20%, enquanto que em Cuba com sistema de saúde mais abrangente, a mortalidade foi de 0,5%.

O Brasil tem contato bastante recente com epidemias de dengue, sendo que a população só agora começa a ficar infectada nos grandes centros urbanos. Devido

ao exposto, as epidemias de dengue hemorrágico foram de pequena abrangência, acometendo principalmente adultos.

Se a epidemia de dengue hemorrágico que ocorreu na cidade do Rio de Janeiro em 1991, por exemplo, tivesse a mesma abrangência das ocorridas no sudeste asiático, poderíamos ter de 100.000 a 150.000 pessoas necessitando de hospitalização em curto período de tempo, o que consistiria numa tragédia, devido a indisponibilidade de estrutura hospitalar para atender esse aumento de contingente naquela cidade.

Quando estamos diante de uma epidemia de dengue hemorrágico é fundamental que a estrutura sanitária esteja preparada para fazer diagnóstico e tomar as condutas necessárias precocemente, pois assim poderemos evitar altas taxas de mortalidade.

Tem sido aconselhado pela Organização Mundial da Saúde² a preparação de estrutura ambulatorial para atendimento inicial dos pacientes durante uma epidemia de dengue hemorrágico, capacitada para a realização de exames laboratoriais de urgência (hematócrito, contagem de plaquetas) e fazer as primeiras abordagens terapêuticas através hidratação parenteral.

Quando o paciente, após o atendimento inicial, continuar com hematócrito elevado, tiver tendência a diminuição da pressão arterial, apresentar extremidades frias, ou apresentar sangramentos, necessita ser hospitalizado, e se em choque, em unidade de terapia intensiva, para que possa ser restabelecido o equilíbrio hidro-dinâmico do paciente.

Não é necessário que se disponha de estrutura hospitalar especializada para atender pacientes com dengue hemorrágico, mas sim que a estrutura hospitalar existente esteja bem aparelhada, com recursos humanos suficientes em número e bem treinados, para que seja possível também criar condições para a montagem de estrutura ambulatorial para o atendimento inicial.

Se hoje tivéssemos uma epidemia de dengue hemorrágico nas dimensões vistas no sudeste asiático ou em Cuba, certamente estaríamos em apuros. Precisamos, portanto, criarmos condições adequadas para treinamento e manutenção de pessoal e reequiparmos nossos hospitais universitários sempre sucateados.

Leitura recomendada:

Vaughn DW et al. Dengue in the early febrile phase: viremia and antibody responses. *J Infect Dis* 1997; 176: 322-30.

World Health Organization. ***Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment and control.*** Geneva: WHO; 1986.

Recomendações:

1. Treinamento do corpo de saúde nos hospitais universitários para a iminência da epidemia de dengue hemorrágico.
2. Realização de seminários sobre o tema nos diferentes congressos médicos e em todos grandes centros urbanos com participação do “staff” dos principais hospitais.
3. Constituir um grupo de peritos para coordenar o treinamento, evitando assim informações equivocadas.

Dengue nas Américas

Carlos Catão Prates Loiola

OPAS/OMS, Brasília, DF, Brasil.

Justificou a ausência do Dr. Cristian Frederickson que, por razões de demanda de serviço e a pedido do Ministério da Saúde, encontrava-se no Rio de Janeiro, fazendo um trabalho junto à Fundação Nacional de Saúde, justamente na área de interesse do programa de controle de dengue.

A Organização Panamericana da Saúde, a quem estamos representando neste Simpósio se sente honrada, e nós também, em podermos participar deste evento, inclusive no qual certamente aprenderemos muito sobre Dengue.

Eventos desta natureza são extremamente importantes para o nosso país e, cada vez mais, devemos estimulá-los.

Somente através deste aprendizado e do compartilhamento de informações é que vamos poder enfrentar os problemas que nos vêm desafiando.

Com relação à Situação Epidemiológica do Dengue nas Américas, devemos recapitular um pouco da história.

A reemergência do Dengue nas Américas começou na década dos anos 60 quando ocorreram importantes epidemias na Venezuela, em várias ilhas do Caribe, incluindo Porto Rico e Jamaica.

Na segunda metade da década de 70, se reintroduz o dengue 1 ocasionando uma pandemia que afetou os países da América Central (El Salvador, Honduras e Guatemala), América do Norte (México e o Estado do Texas nos Estados Unidos), além de países do norte da América do Sul (Colombia, Venezuela, Guyana Francesa, Suriname e Guyana).

Durante esta pandemia, ocorrida no período de 1978-1980 foram notificados 700.000 casos de dengue, mas a estimativa é que tenham ocorrido vários milhões de casos nesta década, principalmente no final dos anos 70.

Na década dos anos 80, volta-se novamente a registrar-se várias epidemias importantes em países endêmicos e, sobretudo nesta ocasião, foi que se registrou uma importante expansão do dengue 1 à América do Sul.

Cinco países foram especialmente afetados por estas epidemias (Brasil, Bolívia, Equador, Paraguai e Peru), ocasião em que se estimou que vários milhões de pessoas foram atingidas pelo sorotipo 1 do Dengue.

Estes países estavam livres do dengue por várias décadas ou jamais haviam notificado a ocorrência desta doença em seu território.

No ano de 1994, há registro de um dado muito importante na história do dengue nas Américas, a reintrodução do sorotipo III que ocorreu simultaneamente no Panamá e na Nicarágua, inclusive provocando uma epidemia muito grave de dengue hemorrágico causada por este sorotipo.

Em 1995 o dengue III se disseminou a outros países da América Central (exceto Belize) e a México, causando surtos importantes de dengue.

O dengue sorotipo III não circulava nas Américas desde 1978 (16 anos de ausência) e se estima que aproximadamente 200 milhões de pessoas suscetíveis estejam residindo em áreas infestadas pelo *Aedes aegypti*, o que constitui um risco potencial de disseminação deste sorotipo e da ocorrência de importantes epidemias.

A partir do ano de 1995 foram registradas importantes epidemias de dengue na América Central, Caribe, e na América do Sul, particularmente no Brasil, com um registro de mais de 280 mil casos notificados por 41 países, o que representa a maior incidência de dengue desde 1981.

Em 1996 foram notificados 250.707 casos , dos quais aproximadamente 80% ocorreram no Brasil.

Com relação ao **Dengue Hemorrágico**:

As condições sociais e epidemiológicas, que são responsáveis pela ocorrência do dengue de característica grave que tem ocorrido no continente asiático, estão presentes hoje no continente americano com um quadro de evolução que a Ásia presenciou e que hoje sofre em consequência disto.

Para quem estuda a história do Dengue no continente asiático sabe que ela teve uma evolução de aproximadamente cinquenta anos e que este processo está muito

parecido com o que esta ocorrendo nas Américas; ou seja, estamos diante de um processo de evolução, de gravidade da doença, muito semelhante ao que ocorreu no continente asiático. Fato que merece uma reflexão bastante séria a respeito.

Muitas destas preocupações foram aqui colocadas: a organização de serviços, sob ponto de vista de disponibilidade de diagnóstico, da abordagem da intervenção, do papel dos vários setores no combate a essa doença e mais fundamentalmente sobre qual é o papel do setor saúde e qual é o papel dos outros setores no combate a doenças como o dengue.

A primeira e a mais grave epidemia de dengue hemorrágico registrada nas Américas foi causada pelo dengue II em Cuba em 1981, durante a qual se notificaram 344.203 casos de dengue, 10.312 casos de dengue hemorrágico e 158 óbitos.

A segunda epidemia mais importante foi registrada na Venezuela no período de 1989-1990, durante o qual se notificaram 5.990 casos e 70 óbitos.

Os virus circulantes foram os sorotipos 1,2, e 4, ainda que nos casos fatais somente se detectaram o dengue 2.

Ao redor de 2/3 dos casos e óbitos de DH notificados por Cuba e Venezuela foram em crianças menores de 14 anos.

Daí para cá começaram a ser registrados, com mais freqüência, casos de dengue hemorrágico.

Em 25 países das Américas já foram registradas ocorrências de dengue hemorrágico.

Hoje, definitivamente, está é uma séria ameaça, não só para as Américas, mas para vários países do mundo e, em especial para o Brasil.

Diante disto, devemos refletir bastante a respeito deste assunto e nos prepararmos para enfrentar problemas que certamente virão por aí.

Observando a evolução do dengue hemorrágico nas Américas, verificamos que no período de 1968 à 1980 tínhamos apenas cinco países notificando e um registro de apenas 60 casos.

No período de 1981 à 1994 passamos a ter 15 países notificando e um registro de 29 mil casos.

Hoje esse dado já está alterado, são 25 países notificando e mais de 40 mil casos relatados. Uma evolução cada vez maior, não só em número de áreas que estão comprometidas mas também em número de ocorrência de casos.

Uma série histórica de 1980 à 1997 mostra a evolução do dengue nas Américas. A grande epidemia de Cuba (1981) e o registro de um aumento considerável no número de casos a partir de 1994 com destaque para 1997 com mais de 350 mil casos de dengue.

O Brasil, que certamente contribui com 80% de todos os casos registrados neste ano, está liderando com mais de 240 mil casos notificados, seguido do México e da Venezuela.

Com relação à ocorrência de Dengue Hemorrágico, os dados disponíveis e correspondentes ao ano de 1997 revelam que ocorreram mais de 11 mil casos de dengue hemorrágico nas Américas, o que demonstra ter havido um considerável aumento do número de casos e, se examinarmos a série histórica de 1988 à 1997 poderemos comprovar esta afirmação.

Observa-se que a Venezuela, seguida da Colômbia e depois do México foram os países que mais registraram casos de DH no ano de 1997.

O Brasil, com um número bem elevado de casos de dengue, registra muito menos casos de DH do que a Venezuela que tem registrado um número bem menor de casos de dengue clássico. Este é um dado muito interessante a ser estudado.

Aqui, hoje, foram colocadas questões que podem explicar, em parte, o que está ocorrendo, podendo se concluir que sua expansão é apenas uma questão de tempo.

Lamentavelmente daqui há alguns anos, talvez, a situação do Brasil esteja bem parecida com a da Venezuela, e esta é uma questão que merece ser discutida e melhor estudada; inclusive quanto à própria tipologia dos vírus, das cepas, da imunologia e de uma série de outros fatores que estão relacionados com esta situação.

Vejamos a seguir os dados 1996 que mostram os vários sorotipos que estão circulando nos países das Américas.

Na América do Sul está circulando 1, 2 e 4.

Na Bolívia 2; na Colômbia e Equador 1,2 e 4 ; no Brasil e Peru 1 e 2 e na Venezuela 2 e 4.

É importante registrar que o sorotipo 4 está presente na Colômbia, Equador e na Venezuela, portanto o risco de sua reintrodução no Brasil é muito grande.

Este sorotipo já esteve presente no território brasileiro, em 1982 no Estado de Roraima.

Na América Central a Guatemala e o México registram a ocorrência dos quatro sorotipos, com mais intensidade o 1 e 3.

Na região do Caribe estão circulando os sorotipos 1, 2 e 4.

É importante constatar que a situação do dengue, não só no Brasil mas nos países que formam o continente americano é muito grave.

Diante disto, devemos refletir muito sobre esta situação e aproveitar a oportunidade para aprender com toda esta diversidade de comportamento desta doença.

O Brasil está numa situação extremamente preocupante porque é um país que tem características de vulnerabilidade e receptividade muito fortes para novas epidemias de dengue e de dengue hemorrágico, além do risco da urbanização da febre amarela.

A presença de altas densidades de *Aedes aegypti*, em numerosos centros urbanos

localizados em áreas enzooticas de febre amarela selvática, constitui um risco potencial de urbanização desta doença.

Nos demais países das Américas, este risco foi particularmente importante durante a epidemia que assolou o Peru em 1995, durante a qual foram notificados 492 casos com 192 óbitos; muitos dos quais hospitalizados em áreas urbanas infestadas pelo *Aedes aegypti*.

Em vários países das Américas continuamos registrando a ocorrência de casos de febre amarela silvestre; muito deles bem próximos do Brasil, onde também temos áreas com transmissão ativa desta doença.

Temos o dever de chamar a atenção para este fato e a obrigação de exigir que medidas de proteção, para as populações expostas ao risco, sejam colocadas imediatamente em prática.

Os países das Américas, que estão hoje infestados pelo *Aedes aegypti*, vivem sob ameaça de epidemias de dengue e dengue hemorrágico cada vez mais severas. Por esta razão eles devem realmente se organizar, se estruturar para tentar reverter esta situação ou, pelo menos, minimizá-la para que não ocorram muitas mortes e para que populações imensas não continuem sendo acometidas por essa doença.

Dengue no Brasil

Paulo Eduardo Guedes Sellera

Fundação Nacional de Saúde, Ministério da Saúde, Brasil.

O Ministério da Saúde apoia a realização deste evento por ser importantíssimo os debates desta natureza, uma vez que a situação da dengue é muito preocupante, ao lado da possibilidade da reurbanização da Febre Amarela.

A presença do *Aedes aegypti*, sem dúvida alguma, é determinante tanto para o risco de aumento dos casos de dengue hemorrágico quanto da ocorrência de febre amarela urbana no país que, desde 1942, não se tem mais registro. Houve uma grande preocupação este ano quando se noticiou casos compatíveis com febre amarela em Fortaleza, mas felizmente, desta vez não foram confirmados. A Fundação Nacional de Saúde está desenvolvendo um plano de intensificação de vacinação contra febre amarela na área endêmica do tipo silvestre, e já se discutiu com um grupo de especialistas no Rio de Janeiro uma melhor proposta para se vacinar o Brasil. Um caso de febre amarela urbana seria uma vergonha nacional, quando se tem uma vacina eficiente para evitá-la. Como fazer é o grande desafio. A população exposta em área de *Aedes aegypti* chega hoje a 110 milhões de pessoas, enquanto a área geográfica de transmissão de dengue atualmente abrange 83 milhões, significando que existem índices de infestação do vetor capazes de desencadear ambas doenças.

Dengue no Brasil: O Brasil tem confirmado laboratorialmente a transmissão de Dengue desde 1982, com isolamento dos sorotipos 1 e 4 em Boa Vista, Roraima.

Este último sorotipo nunca mais foi identificado em nosso país. Até 1990 só o tipo 1 circulou no Brasil. A partir do mesmo ano no Rio de Janeiro foi identificado o sorotipo 2 e agora ambos circulam numa grande parcela da população e de municípios.

Em 1980 existiam 12 municípios infestados com *Aedes aegypti*, quando, a nível nacional, havia um programa de erradicação vertical que se prolongou até 1993, o qual foi perdendo força ao longo desses anos, sendo parte disto resultante da redução do quadro de funcionários federais. A última grande reposição de funcionários ocorreu em 1987, apenas para o Rio de Janeiro.

Desde 1993, iniciou-se um novo programa de controle de *Aedes aegypti*, a nível Nacional, que prolongou-se até 1997. Entretanto, no ano de 1996 iniciou-se uma nova discussão sobre o plano de erradicação do *Aedes aegypti* do Brasil, optando-se pelo retorno ao modelo de erradicação descentralizado, para substituir as medidas em uso uma vez que os programas anteriores não vinham impedindo o avanço da distribuição de *Aedes aegypti*, bem como o aumento do número de casos de dengue notificados. O Ministério tem números bem marcantes: de 1994 a 1995 o número de municípios infestados dobrou e neste caso alguém pode perguntar se a situação do país piorou. Neste sentido, devo dizer que houve a intensificação da pesquisa larvária significando inspeção de maior número de municípios, daí parecer um aumento expressivo. E isto tanto é verdade que muitas vezes o conhecimento da transmissão da dengue foi anterior ao da infestação do vetor. Logo não se deve atribuir à expansão exclusivamente a dispersão do *Aedes aegypti* no país ao referido período do programa de controle.

Em 1997, o quadro de dengue no Brasil era o seguinte: a grande concentração do número de casos era na região Nordeste, principalmente Paraíba, Bahia, Pernambuco

e Rio Grande do Norte, sendo que Bahia e Pernambuco, já tradicionalmente desde 1994, vinham liderando com um grande número de casos. Em 1998, ocorreu uma inversão da tendência de 1994, passando o Sudeste a liderar o número de casos, ou seja, em 1997 o Nordeste tinha 81% dos casos e 1998 32,5%; ao passo que o Sudeste de 9,6% passou para 57,0%. Isto pode ser explicado pelo esgotamento de suscetíveis devido a intensa transmissão no Nordeste, enquanto no Sudeste apenas no Rio de Janeiro o esgotamento foi mais elevado. Por outro lado, a maior rapidez nas assinaturas dos convênios para financiamento do programa teve reflexo na redução dos índices de infestação na região Nordeste, contribuindo para controlar a transmissão. Em 1997, a nossa preocupação com a região Norte estava basicamente no Pará, onde realmente vinha apresentando um número muito grande de casos de dengue e um controle menos eficaz. O Pará tem uma situação climática praticamente favorável ao vetor durante todo o ano, enquanto a estrutura de apoio da Fundação era muito pequena para percorrer todo o Estado. Ao lado disto, pouca organização existiria entre Estado e municípios para fazer frente a este problema, sobretudo pela priorização do combate à Malária. Em 1998, Manaus registra mais de 5 mil casos de dengue e encontra-se em situação climática e de estrutura semelhante ao Pará. Pernambuco, Rio Grande do Norte, Ceará, Bahia (26,2%) dentro da região Nordeste eram os Estados que mais contribuíam com casos de dengue em 1998, enquanto a Bahia teve uma redução drástica no número de casos. A participação de casos notificados em relação ao Nordeste foi de apenas 3.1%. O Piauí aumentou 10.5% com relação ao quadrimestre de 1997. A Paraíba teve uma redução em relação a 1997, mas mesmo assim, teve uma fatia importante no número de casos de 1998. Pernambuco também teve redução em relação ao ano anterior, mas continuou sendo

importante. Sergipe foi onde registrou-se aumento no número de casos em 1998, em relação ao ano anterior. O Maranhão, embora com situação indefinida, poderá ter número de casos elevados em função de chuvas que continuam ocorrendo nessa época do ano. Com certeza, Bahia e Pernambuco tiveram realmente um envolvimento muito grande na questão de contratação de pessoal para os municípios, o que também refletiu na redução dos índices. Na região Centro-Oeste em 1998 temos uma redução muito grande no Mato Grosso do Sul em relação ao ano passado, sendo um dos estados que saiu na frente quanto a discussão do projeto de erradicação de *Ae. aegypti*. Goiás teve também em 1998 uma redução em relação ao ano passado, mas por conta da transmissão em Goiânia, o quadro de casos está mais elevado, porém sob controle. Para o Distrito Federal o número de casos vem aumentando em 1998, contrariando as expectativas de técnicos que consideraram pouco provável a infestação do Distrito Federal por *Ae. aegypti*.

Na região Sudeste, o Estado de Minas Gerais em 1997 teve 21% dos casos da região, São Paulo 9,2%, Espírito Santo 60,7%. Em 1998, Minas Gerais e Espírito Santo registraram 138 mil dos 245 mil casos da região Sudeste, isto é, 86 mil para Minas Gerais e 38 mil para Espírito Santo. Na região Sul, por enquanto apenas o Paraná teve transmissão, embora já exista indicadores em Santa Catarina e Rio Grande do Sul devido a detecção de um grande número de municípios com *Aedes aegypti* em 1997.

Em Minas Gerais, o número de casos foi muito diferenciado; em Sergipe, a transmissão foi regular durante o ano. No Espírito Santo, houve uma queda abrupta em relação à transmissão, apesar das ações de controle vetorial terem sido desencadeadas tardiamente. Apesar disso, foi possível reverter rapidamente esse quadro, não sendo

a redução atribuída, com certeza, ao esgotamento de suscetíveis, pois esta se deu em nível muito drástico nos índices de infestação vetorial por *Aedes aegypti*. A Bahia não aparece aqui porque praticamente não teve representatividade em número de casos em 1997. Em Salvador a transmissão foi debelada por conta de ações de controle do mosquito ou por mudanças climáticas severas que controlaram os índices vetoriais de infestação. Isto também precisa ser confirmado através de um inquérito sorológico para se detectar o nível de esgotamento dos suscetíveis. A Bahia está numa situação bem melhor do que nos anos anteriores. Goiás e Pernambuco têm quadro de registro pior que 1995 e 1996, mas ainda melhor do que 1997. O Rio de Janeiro, está numa situação intermediária em relação ao que ele já esteve em 1995.

Na região Sudeste a transmissão de Minas Gerais está caindo mas o índice de infestação não reflete a situação, o que poderia estar relacionado ao esgotamento de suscetíveis, pois Belo Horizonte tem mais de 80 mil casos notificados. Os índices de infestação e os recipientes em que *Ae.aegypti* está se criando, ao meu modo de entender, deveriam ser alguns dos instrumentos para prever o que está acontecendo e até avaliar as ações de combate. No Nordeste o armazenamento de água é um fator muito sério e, com certeza, se nós conseguíssemos colocar algum centavo para melhoria do armazenamento de água, nós iríamos também contribuir para redução dos índices de infestação e da transmissão. No Sudeste a situação é um pouco diferente, devido a vasos de plantas e pneus na criação de *Ae.aegypti*.

A descentralização das atividades, em que pesem algumas críticas, permitiu que a pesquisa se estendesse a lugares onde o nível federal ou estadual nunca foram

de uma forma rotineira. Portanto, espera-se até o final do ano a descoberta de novos municípios infestados. Com isto, o Ministério da Saúde tem como priorizar onde o mosquito transmissor da dengue poderia ser combatido, de uma forma adequada e duradoura, mudando as condições que estão favorecendo sua criação em recipientes domésticos. Ao lado disto, existe ainda a necessidade de pesquisa relacionada à questão climática, cujos estudos da agricultura poderão ser úteis no combate aos vetores de importância em Saúde Pública. Com certeza, as Universidades e Institutos de Pesquisa devem estar utilizando esses instrumentos, mas na rotina do serviço ainda não. Então é preciso que se tenha uma visão mais ampla do que a simples análise de escritórios.

Quanto ao *Aedes albopictus* ainda é um grande ponto de interrogação, pois pouco é conhecido, a nível nacional, sobre este mosquito. No nosso meio mantém aspecto silvestre ao utilizar ocos de árvores e se estendendo para área de transmissão de febre amarela silvestre, cujo *Ae. aegypti* está presente na área urbana do país. Então, este vetor poderia tornar-se um elo de transferência da febre amarela silvestre para dentro dos centros urbanos.

Quanto a Febre Amarela, discute-se uma reunião para decidir estratégia de se vacinar a população de áreas endêmicas que mantêm *Ae aegypti*. Treinamentos e manual de febre amarela também estão sendo preparados para o sistema de vigilância contra esta doença. No ano passado, 20% dos casos notificados eram confirmados a nível nacional, enquanto esse percentual está em torno de 40%. Acredito e espero que o aumento do número de casos e a capacitação dos servidores atuem diretamente sobre o problema. Com isso, acredito que a tendência é uma melhoria da qualidade desse sistema de vigilância epidemiológica, na notificação e prevenção dos casos.

As características temporais, espaciais e pessoais do dengue no Estado de São Paulo

Lygia Busch Iversson

Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

O período a ser considerado estende-se de 1987, quando ocorreram os primeiros casos autóctones no Estado, até a presente data, maio de 1998.

Na análise da primeira característica, **tempo**, cabe situá-la em um contexto do país, que se inicia no século passado abrangendo dois períodos: o primeiro de 1846 a 1923, quando há relatos clínicos de casos de dengue no Rio de Janeiro em 1846, em Curitiba, Paraná em 1896, no Rio Grande do Sul em 1914 e no Rio de Janeiro e em Niterói em 1922 e 1923; o segundo período, de 1981 a 1998, quando já se dispunha de diagnóstico virológico e já havia ocorrido reinfestação do país pelo *Aedes aegypti*, caracterizando-se pelas seguintes ocorrências: em 1981 epidemia em Boa Vista, Estado de Roraima, com isolamento dos vírus de dengue sorotipo 1 sorotipo 4; em 1986 epidemia pelo sorotipo 1 em Nova Iguaçu, próximo ao Rio de Janeiro, disseminando-se a municípios vizinhos e aos estados de Alagoas, Pernambuco e Ceará; em 1987 presença de casos autóctones nos estados de São Paulo, Minas Gerais e Bahia, causados pelo mesmo sorotipo 1; no período de 1990-1994 casos em Mato Grosso do Sul, Goiás, Maranhão e Piauí pelo sorotipo 1, no Rio de Janeiro, Ceará e Alagoas pelos sorotipos 1 e 2 e em Tocantins uma extensa epidemia pelo sorotipo 2.

No Estado de São Paulo, no período de 1987 a maio de 1998 são conhecidos 29.507 casos autóctones de dengue. A incidência desses casos visualizada na tabela e gráficos apresentados, revela a presença de picos epidêmicos em 1990, 1991, 1995 e 1996 e 1998, com coeficientes de incidência máximos de 20,3/100.000 em 1996 e de 15,5/100.000 em 1998, até maio. A situação grave de infestação do Estado por *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em 1994 repercutiu na maior incidência da doença em 1995, 1996 e 1998.

Os dados relativos a distribuição mensal dos casos mostram que o período de janeiro a maio, época de altas temperaturas e maior índice pluviométrico, concentrou proporção maior de casos.

Outro aspecto a ser enfatizado refere-se a distribuição dos casos segundo local de infecção, verificando-se, no período 1995-1998, proporção muito alta de casos autóctones do Estado. Exemplificando, em 1995 foram 6.048 casos autóctones (95,7%) para 271 casos importados (4,3%), Nesse ano de 1995 estávamos há 10 anos de primeiro caso importado e há 8 anos dos primeiros casos autóctones.

A transmissão de dengue sorotipo 1 no Estado iniciou-se em 1987 na região oeste, Araçatuba e área rural de Guararapes, limitando-se a esses locais pela rápida intervenção profilática. Em 1990 irrompeu epidemia causada pelo mesmo sorotipo 1 em Ribeirão Preto na região nordeste, que se expandiu a 7 outros municípios vizinhos.

A transmissão do dengue sorotipo 2 foi observada em 1996 nos municípios de Piracicaba e Itápolis. Nos anos seguintes o vírus foi isolado em São José do Rio

Preto, em 1997, e em Santos, Sumaré, Itápolis, São José do Rio Preto e outros três municípios vizinhos, em 1998.

Provavelmente os vírus de dengue sorotipo 1 e 2 foram introduzidos no Estado por doentes que vieram de outros Estados para regiões infestadas pelo *A. aegypti*. A história mostra que, antecedendo as epidemias no país causadas pelos sorotipos 1 e 2 de dengue, foram diagnosticados casos importados oriundos de outros países. Assim, em setembro de 1985 foi diagnosticado por sorologia, em laboratório desta Faculdade, o primeiro caso importado conhecido de dengue, em uma professora residente em São Paulo, recém chegada de viagem profissional a Honduras e Nicarágua, onde permaneceu uma semana. Nesse último país ocorria epidemia da doença. A paciente ficou alojada no mesmo quarto de uma das participantes da reunião que apresentou doença febril, diagnosticada como dengue. Não se conseguiu isolar vírus das amostras de sangue da brasileira, que foram enviadas ao Instituto Evandro Chagas, em Belém, e ao Centers for Disease Control and Prevention (CDC), em Porto Rico. Pelos resultados sorológicos tratava-se de dengue tipo 1.

Em fevereiro de 1989 foi isolado no Instituto Evandro Chagas o vírus de dengue sorotipo 2 em uma paciente febril, recém chegada a Belém, vinda de Luanda, Angola, em viagem aérea com paradas no Rio de Janeiro e em Brasília. Esses dois casos importados antecederam, respectivamente, os primeiros casos de dengue sorotipo 1, em abril de 1986, e sorotipo 2, em abril de 1990, ocorridos no Estado do Rio de Janeiro. Evidentemente não seria possível estabelecer no momento uma ligação direta entre esses casos e as epidemias da região Sudeste do país, mas sem dúvida a

forma de entrada do agente etiológico nessa região parece ter sido por transporte aéreo, considerando o intenso intercâmbio entre São Paulo e Rio de Janeiro com países onde ocorria transmissão de dengue, e o curto período de viremia no homem.

Em relação à característica **espaço**, menciono os dados da Tese do Prof. Luiz Tadeu Figueiredo, da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, que realizou em setembro e outubro de 1992 um inquérito sorológico para pesquisa de anticorpos de dengue, em 662 crianças e adolescentes de 5 a 15 anos residentes em Ribeirão Preto. O autor mostrou uma correlação espacial entre os resultados positivos obtidos no inquérito em quatro zonas da cidade e a proporção de casos de dengue durante a epidemia de 1990-1991 nas mesmas quatro zonas. Também foi assinalado um certo paralelismo entre o grau de infestação vetorial e a proporção de soros positivos, nas quatro zonas da cidade.

Cabe mencionar também dados muito interessantes de uma monografia de Mestrado desta Faculdade, cujo autor, Antonio Ismael Paulino da Rosa, estudou a epidemia de dengue em São José do Rio Preto, no período de janeiro a julho de 1995. Foram estabelecidas três unidades ambientais, segundo critério sócio-econômico baseado em renda per capita, escolaridade do chefe da família e aspectos de saneamento básico. Observou-se correspondência entre nível sócioeconômico e incidência de casos da doença, tendo a Unidade 3, de menor nível sócioeconômico, apresentado a maior incidência (56,91/10.000 hab.) e a Unidade 1, de nível sócioeconômico mais alto, a menor incidência (13,48/10.000 hab).

Em relação às características **idade** e **sexo**, há uma predominância da doença em adultos, especialmente os do sexo feminino.

Para analisar as **perspectivas no Estado de São Paulo** em relação ao dengue é válido este esquema de predição, expresso graficamente em quatro círculos entrelaçados que contêm, respectivamente, as seguintes atividades:

1. Vigilância epidemiológica da infecção e doença humana e vigilância dos agentes etiológicos e vetores
2. Monitoramento ecológico (clima, aspectos hidrológicos, índices de vegetação, dinâmica dos vetores)
3. Monitoramento dos riscos comportamentais do hospedeiro humano
4. Uso de tecnologia avançada para detecção rápida do problema e para pronta intervenção.

Há uma interação constante entre esses itens. Paul Reiter, da Divisão de Doenças Transmitidas por Vetores, do C.D.C., em recente reunião internacional sobre doenças emergentes, apresentou um modelo matemático para previsão de ocorrência de dengue, que contempla incidência da doença, medida da densidade dos mosquitos vetores e imunidade da população (herd immunity). Quando essa imunidade é alta é preciso uma alta densidade dos mosquitos vetores para desencadear uma epidemia, o inverso sucedendo quando a imunidade é baixa. Exemplificou com o caso de Cingapura, cidade estado asiática que iniciou em 1968 um programa de controle ambiental e de vetores, o qual diminuiu acentualmente a incidência de dengue. No

entanto, depois de duas décadas, apesar da baixa densidade do vetor, ocorreu uma epidemia de dengue, em função do baixo nível imunitário da população.

Finalizando, lembro que neste momento de preocupação e de intervenção dirigida a dengue no Estado de São Paulo, é preciso pensar em termos de Brasil.

Leitura recomendada:

Costa AIP. ***Identificação de unidades ambientais urbanas como condicionantes da ocorrência de Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) e de dengue na cidade de São José do Rio Preto, SP, em 1995.*** [Dissertação de Mestrado] São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 1995.

Figueiredo LTM. ***Estudos sobre o dengue em Ribeirão Preto, no período de 1990 a 1993.*** [Tese de Livre Docência] Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP; 1993.

Travassos da Rosa APH, Vasconcelos LFC, Travassos da Rosa JFS, editors. ***An overview of arbovirology in Brazil and neighbouring countries.*** Belém: Instituto Evandro Chagas; 1998.

Ecologia da transmissão da dengue

Oswaldo Paulo Forattini

Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

Costuma-se dizer que o advento e subsequente desenvolvimento cultural do homem teve e continua tendo, profundo impacto na biogeografia de nosso planeta. E isso tendo em vista o fato dele ter motivado a modificação da área de vida de várias espécies e de ter levado muitas outras à extinção. Do ponto de vista da diversidade biológica, a evolução da humanidade afigura-se como verdadeira catástrofe. Tendo atingido a densidade atual, oficialmente seis bilhões de habitantes, seria totalmente irreal qualquer estudo biogeográfico que deixasse de levar em conta o impacto humano.

Todavia, algumas espécies escaparam aos efeitos dessa atividade. E o fizeram mediante adaptação às novas condições do meio antrópico, isto é, aquele criado pelo próprio homem. Embora não seja de consenso, pode-se definir a aptidão (“fitness”) daí decorrente como sendo a capacidade reprodutiva e de conseqüente sobrevivência de determinada população. E por falar dela, o significado ecológico de qualquer infecção humana transmitida por vetor biológico, nada mais é do que o resultado do relacionamento de, pelo menos, três populações. Seriam elas, a do agente infeccioso, a do vetor e a do próprio homem. Então, se temos de considerar a ecologia da transmissão, teremos de pensar como pensaria o agente, como pensaria o vetor e como pensaria o homem. De qualquer forma, há de se escolher o que encarar nesses três comportamentos.

Uma das infecções mais estudadas sob o ponto de vista matemático, como evidente consequência das campanhas de erradicação, foi a malária no Continente africano. Ali e desde o início, esse alvo se mostrou dificilmente atingível, motivo pelo qual, multiplicaram-se as tentativas de traduzir a dinâmica daquele triplo relacionamento. Os pesquisadores conseguiram elaborar fórmula associando os três fatores. Atualmente é a seguinte:

$$V = \frac{ma^2 b P^n}{-\log_e P}$$

Essa é a conhecida fórmula da capacidade vetora a qual está aqui representada por V. Evidentemente destina-se a exprimir a relação entre a densidade populacional humana m (do inglês "man") e a frequência a com que é picada pelo vetor. Obviamente se este é um mosquito, para poder veicular o agente terá de picar duas vezes, daí a elevação ao quadrado. Se, por exemplo, se tratasse de transmissão tipo tripanosomíase americana, bastaria uma vez pois ela se dá por contaminação. A expressão contém porém outros fatores. A competência é dada por b representando a proporção de indivíduos vetores encontrados naturalmente infectados. Dependendo da situação, pode-se tentar obter esse dado ou então mediante condições experimentais no laboratório. Certamente, torna-se necessário que o transmissor viva tempo suficiente para se tornar infectante. Daí o fator P que significa a taxa de sobrevivência, ou seja, a probabilidade dele viver um dia. Isso está na dependência do período de incubação do agente no vetor, representando por n. Associa-se assim a sobrevivência do transmissor com o tempo necessário para o desenvolvimento do

agente dentro do organismo vetor. O denominador dessa expressão traz o inverso do logaritmo de P. Justifica-se porque, normalmente, se trata de valor muito pequeno.

Vê-se, portanto, que a fórmula da capacidade vetora sintetiza o triplo relacionamento já mencionado. Não obstante, a obtenção desses dados não constitui tarefa trivial. Nem no Brasil e nem nas Américas isso foi feito. E não somente em relação à malária, mas também no que concerne a qualquer outra infecção veiculada por culicídeo. Há de se convir que, dependendo das circunstâncias, a operacionalização é bastante difícil além de, subsequente, ter de realizar a estimativa mediante os cálculos. Em decorrência, o que se fez e se faz rotineiramente limita-se à avaliação empírica do poder transmissor. E isso seja mediante a observação da antropofilia, isto é, a identificação do sangue ingerido como sendo humano em maior proporção, ou seja pela medida da densidade populacional vetora que freqüenta o meio intradomiciliar.

Em relação à dengue, nada se sabe a esse respeito. Nem a taxa de picadas, nem a estimativa de sobrevivência para as nossas populações vetoras e nem a competência para transmitir. Assim, há de se esclarecer quais *Aedes aegypti*, de acordo com as várias regiões, podem veicular o vírus. Terão igual capacidade? E em relação ao primo-irmão *Ae. albopictus*, quais as perspectivas? Mediante a realização de múltiplas pesquisas, poder-se-á obter os dados necessários a serem aplicados no controle do vetor. O que se faz hoje, rotineiramente em nosso meio, consiste no levantamento de vários índices dos quais, o mais utilizado vem a ser o de Breteau. Ele designa o percentual de criadouros encontrados positivos em relação ao número total de edifícios inspeccionados. No entanto, pouco se tem feito quanto ao índice de produtivi-

dade de formas adultas, ou seja, à tentativa de mensurar qual a contribuição de tais habitats larvários para a densidade populacional de alados.

E no que concerne ao agente viral? As questões a serem respondidas são múltiplas. Quando nos referimos a entidade denominada de “população”, há de se levar em conta se os indivíduos que a compoem se reproduzem assexuada ou sexualmente. Neste último caso, ela é responsabilizada pelo fluxo gênico. Mas, e no caso dos vírus da dengue que são assexuados? Será que aquele fluxo ocorre “tout court” na população? Ou será que esta é constituída por linhagens? E o que seriam as linhagens? Evidentemente são clones. Claro está que a molécula viral vai se dividindo e assim representa clonagem ao longo do tempo evolutivo. É de se admitir que, muito antes do aparecimento do ser humano, tais clones foram se diferenciando até formarem espécies ou sorotipos, como os chamamos no caso da dengue. Talvez a esses clones possa se atribuir certa responsabilidade no aparecimento de formas clínicas e de patogenicidade diferentes. Formam-se linhagens as quais tendem a formar espécies. Poder-se-á dizer, por exemplo, que os plasmódios da malária têm reprodução sexuada. Contudo, a têm em fase muito curta do seu ciclo de vida. Na verdade, os verdadeiros parasitos são seres haplóides que se reproduzem assexuadamente. Dessa maneira, pode-se ver que essa população parasita vive obedecendo à maneira de ver diferente da do homem.

Atualmente fala-se muito em erradicação. Está virando modismo em saúde pública. Na semana passada e aqui mesmo, ilustre conferencista assinalou como um dos grandes feitos “globalizados”, a erradicação da varíola, além da poliomielite e

outras em vias de. Não obstante, no caso da dengue e de outras afecções, estamos em frente a problemas re-emergentes ou emergentes de natureza infecciosa. Do ponto de vista filosófico e epidemiológico, qual o significado disso? Pode-se levantar a hipótese de serem o resultado da ação de novas linhagens à procura de adaptação ao convívio humano. Toda vez que se referir a infecção veiculada por vetor biológico, este procurará se relacionar com o homem. Mas, a recíproca não é necessariamente verdadeira. Ela variará de acordo com fatores sociais, principalmente os de natureza cultural e socioeconômica. Em nosso meio, a toda hora ouve-se dizer que “o exército vai trabalhar contra a dengue, vai ajudar a destruir os recipientes, etc...”. Tudo bem, é operacional e nada há para falar. Mas, que recipientes? O conceito de transitoriedade material varia de acordo com a sociedade. O tipo de recipiente que é transitório para uma não o é para outra. Estamos neste último caso. Muito dos assim ditos “descartáveis” na realidade, para nós não o são. E isso porque acabam adquirindo valor econômico para a nossa população. Atualmente oferece-se enorme número de embalagens que levam o rótulo de “descartável”. Em decorrência, há cada vez mais opções de criadouros para a população vetora. Esta, utiliza-os e adapta-se com cada vez maior poder, uma vez que esses habitats artificiais são produzidos pelo homem e, mesmo os naturais, lhe sofrem a influência.

E o ser humano? Nos dias que correm assiste-se ao início da era da clonagem. Quem sabe se, em futuro não muito longínquo, poder-se-á conseguir clone humano programado para não mais adquirir essas infecções. Seria o abandono da reprodução sexuada e o estabelecimento da manipulação genética, uma vez que o genoma humano já

teria sido seqüenciado. Ou então, obeder-se-ia às leis da natureza com a evolução conseqüente. Mas, como estabelecer o isolamento reprodutivo? Talvez mediante as viagens interplanetárias. Assim, com o passar de alguns milhares de anos esse estado poderá ser atingido, ou seja, estabelecendo-se duas populações humanas. A primeira aqui mesmo, continuando a se chamar de *Homo sapiens* e a segunda, colonizando Marte ou qualquer outro planeta. As duas poderiam chegar ao isolamento reprodutivo dando origem a nova espécie alienígena à qual caberia a denominação de *Homo cosmicus*. Deixando de lado esses devaneios futurólogos, o que realmente importa é continuar a desenvolver a cultura da humanidade. Porém no sentido positivo. Porfie-se para que o ser humano não venha a mudar taxonomicamente para espécies que poderia merecer o nome de *Homo pseudo-sapiens*.

***Aedes albopictus*: implicações vetoriais em área de ocorrência de febre amarela**

Almério de Castro Gomes

Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

Aedes albopictus é um mosquito originário das florestas do sudeste asiático onde demonstrou capacidade para se adaptar ao ambiente rural e urbano. Durante muito tempo se acreditou estar sua distribuição restrita apenas a Ásia. Entretanto, este conhecimento se alterou a partir da década de 1980 quando se assinalou sua presença em outros continentes. Em 1985 foi encontrado nos EUA, com procedência mais provável do Japão, sendo os pneus usados o recipiente mais importante no transporte de seus ovos. No Brasil, foi detectado em 1986 na cidade do Rio de Janeiro e bem como em município da região do vale do Paraíba, Estado de São Paulo. Presentemente, a região sudeste, ou seja, Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo, têm revelado o maior número de municípios infestados. Nos EUA, *Ae. Albopictus* tem uma distribuição mais acentuada na região sudeste, sendo Illinois o ponto de ocorrência mais ao norte. No Brasil, sua presença cresce para o sul e nordeste. Nessa ampla distribuição geográfica se constatou a existência de cepas que realizam ou não a diapausa, ou seja, das zonas mais frias e tropicais, respectivamente.

Dos ocos das árvores passou a utilizar simultaneamente recipientes artificiais como microhabitats de suas formas imaturas e as áreas peridomiciliares como abrigos preferenciais de suas formas adultas. Com isso, *Ae.albopictus* se expande progressivamente

como se não houvesse barreiras importantes que o detivesse, haja visto, de 1986 a 1995, tal distribuição envolveu 14 estados brasileiros. Ao mesmo tempo que se constata a disseminação de *Ae. albopictus*, esta tem sido caracterizada por uma velocidade elevada para quaisquer localizações, nos diferentes países infestados. Por exemplo, em 10 anos de infestação do Estado de São Paulo, a disseminação dessa espécie atingiu quase a totalidade de seus municípios, independentemente de que nessas áreas houvesse a infestação por *Aedes aegypti* e medidas de controle químico.

Para falar das implicações epidemiológicas, necessário se faz um comentário sobre sua competência e capacidade vetorial. Neste sentido, tem sido considerado um vetor secundário da dengue, haja visto seu suposto baixo envolvimento nos eventos epidêmicos da doença, ainda que do ponto de vista laboratorial sejam inúmeras as referências sobre sua infectividade aos sorotipos de dengue, bem como para outros grupos de arbovírus com elevada característica patogênica ao homem.

Para falar de capacidade vetorial de *Ae. albopictus*, como definiu o Professor Forattini em sua exposição que me antecedeu, ressaltaremos os aspectos principais e necessária à compreensão do tema. Assim sendo, começaríamos pela característica de contato *Ae. albopictus*/homem. Essa medida pode ser feita pelo grau de antropofilia de suas fêmeas. Vários estudos têm revelado ser o homem um hospedeiro comum para *Ae. albopictus*, sendo que a preferência hospedeira está dividida com os demais animais domésticos. Ora, isto significa que a chance de um contato humano estaria na dependência de circunstâncias ocasionais e com isso a circulação de arbovírus na população humana dependeria da disponibilidade dessas fontes alimentares e do

comportamento da espécie em cada localidade. Talvez isto explique porque foram raras ou circunstanciais as atribuições de seu papel vetorial no desencadeamento de epidemias. Além disso, se a atividade hematofágica transcorre principalmente em áreas peridomiciliares, as pessoas estariam disputando a preferência hospedeira de suas fêmeas sob condições de exposição semelhantes, mas sempre diante da diversidade e da densidade dos animais domésticos. Nossas investigações no Estado de São Paulo têm demonstrado isto quando se observou a sua baixa atividade intradomiciliar e indistinta preferência diante de fontes humanas e bovinas. Por outro lado, os sítios com maior desenvolvimento ou produção de adultos variaram entre setores da cidade na dependência de uma condição ecológica, relacionada à arborização. Logo, a espécie demonstra variações na densidade de adultos e formas imaturas, com reflexo imediato nos contatos observados, como foi o caso do centro e da periferia das cidades de Caçapava e Cosmópolis. Nesta última houve a coincidência dessa igualdade nas densidades de *Ae. albopictus* em função da arborização ser bem mais pronunciada em relação a Caçapava. A arborização, nos países asiáticos, tem sido fator importante na ocorrência da espécie em área urbana.

Quanto a distribuição sazonal de *Ae. albopictus* recentemente estudada na região do Vale do Paraíba, ficou demonstrado ser do final da primavera até princípio do inverno, porém com maior abundância nos meses de janeiro a abril. Não obstante este fato coincidir com a sazonalidade da circulação do vírus da dengue na população humana, ainda não foi possível evidenciar papel vetorial desta espécie quando ambos estão sobrepostos durante os eventos epidêmicos. No Brasil, o único isolamento do tipo I em uma larva de *Ae. albopictus* foi em Campos Altos, Estado de Minas

Gerais, não se sabendo se isto pode significar o início do processo que possa conduzi-lo à condição vetorial do vírus da dengue no Brasil. Mesmo assim, a coincidência desses fatos não deixa de ser uma preocupação elevada à saúde pública, pois mudanças na relação vetor/parasita são possíveis de ocorrer. Além disto, quem poderia afirmar que a endemicidade dos sorotipo I da dengue em algumas das áreas brasileiras já não seria favorecida por essa distribuição simpátrica?

Se para a dengue *Ae. Albopictus* se tem uma situação indefinida, por outro lado, cresce a preocupação da espécie se envolver com outros agentes e representar riscos de transferência de arbovírus de focos naturais autóctones para centros urbanos. Isto está em curso diante de sua invasão em áreas reconhecidamente enzoóticas do vírus da febre amarela. Igual preocupação manifestaram os pesquisadores americanos quando a infestação desta espécie alcançou focos de arbovírus autóctones. Pesquisas que monitoram a dispersão de *Ae. albopictus* nos EUA já assinalaram sua infecção natural com vírus da encefalite eqüina do leste. No Brasil, a Mata Atlântica representa habitat de arbovírus importantes e possíveis interrelações com o *Ae. albopictus*, o que resulta em potenciais de implicações epidemiológicas. Analogamente, esta preocupação pode se estender a outras áreas, como as situadas dentro do ecossistema amazônico, onde a enzootia do vírus da febre amarela e outros flavivirus é visível. Assim sendo, de Mato Grosso do Sul ao Estado do Amazonas existe uma ameaça à transferência de arbovírus para área urbana. Este quadro está ainda mais agravado potencialmente ao se reconhecer a presença de *Ae.aegypti* e *Ae. albopictus* em muitas das áreas urbanas, o que poderá assegurar à urbanização de infecções humanas por várias populações virais. Na Nigéria, além do *Ae.aegypti*

convive-se com a ameaça da febre amarela, graças a presença de *Ae.albopictus* em área de ocorrência de focos naturais deste vírus.

Por outro lado, enquanto nos EUA se faz o monitoramento constante da suscetibilidade de *Ae.albopictus* aos seus arbovírus autóctones, hoje já alcançando a cifra 22 tipos diferentes, tal exemplo parece ser de longe uma preocupação de autoridades brasileiras. Assim pois, se *Ae.albopictus* amplia progressivamente sua distribuição no Brasil e nenhuma medida planejada existe para contê-la, pode-se supor que existe o risco futuro de novas cepas de *Ae.albopictus* serem introduzidas, com graus diversos de suscetibilidade a arbovírus e a resistência a inseticidas químicos e, de forma lamentável, espera-se que nossas comunidades fiquem à mercê de novas infecções, graças às atitudes atuais de nossas autoridades. Em outras palavras, se posterga conhecimentos e medidas importantes em detrimento do avanço nas medidas preventivas, facilitando o processo evolutivo *albopictus*/arbovírus, e agravado pela completa obscuridade da saúde pública brasileira. Assim sendo, este fato poderá resultar numa opção desastrosa, e o que se espera é uma reação e mudanças positivas na busca de soluções para problemas como este, particularmente diante da crescente invasão de *Ae.albopictus* em áreas ricas em agentes infecciosos, com conhecida ou desconhecida virulência para o homem.

Leitura recomendada:

Beaman RJ et al. Transmission of venezuelan equine encephalomyelitis virus by strains of *Aedes albopictus* (Diptera; Culicidae) collected in North and South America. *J Medical Entomol* 1991; 28(1):161-4.

Estrada-Franco JG, Craig Jr GB. **Biología, relaciones com enfermedades y control de Aedes albopictus Organización Panamericana de la Salud.** Washington, DC: 1995. (Cuaderno Técnico, 42)

Francy DB, Karabatsos N, Moore CG, Wesson DM, Lazuick JS, Niebylski ML. A new arbovirus from *Aedes albopictus*: an Asian mosquito established in the United States. **Science** 1990; 250:1738-40.

Gomes AC et al. *Aedes albopictus* em área rural do Brasil e implicações na transmissão de febre amarela silvestre. **Rev Saúde Pública** 1999; 33:95-97.

Kitron U et al. Introduction of *Aedes albopictus* into a La Crosse virus-enzootic site in Illinois. **Emerg Infect Dis** 1998; 4: 627-30.

Michell CJ. Geographic spread of *Aedes albopictus* and potencial for involvement in arbovirus cycles in the Mediterranean basin. **J Vector Ecology** 1995; 20:44-58.

Moore CG, Mitchell CJ. *Aedes albopictus* in the United States: Ten-Year presence and public health implications. **Emerg Infect Dis** 1997; 3: 1-9.

Reiter P. *Aedes albopictus* and the world trade in used tires, 1988-1995: the shape of things to come?. **J Am Mosq Control Assoc** 1998; 14:83-94.

Savage HM, Smith GC, Mitchell CJ, McLean RG, Meisch MV. Vector competence of *Aedes albopictus* from Pine Bluff, Arkansas, for a St. Louis encephalitis virus strain isolated during the 1991 epidemic. **J Amer Mosq Control Assoc** 1994; 10:501-6.

Serufo JC, Montes de Oca H, Tavares VA, Souza AM, Rosa RV, Jamal MC. Isolation of dengue virus type 1 from larvae of *Aedes albopictus* in Campos Altos City, State of Minas Gerais, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1993; 88:503:4.

Perspectivas das vacinas de dengue.

Luiz Tadeu Moraes Figueiredo

Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

O controle do dengue é feito nos dias atuais, em todo o mundo, seguindo as normas gerais de combate aos mosquitos vetores preconizada pelos médicos sanitários do começo do século. O controle e a erradicação do mosquito *Aedes aegypti*, vetor do dengue é procedimento bastante difícil, que necessita grandes investimentos com funcionários, máquinas, venenos e campanhas educacionais permanentes que mobilizem toda a comunidade. Reconhece-se que a alternativa ideal para o controle do dengue seria através do uso de vacinas. Corroboram este reconhecimento as vacinas existentes para outros *flavivirus*, pertencentes ao mesmo gênero dos vírus do dengue, como o da febre amarela, com excelente capacidade imunizante.

O desenvolvimento de uma vacina de dengue para uso em larga escala é considerada prioritária pela OMS. Entretanto, o desenvolvimento desta vacina tem frustrado a comunidade científica, devido a suas exigências e a problemas, tais como: a necessidade da vacina imunizar contra os 4 tipos de dengue, com alta eficiência, para evitar o mecanismo fisiopatológico que desencadeia o dengue hemorrágico; a inexistência de um modelo experimental confiável para estudar a resposta pós-vacinal o que ainda é feito por testes muito artificiais, como aqueles utilizando camundongos inoculados pela via intracerebral.

Os vírus do dengue, como os outros *Flavivirus*, são RNA vírus com genoma de polaridade positiva possuindo 10 genes que se apresentam na seguinte ordem: 5'-C-PreM-E-NS1-ns2a-ns2b-NS3-ns4a-ns4b-NS5-3'. Os genes estão contidos em uma *open reading frame* que inicia em um resíduo metionina e vai até a base 10158 ou 10302 dependendo do vírus. Resulta da translação da *open reading frame* uma poliproteína que libera após clivagens, 3 proteínas estruturais (E, M e C) e 7 não estruturais (NS1, NS2a e NS2b, NS3, NS4a e NS4b, e NS5). A proteína E, PM 53KD, a maior proteína viral, é glicosilada, possui 20 resíduos conservados de cisteína, os quais formam 6 pontes dissulfídicas e contém importantes determinantes antigênicos. Os anticorpos, principalmente os que se ligam a epitopos da proteína E, promovem lise do envelope ou bloqueio de seus receptores com conseqüente neutralização viral. A proteína E, localizada nas espículas do envelope dos vírus do dengue é fundamental para a ligação viral ao receptor de membrana e possui os mais importantes domínios antigênicos destes microorganismos. Os epitopos de E definem a produção de anticorpos específicos para o tipo viral e para o gênero dengue. Podem ser detectados por múltiplos testes sorológicos (ensaios imuno-enzimáticos e de imunofluorescência; testes de neutralização, de inibição da hemaglutinação e de facilitação da infectividade). A estrutura tridimensional da proteína E consiste de um complexo dimérico com duas subunidades idênticas. E é subdividida em três regiões distintas: I, região central da molécula, contendo o radical amina terminal; II, contém a maior parte dos contatos do dímero; III, inclui o C terminal e tem relação com a virulência de determinadas cepas virais. Os dímeros da proteína E quando expostos a pH ácido (pH < 6,5) sofrem uma transformação conformacional sendo

rearranjados em trímeros. Após a ligação viral ao receptor de membrana e a entrada da partícula no citoplasma por pinocitose, a conformação em trímeros de E seria fundamental para o processo de fusão do envelope viral com a membrana endossômica (8, 9). Os anticorpos contra E são dirigidos a epitopos existentes em toda a superfície externa da molécula. Os anticorpos neutralizantes relacionam-se à específica conformação do epitopo de E nas regiões I e II para um determinado vírus. O mecanismo de neutralização relaciona-se a dissociação do dímero E pela presença do anticorpo, impedindo as alterações conformacionais que levam à formação dos trímeros da molécula. A neutralização, também pode ocorrer com anticorpos ligados à região III, obstruindo o sítio de ligação viral ao receptor de membrana celular.

Anticorpos, produzidos contra NS1, promovem lise viral fixando o complemento. A NS1, com 40 KDa, possui atividade na maturação viral e é encontrada na superfície, ligada à membrana da célula infectada sendo, também secretada. A imunização com NS1 é capaz de proteger camundongos da encefalite, após serem inoculados com vírus do dengue. Entretanto, o mecanismo de proteção conferido pelas NS1 não é neutralizante das partículas virais e relaciona-se à destruição das células infectadas previamente à liberação da progênie viral. Estes anticorpos atuam como mediadores de fenômenos de citotoxicidade por linfócitos, através de seus receptores para a porção Fc de imunoglobulinas. Também, possui capacidade imunizante a NS3 que apresenta-se em contato com a superfície celular ou é secretada. Esta proteína, com 69 KDa, é uma enzima bifuncional nucleotídeo trifosfatase/helicase viral. A presença de NS3 estimula a destruição das células infectadas por LT citóxicos.

Descreve-se linfócitos T *helper* e citotóxicos de pacientes com dengue apresentando capacidade de reconhecer epítopos de E, NS1 e NS3.

A resposta imune celular citotóxica por LT ocorre sob estímulo das proteínas NS1, NS3 e E dos vírus do dengue. LT *helper* atuam na presença das células infectadas com dengue que expressam receptores HLA tipo II, produzindo IFN- γ , IL-2 e o fator estimulador de colônias de macrófagos e granulócitos. Os LT citotóxicos atacam diretamente as células infectadas com dengue, que expressam receptores HLA tipo I, lisando-as. Portanto, as células T participam ativamente na resposta imune reduzindo o número de células infectadas com o vírus, inclusive, conferindo proteção contra reinfecção.

Uma vacina ideal para dengue deveria cumprir as seguintes exigências: promover imunização prolongada contra os 4 tipos de vírus do dengue não causando o fenômeno de facilitação por anticorpos da penetração viral em macrófagos (*antibody dependent enhancement* - ADE) que inicia o mecanismo fisiopatológico responsável pelo dengue hemorrágico; ter baixo custo; ter baixa toxicidade (principalmente neuro e hepatotoxicidade); manter títulos virais no refrigerador ou à temperatura ambiente, durante 3 dias.

Pode-se classificar as vacinas para dengue existentes ou em fase de desenvolvimento em

- I- Vacinas de vírus vivo atenuado
- II- Vacinas de vírus inativados
- III- Vacinas de engenharia genética (vacinas recombinantes e vacinas de DNA)

Para desenvolver vacinas recombinantes vem sendo utilizadas as seguintes abordagens:

- Expressão de proteínas de dengue em células eucarióticas
- Vírus recombinantes
- Vírus mutantes ou quiméricos
- Vacinas com vetores vivos

1 - Vacinas de vírus vivo atenuado

A atenuação viral consiste em produzir, através de passagens sucessivas de um vírus em células, que não são de seu hospedeiro natural, uma mutação acidental que reduza sua virulência. As primeiras vacinas de vírus vivo atenuado foram desenvolvidas faz mais de 50 anos, por passagens sucessivas do vírus em cérebro de camundongos, tendo mostrado neurotoxicidade. Outra vacina, nos mesmos moldes da de febre amarela 17D foi buscada através de passagens sucessivas do vírus selvagem em embrião de galinha, entretanto o projeto não progrediu tendo sido abandonado.

Na década de 70, primeiramente patrocinadas pelo exército dos Estados Unidos, iniciou-se o desenvolvimento de vacinas de dengue buscando-se atenuação viral por passagens sucessivas do vírus selvagem em cultura de células. Utilizou-se células de linhagem primária de rim de cão e células pulmonares de macacos *Rhesus*. Sabendo-se que as populações de vírus do dengue em uma determinada infecção são geneticamente heterogêneas. Estas células, pertencentes a animais que não são

hospedeiros naturais destes vírus, exercem pressão seletiva sobre a população viral, reduzindo a importância de partículas virulentas e permitindo que partículas avirulentas passem a ser dominantes. Como critérios iniciais de atenuação viral buscou-se vírus que formassem plaques pequenos em culturas de células, que tivessem uma maior sensibilidade a temperatura, produzissem viremia reduzida em macacos e baixa neurovirulência em camundongos, prolongando sua sobrevivência. Segundo estes critérios foram desenvolvidos muitos vírus atenuados os quais eram pouco imunogênicos ou não produziam a infecção. Entretanto, alguns vírus foram considerados potencialmente aceitáveis para a produção de vacinas. Exemplo destes é o DEN2 PR-159/S-1 com os quais conseguiu-se imunizar pacientes, necessitando, entretanto, imunização simultânea com a vacina de febre amarela. Com a evolução dos estudos para vacinas de dengue, concluiu-se que os marcadores *in vitro* e *in vivo* utilizando primatas não eram ideais e havia necessidade da utilização de voluntários humanos. Finalmente, nos últimos 15 anos, grupo de pesquisadores ligado à Universidade de Mahidol, na Tailândia, produziram vírus atenuados e potencialmente imunogênicos contra os 4 tipos de dengue. Estes vírus foram testados em voluntários humanos sem infecção prévia por dengue ou outros *flavivirus*. Testou-se os vírus inicialmente em duplas, depois em trio com seroconversão aproximada de 95% para todos os vírus e finalmente em quarteto com seroconversão de 70 a 80% em crianças. Raros casos tiveram febre baixa e exantemas sendo estes principalmente crianças. Também, observou-se que as crianças necessitam uma menor dose viral para imunização. Concluiu-se destes estudos que a vacina quadrivalente é segura e imunogênica. Atualmente, encontra-se em fase de padronização a dose

de cada vírus para compor uma vacina de uso em larga escala. Um problema aventado para esta vacina é a questão da reversão da atenuação para virulência já que alguns dos vírus atenuados, como o dengue tipo 1, sofreu apenas 13 passagens em células de rim de cão.

Também, estudos vem analisando a possibilidade dos vírus vacinais atenuados serem disseminados pelo mosquito vetor.

II - Vacinas de vírus inativados

O desenvolvimento de vacinas de vírus do dengue inativados, principalmente com formol, esbarra no problema de que estes microorganismos não replicam em altos títulos nos camundongos ou culturas celulares. A necessidade de concentrar os materiais contendo vírus dificulta e encarece muito a produção em massa de vacinas inativadas, razão pela qual este processo de produção vacinal para dengue foi praticamente abandonado.

Vacinas de engenharia genética

- Vacinas recombinantes por expressão de proteínas de dengue em células eucarióticas

Expressão de proteínas de dengue em células eucarióticas foi obtida com Baculovirus recombinantes contendo a proteína E viral sem o seu domínio transmembrana. Esta proteína foi expressada em células do inseto *Spodoptera frugiperda* que passaram a eliminar E sob uma forma solúvel. Observou-se que camundongos imunizados com esta proteína produziam anticorpos neutralizantes e ficavam protegidos da infecção.

- Vacinas com vírus recombinantes

Para a produção destas vacinas desenvolveu-se partículas recombinantes não infectantes, particularmente partículas virais ocas, não contendo RNA. Entretanto, duvida-se de que estas vacinas recombinantes tenham capacidade de estimular imunidade humoral prolongada. A incapacidade de imunização prolongada contraindicaria o uso da vacina, já que a queda dos títulos virais poderia facilitar o fenômeno de ADE, que poderia levar, nos indivíduos em contato com vírus selvagem, ao aparecimento de quadros de dengue hemorrágico. Também, duvida-se de que estas vacinas sejam capazes de estimular a imunidade celular. A dúvida baseia-se nos conhecimentos sobre a forma de processamento e apresentação de antígenos às células imunes. As vacinas recombinantes induziriam mais resposta mediada por *LT helper*. Os *LT* citotóxicos não seriam ativados porque exigem apresentação de antígenos por células infectadas apresentando MHC classe I. Portanto, não induziriam a imunidade. Entretanto, tem sido descrita a proteção de animais com vacinas recombinantes sem a produção de anticorpos neutralizantes o que sugere o desenvolvimento nestes animais de uma imunidade celular CD4/CD8-restrita a MHC classe II.

- Vacinas com vírus mutantes e quiméricos

Vírus do dengue e outros com modificação de genes vem sendo desenvolvidos. Em alguns estudos, utilizou-se o DNA complementar da cepa de dengue tipo 4 Caribenha fazendo-se mutações na região 3 não codificadora e no local de clivagem NS1/NS2a. Em outros experimentos, promoveu-se deleções de genes virais, reduzindo a replicação do dengue tipo 4, o que sugeria atenuação viral. Ainda, introduziu-se

genes de dengue tipo 1 (C, prM, E) e tipo 2 (Prm e E) após deleção dos genes respectivos do tipo 4 produzindo-se vírus quiméricos. Outras quimeras também vem sendo desenvolvidas com o vírus da febre amarela vacinal 17D. Também, quimeras promissoras vem sendo desenvolvidas utilizando como base o vírus da vacina de dengue tipo 2 tailandesa PDK53. Trata-se de vírus bem atenuado, que replica bem em células de rim de cachorro, é excelente imunógeno e mostrou-se seguro em experimentos com seres humanos. A estratégia, neste caso, consiste em inserir as regiões codificadoras de prM e E dos vírus dengue tipo 1, 3 e 4 no genoma do dengue 2 PDK-53.

Um problema importante com estes experimentos é o desconhecimento das mudanças que seriam necessárias para a atenuação destes vírus. Atualmente, busca-se conhecer os critérios moleculares que determinam a virulência dos dengue, permitindo atenuação viral por modificação específica ou troca destes genes.

- Vacinas com vetores vivos

Vetores vivos para veicularem antígenos de dengue tem sido desenvolvidos com bactérias (*salmonella*) e vírus como o da vaccínia atenuado - NYVAC, o da rubéola, ou adenovírus. O vírus da vaccínia expressando as proteínas prM e E dos 4 tipos de dengue confere proteção a estes vírus em camundongos. A capacidade imunogênica da combinação entre os 4 tipos vem sendo testada. Entretanto, um problema com estas vacinas de vetores vivos é que a imunidade para dengue depende do número de vetores produzidos pelo organismo, o que pode ser muito variável dependendo de fatores do hospedeiro, como por exemplo uma imunidade prévia contra o vetor.

Um problema geral com todas as vacinas recombinantes refere-se às enormes discrepâncias quanto a suas capacidades imunogênicas e o receio de que produzam uma imunidade de curta duração.

- Vacinas de DNA

Pretende-se criá-las para dengue seguindo modelo já utilizado para vírus da encefalite de St. Louis (SLE), pertencente ao mesmo gênero. A estratégia para o preparo desta vacina consiste em clonar DNA complementar da região prM e E dos vírus do dengue em plasmídios, produzir estes genes em grande quantidade, purificar o produto e utiliza-los como imunógeno. Camundongos que receberam estes genes de SLE desenvolveram imunidade com uma ou 2 imunizações. Esta imunidade, que acredita-se deva ser de longa duração, é independente de anticorpos, devendo-se principalmente a linfócitos citotóxicos.

Finalmente, deve-se ressaltar dentre as vacinas citadas a vacina tailandesa de vírus do dengue atenuado como a que apresenta as melhores perspectivas para uma implantação nos próximos 3 a 5 anos. Esta vacina deverá ser produzida pela *Pasteur Merieux Serums and Vaccines Company* da França que adquiriu estes direitos em 1993. As vacinas já são produzidas industrialmente de forma monovalente e extensivos testes em laboratório, incluindo neuro-virulência em macacos, já foram efetuados. Um estabilizador viral produzido pela empresa foi misturado às vacinas com excelentes resultados e permitindo que a vacina possa permanecer até 3 dias à temperatura ambiente, sem perda significativa do título viral. As vacinas, no momento, estão sendo testadas na fase 2, em seres humanos. Estas vacinas são as que oferecem melhores perspectivas para uso rotineiro a médio prazo.

Leitura recomendada:

Aaskov JG et al. Failure of dengue 1 sub-unit vaccine to protect mice against a lethal dengue virus infection. *Am J Trop Med Hyg* 1988; 39: 511-8.

Bhamarapravati N, Yoksan S. Live attenuated tetravalent dengue vaccine. In: Gubler DJ, Kuno G, editors. *Dengue and dengue hemorrhagic fever*. New York: Cab International; 1997. p.367-76.

Brandt WE. Current approaches to the development of dengue vaccines and related aspects of the molecular biology of flaviviruses. *J Infect Dis* 1988; 157: 1105-11.

Brandt WE. Development of dengue and Japanese encephalitis vaccines. *J Infect Dis* 1990; 162: 577-83.

Bray M, Ching-Juh L. Construction of intertypic chimeric viruses by substitution of structural protein genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991; 88: 10342-46.

6. Chambers TJ et al. Flavivirus genome organization, expression, and replication. *Annu Rev Microbiol* 1990; 44: 649-88.

Chambers TJ et al. Vaccine development against dengue and Japanese encephalitis: report of a World Health Organization meeting. *Vaccine* 1997; 15: 1494-502.

Chu MC et al. Genetic relatedness among structural protein genes of dengue 1 virus strains. *J Gen Virol* 1989; 70: 1701-12.

Deubel V et al. Processing, secretion and immunoreactivity of carboxy terminally truncated dengue-2 envelope proteins expressed in insect cells by recombinant baculovirus. *Virology* 1991; 180: 442-7.

Figueiredo LTM. A febre amarela na Região de Ribeirão Preto durante a virada do século XX: importância científica e repercussões econômicas. *Rev Soc Bras Med Trop* 1996; 29: 63-76.

Figueiredo LTM, Fonseca BAL. Dengue. In: Veronesi R, Focaccia R, editors. *Tratado de infectologia*. São Paulo: Atheneu; 1996. p.201-14.

Fonseca BA et al. Recombinant vaccinia viruses co-expressing dengue-1 glycoproteins prM and E induce neutralizing antibodies in mice. **Vaccine** 1994; 12: 279-85.

Gubler DJ, Clark G . Community-based integrated control of *Aedes aegypti*: a brief overview of current programs. **Am J Trop Med Hyg** 1994; 50 Suppl: 50-60.

Khin MM et al. Infection, dissemination, transmission and biological attributes of dengue-2 PDK-53 candidate virus vaccine virus after oral infection in *Aedes aegypti*. **Am J Trop Med Hyg** 1994; 51: 864-9.

Konishi E et al. Mice immunized with a subviral particle containing the Japanese encephalitis virus prM/M and E proteins are protected from lethal JEV infection. **Virology** 1992; 188: 714-20.

Kurane I et al. Dengue virus-specific human CD4⁺ cytotoxic T-cell clones: Multiple patterns of virus cross reactivity recognize by NS3-specific T cell clones. **J Virol** 1991; 65:1823-928.

Kurane I, Ennis FE. Immunity and immunopathology in dengue virus infections. **Semin Immunol** 1992; 4:121-7.

Monath TP, Heinz F. Flaviviruses. In: Fields BN, Knipe DM, editors. **Virology**. 3th ed. Philadelphia: Lippincott - Raven; 1996. p.961-1034.

Monath TP, Tsai TF. Flaviviruses. In: Richman DD, Whitley RJ, Hayden FG, editors. **Clinical virology**. New York : Churchill Livingstone; 1997. p.1113-85.

Rey FA et al. The envelope glycoprotein from tick-borne encephalitis virus at 2 Å resolution. **Nature** 1995; 375: 291-8.

Venugopal K, Gould EA. Towards a new generation of flavivirus vaccines. **Vaccine** 1994; 12: 966-75.

Programa do Simpósio

Características dos vírus do dengue e de suas replicações

Dra. Marize Miagostovich
Departamento de Virologia – FIOCRUZ/RJ

Patogenia do dengue

Prof. Luiz Tadeu de Moraes Figueiredo
Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Aspecto clínico, tratamento e organização dos serviços de atendimento aos pacientes

Dra. Sônia Maris Oliveira Zagne
Departamento de Medicina Clínica da Universidade Federal Fluminense

Diagnóstico laboratorial de dengue clássico e hemorrágico

Dra. Luiza Terezinha Madia de Souza
Serviço de Virologia da Divisão de Biologia Médica do Instituto Adolfo Lutz

Estrutura Hospitalar para atenção ao dengue hemorrágico

Prof. Dr. Marcos Boulos
Departamento de Doenças Infecciosas e Parasitárias da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Registro clínico de dengue na Fundação Nacional de Saúde

Dra. Sandra Regina Silva
Fundação Nacional de Saúde

Dengue nas Américas

Dr. Carlos Catão Prates Loiola
Sanitarista, Malariologista e, atualmente está prestando serviços na Representação da OPAS/OMS, em Brasília, como Profissional Nacional na área de Doenças Transmissíveis e Não Transmissíveis.

Dengue no Brasil

Paulo Eduardo Guedes Sellera
Fundação Nacional de Saúde

Características pessoais, temporais e espaciais do dengue no Estado de São Paulo

Profa. Dra. Lygia Busch Iversson
Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo

Ecologia da transmissão de dengue

Prof. Dr. Oswaldo Paulo Forattini
Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo

***Aedes albopictus*: implicações vetoriais em área de ocorrência de febre amarela**

Prof. Dr. Almério de Castro Gomes
Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo

Perspectivas das vacinas de dengue

Prof. Dr. Luiz Tadeu Moraes Figueiredo
Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Problemas e eficiência das medidas de combate ao *Aedes aegypti*

Prof. Dr. José Carlos Seixas
Superintendência de Controle de Endemias da Secretaria Estadual de Saúde de São Paulo.

Normas editoriais

Objetivo

A série INFORMES EM SAÚDE PÚBLICA tem por objetivo divulgar temas de saúde pública abordados em eventos e reuniões técnico-científicos promovidos pela Faculdade de Saúde Pública da USP.

Normas editoriais

1. Serão aceitos trabalhos apresentados nos eventos ou resultantes das reuniões técnico-científicas promovidos pela Faculdade de Saúde Pública da USP, por meio de sua Comissão de Cultura e Extensão Universitária (CCEX).
2. As opiniões emitidas pelos autores dos trabalhos são de sua exclusiva responsabilidade.
3. Os trabalhos devem ser acompanhados de documento de transferência de direitos autorais à CCEX. O autor poderá publicar em outro veículo, desde que autorizado pela CCEX.
4. Todas as colaborações devem ser entregues no formato impresso, acompanhadas da cópia em disquete ou via Internet (em arquivo atachado), em linguagem compatível com ambiente *windows*.
5. A revisão final do trabalho é de responsabilidade do autor, bem como a exatidão das referências bibliográficas constantes no trabalho e a correta citação no texto.
6. O responsável pelo evento será o coordenador do respectivo Informe cabendo a ele receber e encaminhar o conteúdo da publicação à Comissão de Cultura e Extensão Universitária da FSP/USP.
7. A aprovação para publicação é de responsabilidade da Comissão de Cultura e Extensão Universitária da FSP/USP.

Apresentação dos trabalhos

Os trabalhos devem ser digitados em letras corpo 12, tipo "Times New Roman" ou similar, com entrelinhamento duplo, no formato "Carta", mantendo margens laterais: direita de 3 cm e esquerda de 3,5cm.

Página de rosto: deve conter o **título do trabalho**, breve e suficientemente específico e descritivo, contendo as palavras-chave que representem o conteúdo do texto.

Nome e sobrenome dos autores, com a indicação da instituição em que cada autor está filiado, acompanhado do respectivo endereço, com a indicação do autor responsável pela troca de correspondências. Se o trabalho foi subvencionado, indicar a agência de fomento que concedeu o auxílio. Se foi baseado em tese, indicar o título, ano e instituição onde foi apresentada. Se foi apresentado em reunião científica, indicar o nome do evento, local e data de realização.

Apresentação: o coordenador da publicação deverá redigir uma breve apresentação da publicação indicando seus objetivos.

Referências Bibliográficas: devem ser redigidas segundo as normas do Comitê Internacional de Diretores de Revistas Médicas* conhecidas como normas do Grupo de *Vancouver*. Devem ser ordenadas alfabeticamente e numeradas no final do trabalho. Os títulos de periódicos devem ser referidos de forma abreviada, conforme aparecem na base de dados MEDLINE ou no *Index Medicus*.

Exemplos:

Artigo de periódico:

Silva LK, Russomano FB. Sub registro da mortalidade materna no Rio de Janeiro, Brasil: comparações com dois sistemas de informação. *Bol Oficina Sanit Panam* 1996; 120:36-43.

Artigo de periódico eletrônico:

Souza SB de. Anemia no primeiro ano de vida em relação ao aleitamento materno. *Rev Saúde Pública* [periódico on-line] 1997;31(1). Disponível em URL< <http://www.usp.br/fsp~rsp> >[1997 março 10]

Livro:

Bogus S, Paulino AY. *Políticas de emprego, políticas de população e direitos sociais*. São Paulo: EDUC; 1997.

Capítulo de livro:

Laurenti R. Medida das doenças. In: Forattini OP. *Ecologia, epidemiologia e sociedade*. São Paulo: Artes Médicas; 1992. p.369-98.

* Essas normas estão publicadas na Revista de Saúde Pública vol. 33 (1) 1999, na Internet <http://www.fsp.usp.br/~rsp/> e na revista British Medical Journal vol. 296 p.401 1988 .

Números das Séries:

Informes em Saúde Pública

Nº 1: A SAÚDE DOS IDOSOS: POLÍTICAS PÚBLICAS DE SAÚDE
Alice Moreira Derntl, organizadora

Nº 2: SIMPÓSIO SOBRE DENGUE
Almério de Castro Gomes, coordenador

Práticas em Saúde Pública

Nº 1: *Vida saudável: nutrição, nutrientes, alimentos, saúde*
Maria Elisabeth Machado Pinto e Silva
Ive Paton
Marlene Trigo

Cadernos de Apoio Didático

Nº 1: Investigação de Surtos Epidêmicos
Eliseu Alves Waldman, organizador