

Artigo / Article

Análise crítica dos achados hematológicos e sorológicos de pacientes com suspeita de Dengue

Hematological and serological findings of individuals with suspicion of Dengue fever infection

Lilian P. S. Barros¹

Sônia E. S. Igawa¹

Susana Y. Jocundo²

Lacy C. Brito Junior³

O aumento das formas mais graves do número de casos de dengue na cidade de Belém tem preocupado as autoridades locais. O objetivo deste estudo foi realizar uma análise crítica dos achados hematológicos e sorológicos de pacientes com suspeita clínica de dengue atendidos em um laboratório de Belém-Pará. Tratou-se de estudo retrospectivo com 210 pacientes encaminhados ao Laboratório de Patologia Clínica Dr. Paulo C. Azevedo, Belém-Pará, no período de fevereiro a março de 2007, com solicitação de hemograma e sorologia para IgM para confirmação de dengue. Dos casos analisados, 51/210 (24,3%) apresentaram plaquetopenia e 53/210 (25,2%) leucopenia. A positividade da pesquisa sorológica para IgM foi de 47,1% (99/210). Foi observada associação estatística ($p < 0.05$) somente entre pacientes que apresentavam plaquetopenia (33/99) e sorologia positiva para dengue, sugerindo que as alterações hematológicas de leucopenia e plaquetopenia, freqüentemente associadas a este agravo, podem não estar presentes no início da infecção, como verificado neste estudo, sendo fundamental, para confirmação do diagnóstico, a realização da sorologia para pesquisa de IgM. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2008;30(5):363-366.

Palavras-chave: Dengue; virologia; hematologia; diagnóstico.

Introdução

A dengue é causada por um arbovírus do gênero *Flavivirus*, onde são conhecidos quatro sorotipos: Den-1, Den-2, Den-3 e Den-4. Apresenta-se sob a forma clássica, de evolução benigna, ou grave, na forma hemorrágica. A transmissão ao homem é por meio da picada da fêmea do mosquito *Aedes aegypti*. O período de incubação no mosquito varia de 8 a 12 dias. No homem, o período de incubação varia de 3 a 15 dias, em média de 5 a 6 dias. O período de transmissão começa um dia antes do aparecimento da febre e vai até o 6º dia da doença.^{1,2}

Estimativas da OMS sugerem que anualmente ocorrem 80 milhões de casos da doença no mundo. No Brasil, houve aumento da incidência nos casos de dengue após a introdução do sorotipo 2 em 1990, em um surto de dengue hemorrágica no Rio de Janeiro. Posteriormente, outros surtos de dengue hemorrágica foram confirmados em outros estados, indicando que a doença se tornara endêmica no país.³ A introdução do vírus da dengue no estado do Pará ocorreu em 1995, na região sudeste do estado, nos municípios de Redenção e Rondon do Pará. Os primeiros casos autóctones de dengue no município de Belém foram registrados em outubro de 1996, pela detecção de anticorpos IgM para dengue, e em

¹Farmacêutica-bioquímica da Universidade Federal do Pará (UFPA) – Belém-PA.

²Biomédica. UFPA.

³Professor Adjunto III do Instituto de Ciências Biológicas da UFPA. Responsável técnico pelo Laboratório de Patologia Geral - Imunopatologia e Citologia da UFPA.

Trabalho desenvolvido no Laboratório de Patologia Geral – Imunopatologia e Citologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFPA em parceria com o Laboratório de Patologia Clínica Dr. Paulo C. Azevedo.

Correspondência: Lacy Cardoso de Brito Junior

Universidade Federal do Pará – Centro de Ciências Biológicas – Departamento de Patologia

Laboratório de Patologia Geral – Imunopatologia e Citologia

Av. Augusto Corrêa nº1 – Bairro Guamá

66075-900 – Belém-PA – Brasil

Tel.: 55 91 3201 7102

E-mail: lcdbrito@ufpa.br ou lcdbrito@bol.com.br

novembro foi isolado e identificado o sorotipo DEN-1.⁴ Em outubro de 1997 isolou-se o sorotipo DEN-2, que passou a circular simultaneamente com o DEN-1.⁵

O diagnóstico da dengue em humanos é feito com base em dados clínicos, epidemiológicos e laboratoriais, utilizando-se, para este último, exames inespecíficos (hemograma, coagulograma, provas de função hepática e dosagem de albumina sérica) e específicos (testes de isolamento viral e sorológicos para pesquisa de anticorpos).⁶ Como principais achados dos exames inespecíficos, destacamos os observados no hemograma, o primeiro e mais relevante mostrando leucopenia, por vezes intensa, com contagens inferiores a $2,0 \times 10^9/l$ leucócitos; neutropenia com presença de linfócitos atípicos e trombocitopenia, com valores abaixo de $100 \times 10^9/l$ plaquetas.^{7,8} Dentre os exames específicos, por sua vez, são os testes sorológicos para pesquisa de anticorpos os mais rápidos e mais utilizados. Realizados após o 6º dia do início da doença, mostram níveis de IgM aumentados, até o seu pico máximo, que ocorre em torno do 10º dia de evolução da doença, com posterior declínio, até tornarem-se não detectáveis por volta do 70º dia.⁹ As imunoglobulinas IgG aparecem um ou dois dias após as IgM, e geralmente permanecem em níveis detectáveis pelo resto da vida, conferindo imunidade permanente para o sorotipo específico.^{10,11}

Assim, diante do crescente aumento do número de casos de dengue na cidade de Belém nos últimos anos, inclusive de casos de dengue hemorrágica, este estudo visou à realização de uma análise descritiva dos resultados de hemograma e sorologia para pesquisa de anticorpos da classe IgM, de pacientes com suspeita clínica de dengue, para demonstração desta associação, entre os resultados do hemograma com a sua confirmação sorológica, de modo a auxiliar no diagnóstico presuntivo mais preciso de suspeita clínica de dengue, principalmente em pacientes que procuram unidades de emergência.

Casuística e Métodos

Trata-se de um estudo retrospectivo com pacientes que apresentavam quadro clínico sugestivo de dengue e que foram encaminhados ao Laboratório de Patologia Clínica Dr Paulo C. Azevedo, Belém-Pará, no período de fevereiro a março de 2007, com solicitação de hemograma e sorologia para pesquisa de anticorpos da classe IgM, para confirmação de dengue. Para tanto, o hemograma destes pacientes foi realizado por método de automação em auto-analisador Coulter STKS, seguido de confirmação dos achados morfológicos de contagem de plaquetas, leucometria, e diferencial leucocitária por método convencional de hematoscopia; e a sorologia para o diagnóstico de dengue realizado pelo método ELISA,

para a pesquisa de anticorpos IgM. Não foi empregado equipamento de automação. A amostra foi pipetada de forma manual e a leitura foi realizada em leitora de microplaca (Labsystem®).

Os dados obtidos de hemograma e sorologia para dengue (IgM) foram agrupados à informações de idade e sexo dos pacientes atendidos neste período, armazenados e analisados através dos programas Excel e Bioestat 4.0, através do teste qui-quadrado com $p < 0,05$.

Resultados

No período de fevereiro a março de 2007, neste estudo, foram atendidos 210 pacientes com idades entre 4 meses a 83 anos, após encaminhamento médico de suspeita clínica primária de dengue para a realização de hemograma e pesquisa de anticorpos IgM para dengue.

A pesquisa sorológica realizada pelo método de ELISA, para determinação de anticorpos IgM para dengue, mostrou-se positiva para 99/210 (47,1%) dos pacientes analisados. Foi observada associação estatística entre os achados hematológicos de plaquetopenia e de positividade sorológica de IgM para dengue em 33 pacientes ($\chi^2=8,338$; $p=0,0039$) (Tabela 1). Porém, não foi observada a mesma associação estatística entre os achados hematológicos de leucopenia e de positividade sorológica de IgM para dengue, em nossos estudos ($\chi^2=3,663$; $p=0,0556$) (Tabela 1).

A análise complementar dos 210 pacientes atendidos neste estudo mostrou que 108/210 (51,4%) eram do sexo masculino; destes, 43/108 (39,8%) com sorologia positiva, e 102/210 (48,6%) do sexo feminino, com 56/102 (54,9%) casos positivos para pesquisa de anticorpos IgM para dengue.

Tabela 1. Distribuição da amostra quanto ao resultado da sorologia para dengue e plaquetopenia ou leucopenia

gM anti - dengue	Plaquetopenia		Leucopenia		Total
	SIM (Nº Plaquetas menor que $50 \times 10^9/l$)	NÃO (Nº Plaquetas maior ou igual a $150 \times 10^9/l$)	SIM (Nº Leucócitos menor ou igual a $5,451 \times 10^9/l$)	NÃO (Nº Leucócitos maior que $5,451 \times 10^9/l$)	
Positivo	33	66	31	68	99
Negativo	18	93	22	89	111
Total	51	159	53	157	210

Fonte: Dados obtidos do Laboratório de Patologia Clínica Dr. Paulo C. Azevedo no período de fevereiro a março de 2007 ($\chi^2=8,338$; $p=0,0039$).

Com relação à faixa etária, 78/210 (37,1%) pacientes eram menores de 12 anos, com 32/78 casos positivos, e 132/210 (62,9%) eram maiores de 12 anos, com soropositividade em 67/132 pacientes.

No tocante à análise do hemograma destes 210 pacientes com suspeita clínica de dengue, 51/210 (24,3%) apresentaram como principais alterações apenas plaquetopenia, e

53/210 (25,2%) apresentaram como principais alterações apenas leucopenia. Sendo que 28/210 (13,3%) destes pacientes apresentaram concomitantemente plaquetopenia e leucopenia.

A contagem média do número de leucócitos no grupo negativo para sorologia para dengue (111/210) variou de 7.496 ± 5.647 e no grupo positivo para sorologia para dengue (99/210) variou de 5.451 ± 2.767 . Por sua vez, a contagem média das plaquetas no grupo negativo para sorologia para dengue (111/210) variou de 251.921 ± 108.215 e no grupo positivo para sorologia para dengue (99/210) variou de 203.202 ± 105.702 .

Discussão

A dengue é hoje um sério problema de saúde pública no Brasil, principalmente em função do crescente número de casos observados ano a ano, nas últimas décadas, pelo Ministério da Saúde. Por ser uma doença com sinais clínicos semelhantes aos de outras viroses, só é computado como caso confirmado de dengue o paciente que apresenta sorologia para IgM positiva, associada a quadro clínico e epidemiológico.^{1,11}

Em nosso estudo, ao realizar a descrição comparativa dos resultados de hemograma e sorologia para dengue em 210 pacientes com suspeita clínica, verificamos positividade sorológica para IgM em 47,1% dos casos e 52,9% de casos negativos na pesquisa sorológica. Babelo,¹⁰ realizando estudo semelhante com 215 pacientes atendidos em Cuiabá (MT) observou positividade sorológica para IgM em apenas 26,5% dos casos analisados, com 73,5% dos demais casos negativos para esta pesquisa sorológica, sugerindo que, em Belém, possivelmente no período analisado, estava ocorrendo um surto de dengue na cidade. Fato que pode ser parcialmente explicado em função das condições climáticas da região norte do Brasil, naquele período, estação em que temos altos índices pluviométricos que favorecem a proliferação do mosquito transmissor da dengue.

No que tange, por sua vez, a outra vertente dos nossos objetivos, verificamos que, em relação à análise dos resultados de contagem de leucócitos e plaquetas dos 210 pacientes estudados, em somente 24,3% observou-se plaquetopenia, em 25,2% apenas leucopenia e em 13,3% diminuição de ambos (plaquetopenia e leucopenia). Discordando com dados da literatura,¹⁰⁻¹³ que sugerem como perfil clássico da maioria dos pacientes com dengue, quadros de leucopenia ($4,0 \times 10^9/l$), linfocitose com atipia linfocitária e plaquetopenia, geralmente inferior a $100 \times 10^9/l$. De tal forma que, estudo recente de Wichmann *et al.*,¹⁵ analisando características clínicas e laboratoriais de indivíduos que passaram por áreas endêmicas para dengue, com teste ELISA de captura para IgM positivo, mostrou que 53,2% dos pacientes apresentavam leucopenia, 48,9% plaquetopenia e 40,4% apresentavam ambas as alterações. Ageep *et al.*,¹⁶ ao estudarem 84 pacientes atendidos em um hospital do Sudão, encontraram

positividade para anticorpos IgM para dengue em 88% das amostras, leucopenia e trombocitopenia em 90% e 88%, respectivamente.

Estas diferenças dos nossos resultados, em relação às contagens elevadas de leucócitos e plaquetas, a partir de relatos da literatura, para pacientes com sorologia IgM positiva para dengue, podem ter ocorrido pelo fato do teste empregado não se tratar de uma metodologia de captura de anticorpos IgM, o que aumenta a possibilidade de casos falso-positivos.¹⁶ O teste de captura para anticorpos IgM apresenta sensibilidade e especificidade superiores a outras metodologias (imunocromatografia e ELISA indireto) para pesquisa desta classe de anticorpos, reduzindo o nível de anticorpos inespecíficos, principalmente para outros flavivírus.¹⁷⁻²¹

Assim, nossos resultados mostram que, mesmo em surtos de dengue, é fundamental que sejam realizados testes específicos para o diagnóstico confirmatório da doença, como sorologia para IgM em pacientes com suspeita clínica. Dependendo do tempo de curso da infecção, é possível que as alterações hematológicas, tão comumente associadas a este agravo, não sejam os principais achados logo no início do quadro, fato que pode negligenciar a conduta clínica e o acompanhamento adequado desta doença.

Abstract

The increase in the number of more serious forms of dengue fever among cases in the city of Belém, Brazil has astounded local authorities. The objective of this study was to conduct a critical analysis of hematologic and serologic findings of patients with clinical suspicion of dengue seen at a clinical laboratory in Belém in Pará State. This retrospective study involved 210 patients who were referred to the Laboratory of Clinical Pathology Dr. Paulo C. Azevedo in Belém, in the period of February and March of 2007, with requests for a complete blood count and serological test for IgM to confirm the diagnosis of dengue. Of the cases studied, 51/210 (24.3%) presented with thrombocytopenia and 53/210 (25.2%) leukopenia. The serologic test for IgM was positive in 47.1% (99/210) of cases. A statistically significant association ($p < 0.05$) was observed only among patients who presented with thrombocytopenia (33/99) and positive serology for dengue, suggesting that the hematological alterations of leukopenia and thrombocytopenia, frequently associated with this illness, may not be present at the beginning of the infection. It is therefore essential to carry out a serologic test for IgM to confirm a diagnosis of dengue. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2008;30(5):363-366.

Key words: Dengue; virology; hematology; diagnosis.

Agradecimentos

Agradecemos cordialmente a Dr Paulo Sergio Roffe Azevedo e a todos dos Setores de Hematologia e Imunologia do Laboratório de Patologia Clínica Dr. Paulo C. Azevedo pelo apoio logístico e técnico dado para o desenvolvimento deste trabalho.

Referências Bibliográficas

1. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde (Funasa). Dengue: diagnóstico e manejo clínico. Funasa: 2002;28-40.
2. WHO-OMS. Information - revisão 2002. Dengue and dengue haemorrhagic fever. Disponível em www.who.int/inf-fs/en/fact117.html, abril de 2007.
3. Martínez RA, Díaz FA, Villar LA. Evaluation of the World Health Organization clinical definition of dengue. *Biomedica*. 2005; 25(3):412-6.
4. Nogueira SA. Dengue. *Jornal de Pediatria (RJ)*. 1999;75 (Supl 1): S9-S14.
5. Rosa APAT, Vasconcelos PFC, Pinheiro FP, Travassos da Rosa JFS, Rodrigues SG. Dengue. In: Leão RNQ (ed). *Doenças Infecciosas e Parasitárias - Enfoque Amazônico*, Cejup/UEPA/Instituto Evandro Chagas, Belém. 1997: 227-41.
6. De Paula SO, Fonseca BA. Dengue: a review of the laboratory tests a clinician must know to achieve a correct diagnosis. *Braz J Infect Dis*. 2004;8(6):390-8.
7. Sanchez MCA. Testes sorológicos. In: *Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-ímmunes*. 2ª ed, Guanabara Koogan. 2001; 237-51.
8. Sang CT, Cuzzubbo AJ, Devine PL. Evaluation of a commercial capture enzyme-linked immunosorbent assay for detection of immunoglobulin M and G antibodies produced during dengue infection. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1998;5(1):7-10.
9. Chanama S, Anantapreecha S, A-nuegoonpipat A, Sa-gnasang A, Kurane I, et al. Analysis of specific IgM responses in secondary dengue virus infections: levels and positive rates in comparison with primary infections. *J Clin Virol*. 2004; 31(3): 185-9.
10. Bacelo KL. Dengue: Aspectos clínicos, epidemiológicos e diagnósticos da infecção e avaliação dos resultados das sorologias para dengue solicitadas ao Laboratório Santa Rosa no período de 01/11/02 a 28/02/03. *Laes & Haes*. 2006;27(158):256-78.
11. Salgado DM, Rodríguez JA, Garzón M, Cifuentes G, Ibarra M, Veja MR, et al. Caracterización clínica y epidemiológica de dengue hemorrágico en Neiva, Colombia, 2004. *Rev Salud Public*. 2007; 9(1):53-63.
12. Guia de Vigilância Epidemiológica. Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde. 2005; 07-21.
13. Sathish N, Manayani DJ, Shankar V, Abraham M et al. Comparison of IgM capture ELISA with a commercial rapid immunochromatographic card test & IgM microwell ELISA for the detection of antibodies to dengue viruses. *Indian J Med Res*. 2002;115:31-6.
14. Srichaikul T, Nimmannitya S. Haematology in dengue and dengue haemorrhagic fever. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol*. 2000;13(2):261-76.
15. Wichmann O, Stark K, Shu PY, Niedrig M, Frank C, Huang JH, et al. Clinical features and pitfalls in the laboratory diagnosis of dengue in travellers. *BMC Infect Dis*. 2006;6:120-7.
16. Ageep AK, Malik AA, Elkarsani MS. Clinical presentations and laboratory findings in suspected cases of dengue virus. *Saudi Med J*. 2006;27(11):1711-3.
17. Nogueira SA. Dengue. *Jornal de Pediatria (RJ)*. 1999;75(Supl 1):S9-S14.
18. Travassos da Rosa AP, Vasconcelos PF, Travassos da Rosa ES, Rodrigues SG, Mondet B, Cruz AC, et al. Dengue epidemic in Belém, Pará, Brazil, 1996-97. *Emerg Infect Dis*. 2000;6(3):298-301.
19. Schexneider KI, Reedy EA. Thrombocytopenia in dengue fever. *Curr Hematol Rep*. 2005;4(2):145-8.
20. Teichmann D, Göbels K, Niedrig M, Grobusch MP. Dengue virus infection in travellers returning to Berlin, Germany: clinical, laboratory, and diagnostic aspects. *Acta Trop*. 2004; 90(1):87-95.
21. Camara FP, Theophilo RLG, Santos GT, Pereira SRFG, Camara DCP, Matos RRC. Estudo retrospectivo (histórico) da dengue no Brasil: características regionais e dinâmicas. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2007;40(2):192-6.

Avaliação: Editor e dois revisores externos
 Conflito de interesse: não declarado

Recebido: 23/07/2007

Aceito após modificações: 05/08/2008