



**UFG**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL  
E SAÚDE PÚBLICA**

**Angela Ferreira Lopes de Teive e Argolo**

---

---

**Prevalência de infecção pelos vírus dengue em parturientes  
e neonatos, Goiânia-Goiás, 2009-2010**

---

---

**Goiânia  
2010**



## Termo de Ciência e de Autorização para Disponibilizar as Teses e Dissertações Eletrônicas (TEDE) na Biblioteca Digital da UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás-UFG a disponibilizar gratuitamente através da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações – BDTD/UFG, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

**1. Identificação do material bibliográfico:**       **Dissertação**       **Tese**

### 2. Identificação da Tese ou Dissertação

Autor(a):	Angela Ferreira Lopes de Teive e Argolo				
CPF:		E-mail:	<a href="mailto:angelafarmaceutica@hotmail.com">angelafarmaceutica@hotmail.com</a>		
Seu e-mail pode ser disponibilizado na página? <input checked="" type="checkbox"/> Sim <input type="checkbox"/> Não					
Vínculo Empregatício do autor	Servidor Público Estadual - Secretaria de Estado da Saúde de Goiás				
Agência de fomento:	SECTEC/PRONEX/CNPQ Fundação de Amparo à Pesquisa de Goiás			Sigla:	CNPQ FAPEG
País:	Brasil	UF:	GO	CNPJ:	08.156.102/0001-02
Título:	Prevalência de infecção pelos vírus dengue em parturientes e neonatos, Goiânia-Goiás, 2009-2010				
Palavras-chave:	Dengue, prevalência, incidência, gestantes, recém-nascidos, transmissão vertical				
Título em outra língua:	Prevalence and incidence of dengue vírus infection in pregnant and neonates, Goiânia-Goiás, 2009-2010				
Palavras-chave em outra língua:	Dengue, prevalence, incidence, pregnancy, neonates, vertical transmission				
Área de concentração:	Epidemiologia				
Data defesa: (dd/mm/aaaa)	21/12/2010				
Programa de Pós-Graduação:	Medicina Tropical				
Orientador(a):	Profa. Dra. Celina Maria Turchi Martelli				
CPF:		E-mail:	<a href="mailto:celina@pq.cnpq.br">celina@pq.cnpq.br</a>		
Co-orientador(a):	Profa. Dra. Valéria Christina Rezende Féres				
CPF:		E-mail:	<a href="mailto:vcrisrezende@gmail.com">vcrisrezende@gmail.com</a>		

### 3. Informações de acesso ao documento:

Liberação para disponibilização?<sup>1</sup>       total       parcial

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF ou DOC da tese ou dissertação.

O Sistema da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações garante aos autores, que os arquivos contendo eletronicamente as teses e ou dissertações, antes de sua disponibilização, receberão procedimentos de segurança, criptografia (para não permitir cópia e extração de conteúdo, permitindo apenas impressão fraca) usando o padrão do Acrobat.

Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

Assinatura do(a) autor(a)

<sup>1</sup> Em caso de restrição, esta poderá ser mantida por até um ano à partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Todo resumo e metadados ficarão sempre disponibilizados.

**Angela Ferreira Lopes de Teive e Argolo**

---

**Prevalência de infecção pelos vírus dengue em parturientes  
e neonatos, Goiânia-Goiás, 2009-2010**

---

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás para obtenção do Título de Mestre em Medicina Tropical e Saúde Pública.

Orientador: Profa. Dra. Celina Maria Turchi Martelli  
Co-orientador: Profa. Dra. Valéria Christina Rezende Féres

**Goiânia  
2010**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação na (CIP)  
GPT/BC/UFG**

A693p Argolo, Angela Ferreira Lopes de Teive e.  
Prevalência de infecção pelos vírus dengue em parturientes e neonatos, Goiânia-Goiás, 2009-2010 [manuscrito] / Angela Ferreira Lopes de Teive e Argolo. - 2010.  
xv, 63 f. : il., figs, tabs.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Celina Maria Turchi Martelli; Co-orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Valéria Christina Rezende Féres  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Goiás, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, 2010.  
Bibliografia.  
Inclui lista de figuras, abreviaturas, siglas e tabelas.  
Anexos.

1. Dengue 2. Prevalência 3. Incidência 4. Gravidez 5. Recém-nascido 6. Transmissão vertical. I. Título.

CDU:616.98(817.3)

**BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**Aluno (a): Angela Ferreira Lopes de Teive e Argolo**

---

**Orientador (a): Prfa. Dra. Celina Maria Turchi Martelli**

---

**Co-orientador (a): Prfa. Dra. Valéria Christina Rezende Féres**

---

**Membros:**

**1. Maria Cynthia Braga**

**2. João Bosco Siqueira Júnior**

**3. Celina Maria Turchi Martelli**

**Data: 21/12/2010**

## Dedicatória

Aos meus pais José e Terezinha que são fonte constante de renovação de força, fé e alegria em minha vida. Ao meu esposo Rogério pois diariamente renovamos as cores do nosso amor.

## AGRADECIMENTOS

---

A Deus pela vida e por me abençoar com uma família maravilhosa. Meus pais José Nicodemos e Terezinha nos criaram (Eu, Patrícia e Pollyana) no caminho da fé e do amor e a eles desejo tudo de melhor.

Ao meu esposo Rogério que me apóia, ilumina e faz do meu caminho amor e paz. Aos meus sogros e cunhada (Célia, Paulo e Roberta) que me querem muito bem.

A toda a minha família irmãs, tios, primos, madrinhas e padrinho e especialmente, meus avós (Joaninha, Adélia, Joaquim, Ana e Lucas) pelo amor dedicado, pela percepção ilimitada do tempo nos mostrando que nunca é tarde para nada!

Aos meus amigos de longa data porque são meus amigos e isso já basta.

As amigas do LACEN (Andréa, Lucileis, Adriana, Lorena, Maísa e Carmem) que muito me apoiaram nesta jornada.

A Jakeline, Clarissa, Fernanda, Viviane, Vicente e Adriana pelas dificuldades partilhadas e pelo apoio mútuo.

A Ana Carolina que não mediu esforços para me ajudar no trabalho de campo.

Ao Dr. Akira, Fábio, Cosmo e a toda equipe da Maternidade Nossa Senhora de Lourdes que nos receberam com o maior carinho e contribuíram para o sucesso deste trabalho assim como à Dra. Zelma e toda a equipe de enfermagem da clínica de ginecologia e obstetrícia do Hospital das Clínicas de Goiás.

A Dra. Lucimeire Antonelle, Dra. Maria de Fátima Alves, Ms. Adriana Crespo e à biomédica Mônica do laboratório de Imunologia e Biologia das doenças infecciosas do

## **AGRADECIMENTOS**

---

IPTSP que não só nos acolheram, acomodaram e muito nos ajudaram na realização deste trabalho igualmente incluídas na lista dos novos amigos conquistados nessa jornada.

Ao Dr. João Bosco Siqueira Jr. por abrilhantar nosso trabalho e ao João Borges que foi fundamental na formatação deste.

Agradeço especialmente as minhas queridas professoras que me fazem sentir honrada em ser sua aluna são elas: Dra. Celina Maria Turchi Martelli com sua incrível capacidade de descrever brilhantemente o essencial e por fazer dos nossos encontros momentos maravilhosos e Dra. Valéria Cristina Rezende Féres que plantou em mim o desejo da pesquisa bem antes de imaginarmos que nossos caminhos assim seguiriam e que me enche de orgulho em dizer que antes de ser minha professora é minha amiga.

## SUMÁRIO

---

	Página
BANCA EXAMINADORA.....	Ii
DEDICATÓRIA.....	Iii
AGRADECIMENTOS .....	Iv
SUMÁRIO.....	Vi
FIGURAS E TABELAS .....	Viii
ANEXOS.....	Ix
SIGLAS E ABREVIATURAS.....	X
RESUMO .....	Xii
ABSTRACT .....	Xiv
1. INTRODUÇÃO / REVISÃO DA LITERATURA .....	1
1. Epidemiologia da dengue .....	1
1.1. Situação epidemiológica da Dengue no mundo .....	1
1.2. Situação epidemiológica da Dengue no Brasil.....	4
1.3. Situação epidemiológica da Dengue em Goiás .....	6
2. Imunopatogênese da dengue, determinantes de susceptibilidade e de gravidade das formas clínicas .....	7
3. Dengue em gestantes e crianças .....	12
2. JUSTIFICATIVA.....	18
3. OBJETIVOS.....	19
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	20
4.1. Delineamento do estudo .....	20

4.2. Local de estudo .....	20
4.3. Critério de Inclusão .....	21
4.4. Recrutamento e trabalho de campo .....	21
4.5. Medidas de Exposição .....	22
4.6. Testes Laboratoriais.....	22
4.6.1. Princípio do teste Dengue IgG Indireto – ELISA.....	23
4.6.2. Princípio do teste Dengue IgM Captura – ELISA.....	24
4.6.3. Princípio do teste Dengue NS1ag – ELISA .....	24
4.6.4. Pontos de corte para os testes sorológicos.....	25
4.6.5. Transcriptase reversa seguida da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) .....	25
4.7. Tamanho da amostra.....	26
4.8. Análise de dados .....	26
4.9. Considerações Éticas .....	27
5. RESULTADOS .....	28
6. DISCUSSÃO.....	36
7. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES.....	43
8. REFERÊNCIAS .....	44
9. ANEXOS.....	54
Anexo 1. Parecer do Comitê de Ética.....	55
Anexo 2. TCLE .....	56
Anexo 3. Questionário .....	58
Anexo 4. Formulário de triagem .....	62
Anexo 5. Declaração de nascido vivo .....	63

## FIGURAS E TABELAS

---

### Lista de figuras

	Página
<b>Figura 1</b> Fluxograma do trabalho de campo e testes laboratoriais .....	23
<b>Figura 2</b> Triagem das parturientes e neonatos investigados para infecção pelos vírus dengue no município de Goiânia-GO 2009-2010.....	28
<b>Figura 3</b> Prevalência e Incidência de dengue nas parturientes no período de dezembro de 2009 a maio de 2010.....	34

### Lista de tabelas

	Página
<b>Tabela 1</b> Características das parturientes recrutadas no município de Goiânia, Goiás, 2009 e 2010 .....	29
<b>Tabela 2</b> Características dos eventos gestacionais entre as parturientes atendidas no município de Goiânia, Goiás, 2009 – 2010.....	31
<b>Tabela 3</b> Co-positividade e co-negatividade de anticorpos antidengue IgG entre parturientes e neonatos.....	32
<b>Tabela 4</b> Valor Preditivo Positivo e Negativo da história prévia de dengue e resultado de sorologia para anticorpos antidengue IgG nas parturientes.....	32
<b>Tabela 5</b> Comparação entre os resultados dos testes sorológicos para anticorpos antidengue IgM e IgG em parturientes .....	33
<b>Tabela 6</b> Variáveis relacionadas ao neonato e gestação das parturientes com infecção aguda de dengue.....	35

## ANEXOS

---

	Página
<b>Anexo 1</b> Parecer do Comitê de Ética .....	55
<b>Anexo 2</b> TCLE .....	56
<b>Anexo 3</b> Questionário .....	58
<b>Anexo 4</b> Formulário de triagem .....	62
<b>Anexo 5</b> Declaração de nascido vivo .....	63

## SIGLAS E ABREVIATURAS

---

<b>A.D.E</b>	Antibody dependent enhancement
<b>Acs</b>	Anticorpos
<b>C6/36</b>	Linhagem de cultura de células de mosquito <i>Aedes albopictus</i>
<b>cDNA</b>	Fita complementar do DNA
<b>CEP</b>	Comitê de Ética em Pesquisa
<b>DENV</b>	Vírus dengue
<b>DO</b>	Densidade ótica
<b>ELISA</b>	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
<b>FHD</b>	Febre hemorrágica do dengue
<b>HC</b>	Hospital das Clínicas
<b>HLA</b>	Human leukocyte antigen
<b>IgG</b>	Imunoglobulina da classe G
<b>IgM</b>	Imunoglobulina da classe M
<b>IPTSP</b>	Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública
<b>Lacen-GO</b>	Laboratório de Saúde Pública Dr. Giovanni Cysneiros – Goiás
<b>Mnsl</b>	Maternidade Estadual Nossa Senhora de Lourdes
<b>NS1ag</b>	Antígeno da proteína não estrutural 1 (Non structural protein 1 antigen)
<b>PNCd</b>	Plano Nacional de Combate a Dengue
<b>RIFI</b>	Reação de Imunofluorescência Indireta
<b>RNA</b>	Ácido Ribonucléico
<b>RT-PCR</b>	Transcriptase Reversa seguida da Reação em Cadeia pela Polimerase

## SIGLAS E ABREVIATURAS

---

<b>SCD</b>	Síndrome de choque por dengue
<b>SES/GO</b>	Secretaria de Estado da Saúde de Goiás
<b>SMS</b>	Secretaria de Saúde Municipal
<b>SVS/MS</b>	Secretaria de Vigilância em Saúde – Ministério da Saúde
<b>TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Tetrametilbenzidina/peróxido de hidrogênio
<b>U</b>	Unidade de atividade enzimática
<b>UFG</b>	Universidade Federal de Goiás
<b>WHO</b>	World Health Organization
<b>µL</b>	Microlitro
<b>%</b>	Porcentagem
<b>°C</b>	Graus centígrados

## RESUMO

---

A pesquisa sobre a epidemiologia e patogênese dos vírus dengue durante o período gestacional é essencial para compreender a gravidade clínica da dengue entre mulheres e seus filhos. Postula-se que crianças nascidas de mulheres com anticorpos antidengue podem desenvolver formas graves da doença durante a primeira exposição aos vírus dengue. Os objetivos foram: (a) determinar prevalência e incidência da infecção de dengue em gestantes e seus neonatos em dois hospitais públicos na cidade de Goiânia - Goiás, Centro-Oeste Brasil, (b) avaliar o percentual de recém-nascidos com anticorpos antidengue IgG maternos e a transmissão vertical dos DENV, (c) avaliar a associação de infecção materna recente por DENV (IgM) com as características do parto e dos recém-nascidos. Um estudo transversal foi realizado para avaliar marcadores de infecção recente (IgM) e prévia (IgG) de dengue em gestantes e recém-nascidos. A pesquisa foi realizada em dois hospitais públicos na cidade de Goiânia (1,2 milhões de habitantes), Centro-Oeste do Brasil, de dezembro de 2009 a maio de 2010. Foram recrutadas mulheres após o parto. Estas foram entrevistadas para coletar dados sobre infecção prévia de dengue, sintomas de dengue durante o período gestacional, tipo de parto e desfechos na gravidez. Amostras de sangue foram coletadas das mulheres e recém-nascidos (sangue de cordão umbilical). Infecção prévia por dengue foi definida pela positividade sorológica de IgG (PANBIO) e infecção recente por IgM (PANBIO). A pesquisa de antígeno NS1 e ácido nucléico viral (RT-PCR) foram realizadas em uma subamostra das participantes que relataram sintomas específicos de dengue em até dez dias do parto. As estimativas de prevalência e incidência foram calculadas com seus respectivos intervalos de 95% de confiança (IC 95%). A concordância entre os resultados sorológicos positivos e negativos entre os pares de gestantes e seus conceptos foi calculada (Índice Kappa), assim como os Valores Preditivos (positivo e negativo) entre história prévia de dengue e resultados dos marcadores sorológicos. Uma análise do tipo caso-controle foi realizada para avaliar os fatores de risco no desfecho da gravidez entre mulheres IgM positivo (casos) comparadas às mulheres soronegativas (controles). A análise foi realizada usando SPSS 17.0 e Epi Info 6.04. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética regional e todas as participantes assinaram o termo de consentimento informado de acordo com a regulamentação brasileira. Um total

de 505 mulheres e 505 recém-nascidos foram investigados. A idade média das mulheres foi 25,8 (dp = 6,4), 83,6% dos partos ocorreram entre 37 e 41 semanas de gestação. A prevalência de anticorpos antidengue IgG foi de 53,9% (IC95% 49,3% - 58,0%) entre as mulheres. Os anticorpos maternos também foram encontrados em 99,2% dos recém-nascidos (Índice Kappa = 0,96). A pesquisa do antígeno NS1 foi negativa entre as mulheres e um caso de DENV-2 foi detectado. A incidência de infecção recente por dengue (IgM positivo e RT-PCR) foi de 8,9% (IC95% 6,6% - 11,8%) entre as mulheres e 1,6% (IC95% 0,7% - 3,2%) entre as crianças. Oito recém-nascidos apresentaram anticorpos IgM com evidência de transmissão vertical de DENV. O Valor Preditivo Positivo da história prévia de dengue relacionados à soropositividade (IgG) foi de 88%. Os desfechos da gravidez foram semelhantes entre as mulheres soropositivas e soronegativas na análise caso-controle. Nesse estudo, metade das gestantes possuía anticorpos antidengue. Houve altas taxas de concordância de marcadores sorológicos detectados entre os pares de mulheres e neonatos. A infecção aguda por dengue em gestantes não foi associada com desfechos desfavoráveis na gravidez.

**Palavras-chave:** dengue, prevalência, incidência, gravidez, recém-nascidos transmissão vertical.

## ABSTRACT

---

The research about the epidemiology and the pathogenesis of dengue virus during the gestational period is essential to the understanding of clinical dengue severity among women and their offspring. It has been postulated that children born from women with antidengue antibodies may develop severe dengue during the first viral dengue exposure. The objectives were (a) to determine the prevalence and incidence of dengue infection in pregnant women and their neonates in two public hospitals in the city of Goiania, Goias State, Central Brazil, (b) to assess the percent of newborns with maternal IgG and DENV vertical transmission, (c) to evaluate the association of maternal recent dengue infection (IgM) with the characteristics of the delivery and neonates. A cross sectional study was conducted to assess recent (IgM) and previous (IgG) markers of dengue infection among pregnant women and newborns. The survey was conducted in two public hospitals in the city of Goiania (~1.2 million inhabitants), Central Brazil, from December 2009 to May 2010. We recruited women after giving birth. Women were interviewed to collect data about previous dengue infection, symptoms of dengue during gestational period, pregnancy period, delivery mode and outcomes pregnancy. Blood samples were collected from women and neonates (umbilical cord). Previous infection was defined by the positivity to IgG serology (PAN BIO) and recent infection by IgM (PAN BIO). The detection of NS1Ag and viral nucleic acid (RT-PCR) were performed in the subsample of participants who reported specific symptoms of dengue fever ten days previous to the delivery time. Prevalence and incidence estimates were calculated with 95% Confidence Intervals (95% CI). The agreement between the positive and negative serological results of the pair of women and their concepts was calculated (Kappa Index). Positive and Negative Predictive values between the history of previous dengue and the results of serological markers were calculated. A case-control analysis was performed to assess risk factors among IgM positive women (cases) and the outcomes of pregnancy compared to the seronegative women (controls). Analysis was performed using SPSS 17.0 e o Epi Info 6.04. The investigation was approved by the regional Ethical Committee and all participants signed informed consent according to the Brazilian regulation. A total of 505 women and 505 neonates were investigated. The mean age of women was 25.8 (SD = 6.4), 83.6% of

## ABSTRACT

---

deliveries were between 37 and 41 weeks of pregnancy. The prevalence of IgG dengue antibody was 53.9% (95% IC 49.3% - 58.0%) among women. Maternal antibodies were also found in 99.2% of the offspring (Kappa index = 0.96). NS1 antigen was negative among women and one case of DENV-2 was detected. The incidence of recent dengue infection (IgM positivity and RT-PCR) was 8.9% (95% CI 6.6% - 11.8%) among women and 1.6% (95% IC 0.7%-3.2%) among children. Eight neonates had IgM antibodies with evidence of vertical DENV transmission. The positive predictive value of the previous history of dengue related to seropositivity (IgG) was 88%. The outcomes of pregnancy were similar among seropositive and seronegative women in the case-control analysis. In our setting, half of the pregnant women had dengue antibodies. There was high agreement rates between the serological markers detected among the pair of women and their concepts. Acute dengue infection among pregnant women was not associated with the outcomes unfavorable of pregnancies.

**Key-words:** dengue, prevalence, incidence, pregnancy, neonates, vertical transmission.

# **1. INTRODUÇÃO / REVISÃO DA LITERATURA**

---

## **1. Introdução**

A dengue é considerada uma das arboviroses re-emergentes mais relevantes para a saúde pública e representa uma preocupação econômica mundial por afetar o sistema de saúde, o trabalho e o turismo com repercussões econômicas e sociais (Guzman, M. G. et al. 2006, World Health Organization 2006, Harving, M. L. & F. F. Ronsholt 2007). A doença é causada pelos vírus dengue classificados em 4 sorotipos antigenicamente distintos, DENV-1 a DENV-4, pertencentes à família *Flaviviridae*, gênero *Flavivirus* (ICTVdB 2010), e transmitidos ao homem por picada do mosquito do gênero *Aedes*, sendo *aegypti* a principal espécie transmissora e responsável pela manutenção do ciclo endêmico epidêmico nos centros urbanos (Gubler, D. J. 1998, 2002).

Clinicamente a dengue pode apresentar desde infecção assintomática a um amplo espectro de formas clínicas. As manifestações clínicas são febre, geralmente alta (39° a 40°C) de início abrupto, associada à cefaléia, mialgias, artralgias, dor retro-orbitária, com presença ou não de exantema e/ou prurido. Anorexia, náuseas, vômitos e diarreia podem ser observados por 2 a 6 dias (Brasil 2007). Cerca de 10% dos sintomáticos evoluem para formas graves da doença (World Health Organization 2009) e passam a apresentar sinais de alarme da dengue em função do aumento da permeabilidade vascular com ou sem manifestações hemorrágicas (Brasil 2007). A Organização Mundial da Saúde agrupou as infecções sintomáticas pelos vírus dengue em três categorias: febre indiferenciada, febre da dengue e febre hemorrágica da dengue (FHD). A Febre Hemorrágica da Dengue foi ainda classificada em quatro graus de gravidade (I a IV), com graus III e IV definidos como a Síndrome do Choque da Dengue (SCD) (World Health Organization 1997).

### **1.1. Situação epidemiológica da Dengue no mundo**

A dispersão global da dengue está ligada à interação entre os fatores: mosquito transmissor, seres humanos e vírus num contexto ecológico e de mudanças climáticas (Kyle, J. L. & E. Harris 2008). O crescimento populacional associado à urbanização

desordenada e a falta de recursos econômicos disponíveis para infra-estrutura e para medidas de saúde pública principalmente nos países em desenvolvimento, aceleraram o processo de dispersão do vetor e do vírus dengue na população humana (Gubler, D. J. 1998). Programas ineficientes de gestão de água e de resíduos acompanham esta urbanização desordenada e possibilitam a formação de criadouros, principalmente nos recipientes não-biodegradáveis, tão abundantemente proporcionados pela sociedade moderna e essenciais para a produção e manutenção das grandes populações do *Aedes aegypti*. (Knudsen, A. B. & R. Slooff 1992, Torres, E. M. 2005, Ooi, E. E. & D. J. Gubler 2009)

Atualmente mais de 2,5 bilhões de pessoas vivem em regiões tropicais e subtropicais sob risco de adquirir infecção por dengue. Esta situação envolve os continentes da Ásia, África, América e Oceania. Nos últimos 50 anos, a incidência de dengue aumentou 30 vezes com ampliação da expansão geográfica para novos países e, na presente década, de áreas urbanas para áreas rurais (World Health Organization 2009). Anualmente ocorrem cerca de 50 milhões de infecções pelos vírus dengue especialmente no Sudeste Asiático, na América Latina e nas ilhas do Pacífico Ocidental e aproximadamente 500 mil casos graves de dengue notificados (Pinheiro, F. P. & S. J. Corber 1997, Gubler, D. J. 1998, World Health Organization 2006, Pan American Health Organization 2008).

Os viajantes desempenham um papel importante na epidemiologia das infecções por dengue no mundo. As viagens aéreas internacionais fornecem meios ideais para o transporte de seres humanos infectados e/ou vetores em longas distâncias, resultando em uma troca freqüente de vírus dengue entre países endêmicos e risco de introdução da doença em áreas receptivas a propagação de vetores em novos nichos ecológicos (Gubler, D. J. 1998). Nas áreas que são altamente receptivas a dengue, um único caso importado pode iniciar uma epidemia (World Health Organization 2009). De acordo com a Organização Mundial do Turismo, em 2004, mais de 120 milhões de turistas internacionais visitaram países tropicais condicionando-se ao risco de adquirir infecção por dengue e aumentando o risco de dengue grave e/ou epidemias em locais endêmicos (World Health Organization 2006, Wichmann, O. et al. 2007).

A epidemiologia da dengue apresenta importantes diferenças registradas entre continentes e intrapaíses. O cenário epidemiológico de dengue no Sudeste Asiático resulta das alterações ecológicas, demográficas e urbanas do pós-guerra. Crescimento populacional interno, imigrantes impulsionados pelo movimento econômico e o êxodo

rural disponibiliza hospedeiros suscetíveis que sustentam a dispersão do vírus causando epidemias agravadas por um sistema de vigilância epidemiológica passivo e ineficiente, apesar de experiências pontuais bem sucedidas em países como Cingapura (Ooi, E. E. & D. J. Gubler 2009) .

O Sudeste Asiático apresenta situação hiperendêmica com co-circulação dos quatro sorotipos virais de dengue de forma continuada por mais de cinco décadas e a dengue é uma das dez principais doenças responsáveis por hospitalização e morte de crianças nesta região (Watanaveeradej, V. et al. 2003). Até recentemente 50% das crianças tailandesas poderiam adquirir uma ou mais infecção por dengue até os 5 anos de idade e aos vinte anos teriam anticorpos para os 4 sorotipos (Halstead, S. B. 2006). Com a expansão econômica e melhorias nos programas de controle da doença, a incidência da dengue diminuiu em alguns países dessa região, entretanto houve aumento de FHD em crianças e emergência da doença em adultos (Halstead, S. B. 2006).

No início do século XX a Organização Panamericana de Saúde promoveu programa de controle do *Aedes aegypti* para conter epidemias de febre amarela e decretou sua erradicação do continente americano na década de 50 influenciando positivamente nas epidemias de dengue (Braga, I. A. & D. Valle 2007). Estudos apontam para circulação do DENV-2 durante este período, contudo sem epidemias importantes (Anderson, C. R. et al. 1956). A reinvasão vetorial é observada na década de 60 e em 1963 ocorreu à introdução do DENV-3 responsável por epidemia na Jamaica e dispersão do vírus para outras regiões do pacífico e Venezuela (Guzman, M. G. et al. 2006). Em 1977 o DENV-1 foi introduzido causando grandes epidemias em Cuba, Jamaica, Venezuela entre outras ilhas do pacífico. No continente americano a primeira epidemia de FHD manifestou-se em Cuba em 1981 com a introdução do DENV-2 após a epidemia de 1977 pelo DENV-1 quando 60,3% do total de óbitos ocorreram em menores de 15 anos de idade. Ainda neste ano o DENV-4 foi introduzido e dispersou-se pela bacia do Caribe, México, América Central e Nordeste da América do Sul (Guzman, M. G. et al. 2006, Halstead, S. B. 2006).

A América sofreu mudanças importantes na característica das epidemias de dengue migrando de um padrão de poucas epidemias com poucos doentes para revelar uma situação hiperendêmica de epidemias intermitentes e persistência da co-circulação de múltiplos sorotipos virais (Guzman, M. G. et al. 2006).

Esta alta atividade dos vírus dengue no continente americano e a reinfestação pelo *Aedes aegypti*, contribuíram para a reintrodução dos vírus dengue no Brasil na década de 80 (Pinheiro, F. P. & S. J. Corber 1997) e seguindo o padrão americano, no Brasil, a

introdução seqüencial de DENV-1 (1986), DENV-2 (1990) e DENV-3 (2000) não foram acompanhadas por grandes epidemias de dengue hemorrágica, mas, predominantemente, por febre do dengue que, em sua maioria, se manifesta clinicamente em adultos (Nogueira, R. M. et al. 2007, Teixeira, M. G. et al. 2009).

## **1.2. Situação epidemiológica da Dengue no Brasil**

A década de 70 marca a detecção da reintrodução e reocupação em grande escala do *A. aegypti* no Brasil (Figueiredo, L. T. M. 1996, Penna, M. L. 2003). Um surto de dengue causado pelo DENV-1 e DENV-4 em 1981 na cidade de Boa Vista no estado de Roraima, foi o primeiro relato dessa doença no país após a reintrodução do *Aedes aegypti* em 1976. Mecanismos para a contenção da dispersão do vetor foram realizados localmente e não foram registrados casos no país pelos próximos quatro anos (Osanai, C. H. et al. 1983). A reintrodução do DENV-1 no Rio de Janeiro em 1986, e a dispersão para interior em regiões do Nordeste e Centro-Oeste fez da dengue um problema de saúde pública no Brasil (Nogueira, R. M. et al. 2007) desde então, com áreas endêmicas espalhadas por todo o país (Figueiredo, L. T. M. 1996).

A situação agravou-se em 1990 com a introdução do DENV-2 também no estado do Rio de Janeiro e com sua propagação para outras regiões do interior do país quando ocorreram formas clínicas mais graves e os primeiros óbitos pela doença (Teixeira, M. G. et al. 1999). Ausente das Américas por quase 15 anos, o DENV-3 foi reintroduzido em 1994, chegando ao Brasil no ano 2000 com grande dispersão, e uma epidemia grave de amplo espectro clínico aconteceu no verão de 2001/2002 quando foram notificados mais de 794 mil casos de dengue no país (Ministério da Saúde 2002, Nogueira, R. M. et al. 2007).

Em 2008 foram notificados no Brasil 815.903 casos o que representa cerca de 70% dos casos registrados de toda a América no mesmo ano (Pan American Health Organization 2008). O quadro de circulação viral mostrou prevalência DENV-3 entre os isolados com aumento substancial de isolados de DENV-2 e este, está associado às formas mais graves da doença (Ministério da Saúde 2008). O número de casos e novas epidemias causadas pelo sorotipo DENV-2 nesse ano, ocorreram em diversos estados do país, marcando o pior cenário da doença no Brasil, em relação ao total de internações e óbitos até aquele momento (Ministério da Saúde 2002). Neste mesmo ano, em 2008, o Rio de Janeiro viveu uma alarmante epidemia de janeiro a agosto, onde foram notificados 250.200 casos e 123 óbitos, sendo 45 por FHD, 22 por síndrome do choque da dengue (SCD) e 56

por dengue com complicações, com 42% dos óbitos em menores de 15 anos de idade (Ministério da Saúde 2009).

Segundo o Ministério da Saúde, no Brasil, os adultos jovens foram os mais atingidos pela doença desde a introdução do vírus em 1981. Casos de FHD acometeram predominantemente o grupo etário de 20 a 40 anos no período de 1998 a 2006 (Teixeira, M. G. et al. 2008) em contraste ao Sudeste Asiático onde casos de FHD ocorrem predominantemente em crianças (Halstead, S. B. 2006).

A classificação de risco dos casos suspeitos de dengue adotada pelo Ministério da Saúde considera como grupo especial os pacientes menores de 15 anos, gestantes, adultos maiores de 60 anos e pacientes com co-morbidade (Ministério da Saúde 2002). Teixeira e colaboradores (2008) mostraram mudança na predominância de casos por faixa etária observada durante a epidemia de dengue no Brasil no ano de 2007. A maior parte dos casos de FHD foram hospitalizados e os dados das internações hospitalares demonstram que em municípios de maior contingente populacional mais de 53% dos casos de FHD acometeram crianças menores de 15 anos de idade. Em municípios com menor população, mais de 25% dos pacientes internados por dengue eram crianças, o que ressalta que todo o país vem sofrendo, de maneira semelhante essas alterações no perfil da doença (Ministério da Saúde 2002, Barreto, M. L. & M. G. Teixeira 2008).

A mudança no padrão de gravidade da dengue em crianças menores de 15 anos de idade também foi descrita por Siqueira e colaboradores (2005) em um estudo de epidemias no estado do Amazonas em 2001 e 2003 quando os casos de FHD em crianças totalizaram 30,9 e 28,8% respectivamente do total de casos notificados neste período. Em outro estudo realizado na cidade de Manaus-AM, verificou-se que entre 2006 e 2007 houve aumento significativo da proporção de casos de dengue na população de menores de 15 anos de idade e da proporção de casos graves neste grupo etário. Também foi observado um maior risco de adoecer por dengue entre os menores de 1 ano de idade (Rocha, L. A. & P. L. Tauil 2009).

Em 1994 no município de Paracambi no estado do Rio de Janeiro um inquérito soropidemiológico de dengue foi realizado em escolares e demonstrou prevalência de anticorpos anti-dengue de 39,2% (Cunha, R. V. et al. 1997). Outro inquérito sorológico realizado em distintas áreas do Recife, entre 2005 e 2006, mostrou prevalências de soropositividade acima de 65% na população menor de 15 anos de idade (Braga, C. et al. 2009). Esses dados evidenciam a elevada transmissão e a tendência crescente de ocorrência de casos graves de dengue na infância e adolescência em algumas regiões do Brasil.

No ano de 2009 foi observada uma redução de 63% no número de casos graves e de 39% nos óbitos em comparação ao mesmo período de 2008. Os casos notificados apresentaram redução mais intensa no período de alta incidência da doença e tendência ascendente a partir de novembro, culminando na epidemia de 2010, com aumento de 158% do número de casos notificados até a semana epidemiológica de número 26 comparados ao mesmo período em 2009. Um dos fatores envolvidos no aumento de casos notificados em 2010 é a recirculação do DENV-1, com baixa circulação desse sorotipo ao longo dessa década (Ministério da Saúde 2002, 2010b).

O quadro epidemiológico atual da dengue no país caracteriza-se pela ampla distribuição do *Aedes aegypti* em praticamente todas as regiões, com uma complexa dinâmica de dispersão do vírus, circulação simultânea de três sorotipos virais (DENV-1, DENV-2 e DENV-3) e vulnerabilidade para a dispersão do sorotipo DENV-4, recentemente detectado no estado de Roraima, bem como para a ocorrência de epidemias com aumento de formas graves possibilitando o risco de aumento da letalidade (Ministério da Saúde 2002, 2010c).

### **1.3. Situação epidemiológica da Dengue em Goiás**

A história da dengue em Goiás foi laboratorialmente registrada em 1994 a partir da introdução do DENV-1 quando ocorreu a primeira epidemia de dengue na região. Houve notificação de aproximadamente 3.500 casos de dengue clássico, sendo 98% dos casos registrados em Goiânia (Maciel, I. J. 1999). O DENV-1 permaneceu como o único sorotipo detectado até 1997, ocasião em que foi isolado o DENV-2 (Féres, V. C. R. et al. 2003). Casos de FHD foram registrados a partir da introdução deste sorotipo, o que foi concordante com os dados relatados no Brasil que associam casos de FHD com infecção por este sorotipo quatro anos depois da primeira epidemia por DENV-1 (Nogueira, R. M. et al. 1991, Zagne, S. M. et al. 1994).

A dengue tornou-se endêmica na região com picos epidêmicos nos meses de janeiro a março, estabelecendo um padrão de sazonalidade no período das chuvas, tal como é observado em outras regiões do Brasil (Siqueira Júnior, J. B. 2001).

Dois estudos sorológicos de base populacional apontaram para soroprevalência de 30% e 39% para a infecção por dengue encontradas na população estudada na cidade de Goiânia nos anos de 2000 e 2001, respectivamente (SIQUEIRA JR, J. 2008). O incremento de aproximadamente 10% na prevalência da população de Goiânia no intervalo de um ano

e considerando a população global do município, estima-se que acima de 400 mil residentes tiveram exposição prévia aos vírus dengue (Martelli, C. M. T. et al. 2003).

Em janeiro de 2002, houve a introdução do DENV-3 em Goiás, durante uma grande epidemia de dengue ocorrida em Goiânia sendo o DENV-1 o sorotipo predominante com 90,8% dos isolados. O DENV-3 dispersou-se rapidamente, sendo detectado simultaneamente em outros municípios do estado, tornando-se predominante com 78,2% dos isolados no ano de 2003, em substituição ao DENV-1 (Féres, V. C. et al. 2006)

No período de 2003 a 2007 observou-se a intensificação da interiorização da dengue em Goiás associado ao aumento do número de casos notificados, de casos graves e óbitos no estado (Maciel, I. J. et al. 2008).

Em 2008, foram notificados em Goiás cerca de 70% do total de casos registrados no Centro-Oeste, mas em 2009 observou-se uma redução de 2% das notificações de dengue neste estado. (Ministério da Saúde 2009). Ao longo de 2009, seguindo a tendência do país, o monitoramento da circulação de sorotipos virais apontou para uma nova mudança no sorotipo predominante, com recirculação importante do DENV-1. Essa nova situação alerta para a possibilidade de grande circulação desse sorotipo nos estados, onde a população não esteve em contato com este sorotipo desde o início da década (Ministério da Saúde 2002).

Em 2010 até a semana epidemiológica de número 26 mais de 900 mil casos de dengue foram notificados no Brasil. Destes 9.688 são casos graves e 367 óbitos. No Centro-Oeste foram notificados 186.829 casos dos quais 80.189 (42,9%) se concentraram em Goiás registrando um aumento de 253,15% em relação ao mesmo período no ano de 2009. Ressalta-se que cerca de 27% do total de casos notificados no país, até o momento, estão concentrados em oito municípios dentre eles Goiânia, capital do estado, com 4,2% dos casos. A recirculação do sorotipo 1 do vírus da dengue observada em 2009 levou a um cenário de alta transmissão da doença ao longo de 2010, dando início a um novo ciclo da doença no Brasil (Ministério da Saúde 2010b).

## **2. Imunopatogênese da dengue, determinantes de susceptibilidade e de gravidade das formas clínicas.**

A Febre Hemorrágica do Dengue (FHD) caracteriza-se por agravamento do quadro clínico de dengue pelo aumento da permeabilidade vascular, alterações hemostáticas e outros sinais de alarme desencadeados, geralmente, no período de defervência. FHD em

crianças e adultos está freqüentemente associada à resposta imune de infecções secundárias heterotípicas, entretanto, estudos descrevem FHD em primo-infecção nas crianças nascidas de mães DENV imunes (World Health Organization 2006).

O entendimento da patogênese da dengue tem sido o objeto de vários estudos na tentativa de elucidar os mecanismos que levam ao desenvolvimento das formas graves da doença. Apesar de não estarem totalmente esclarecidos, os fatores determinantes dos efeitos mais graves parecem resultar de uma interação entre aspectos virais, imunológicos e outros também relacionados ao hospedeiro humano (Rothman, A. L. & F. A. Ennis 1999, Noisakran, S. & G. C. Perng 2008, Coffey, L. L. et al. 2009). Estudos propõem que citocinas, antígeno NS1, aminotransferases e componentes do complemento sejam fatores preditivos para desenvolvimento de FHD (Lin, C. F. et al. 2006, Wang, W. K. et al. 2006).

Uma limitação importante na compreensão dos mecanismos de patogênese da infecção por DENV é a falta de modelos animais adequados. Os primatas não humanos são permissivos a infecção por DENV, mas sinais clínicos da doença não são observados e outros modelos animais de pequeno porte ainda não permitem compreensão total do mecanismo (Scherer, W. F. et al. 1978, Tan, G. K. et al. 2010)

Na ocorrência de infecção por DENV é conferida proteção homóloga permanente ao indivíduo e proteção heteróloga por um curto período de tempo quando este se torna susceptível a novas infecções por outros sorotipos virais (Russell, P. K. et al. 1967). Halstead (1988) propôs a teoria da amplificação da infecção dependente de anticorpos (*Antibody Dependent Enhancement – ADE*) para explicar as infecções graves por DENV. O fenômeno ADE tem sido amplamente estudado e define que a infecção sequencial por diferentes sorotipos virais aumenta o risco de FHD/SCD pela presença de anticorpos heterólogos preexistentes sub-neutralizantes os quais formam imunocomplexos com os vírus que são reconhecidos e internalizados com maior eficiência por monócitos, propiciando maior replicação viral.

Outras teorias auxiliam na compreensão da imunopatogênese da dengue, uma delas aponta para a evolução genética dos vírus responsável por produzir variantes mais virulentas dentro dos sorotipos virais do DENV (Rosen, L. 1977). A caracterização dessas variantes genéticas através dos estudos de biologia molecular possibilitou a determinação da evolução molecular e a origem geográfica dos vírus, e ainda, poder inferir a respeito da virulência viral em relação à variabilidade na expressão clínica da doença (Rico-Hesse, R. 2007), determinando o maior ou menor potencial epidêmico de FHD/SCD (Leitmeyer, K. C. et al. 1999, Messer, W. B. et al. 2003). Alguns genótipos do DENV, tais como as cepas

asiáticas do DENV-2 e DENV-3, foram mais comumente associados à dengue grave, assim como a seqüência de infecções primária e secundárias por combinação de sorotipos virais distintos como DENV-1/DENV-2 e DENV-1/DENV-3 (World Health Organization 2006).

A hipótese integral formulada por Kouri et al. (1989) define uma relação de coexistência de três tipos de fatores: epidemiológicos, virais e do hospedeiro, necessários ao desenvolvimento de formas graves da dengue (Kouri, G. P. et al. 1989). Estudos epidemiológicos sugerem que características do hospedeiro como etnia, idade, sexo e portadores de algumas doenças crônicas são fatores de risco que influenciam na gravidade da doença por DENV (Gubler, D. J. 1998, Guzman, M. G. et al. 2006, Halstead, S. B. 2009). Isto foi observado durante a epidemia de FHD/SCD em Cuba em 1981 quando casos graves e fatais foram correlacionados os seguintes fatores de risco individuais: pré-existência de anticorpos antidengue, idade (alta freqüência entre crianças), sexo (alta freqüência em mulheres adultas), raça (alta freqüência entre brancos) e doenças crônicas (mais freqüente em pacientes com asma, anemia falciforme e diabetes mellitus) (Kouri, G. P. et al. 1989, Halstead, S. B. 2007).

Noisakran and Perng (2008) sugerem uma hipótese alternativa sobre a patogênese da FHD/SCD. No estágio inicial da infecção, quando o vírus é inoculado pelo vetor diretamente nos capilares sanguíneos, o seu primeiro alvo são as células da imunidade inata. Neste primeiro momento ocorre ativação de substâncias tais como plaquetas, citocinas e outros mediadores químicos que podem direta ou indiretamente contribuir para o desenvolvimento de FHD em fase precoce da infecção. Num segundo momento, na fase de proteção imunológica específica quando a viremia e a febre cedem, FHD pode estar associada aos componentes da imunidade adaptativa tais como as IgGs e linfócitos T.

Mongkolsapaya et al. (2003) descreveram fatores complementares da imunopatologia da dengue demonstrando que na infecção secundária por DENV, ocorre a reativação das células T produzidas na primo-infecção que reconhece epítomos com reatividade cruzada ocasionando atraso na remoção viral e/ou aumentando a secreção de citocinas, juntamente com aumento da apoptose das células infectadas e das células adjacentes não infectadas. A presença de epítomos similares, porém não idênticos entre os diferentes sorotipos do DENV produzem anticorpos e linfócitos T com menor afinidade para o antígeno em uma nova infecção heterotípica determinando uma resposta imunológica anormal e deletéria (Kurane, I. 2007, Coffey, L. L. et al. 2009).

A indução de imunidade pela infecção por DENV também tem sido descrita como relacionada à imunogenicidade das proteínas E, componente do envelope viral, e da NS1

na forma secretada e expressada na superfície de células infectadas (Young, P. R. et al. 2000, Kuhn, R. J. et al. 2002). Os anticorpos produzidos na primo-infecção facilitam a interação das células do sistema monócito-fagocitário e dos vírus através do receptor Fc resultando na infecção facilitada destas células com amplificação da replicação viral e aumento da formação de imunocomplexos responsáveis pela ativação do complemento e de linfócitos T (Kurane, I. et al. 1994, Libraty, D. H. et al. 2002). A indução da imunopatogênese por linfócitos T CD8<sup>+</sup> e CD4<sup>+</sup> pode resultar em vários mecanismos incluindo citotoxicidade celular e produção de citocinas respectivamente (Rothman, A. L. & F. A. Ennis 1999). Essa reativação de células T proveniente de reação cruzada de infecções seqüenciais heterotípicas é descrita pelo fenômeno denominado *original antigenic sin* (Mongkolsapaya, J. et al. 2003, 2006) o qual exibe retardo de remoção viral, produção alterada de citocinas e atividade citolítica (Yauch, L. E. et al. , Mangada, M. M. & A. L. Rothman 2005) resultando em viremia aumentada e possível aumento da gravidade da doença (Kurane, I. 2007, Coffey, L. L. et al. 2009).

Na busca de marcadores que possam evidenciar a progressão da dengue para FHD, vários estudos demonstraram fatores moleculares, imunológicos e virais importantes. Whei-Kung Wang et al. (2006) compararam pacientes com infecção secundária por DENV-2 e evidenciaram naqueles com diagnóstico de FHD baixas taxas de remoção de imunocomplexos com maiores níveis de carga viral, além de taxas elevadas de mediadores químicos como C5a e receptor para IL-2 na forma secretada, comparados aos pacientes com dengue. Os altos níveis de carga viral podem estar associados à ineficiente remoção dos imunocomplexos, ativação policlonal das células T e ativação aumentada do sistema complemento contribuindo para a imunopatogênese do FHD (Wang, W. K. et al. 2006). Guilarde et al. (2008) realizaram estudo durante epidemia por DENV-3 e evidenciaram viremia prolongada após defervência assim como taxas anormais de enzimas hepáticas em pacientes adultos com FHD comparados a pacientes com dengue clássica. Na fase aguda da dengue várias citocinas e outros mediadores químicos são produzidos e liberados por células como os macrófagos e linfócitos TCD4<sup>+</sup>, entre elas se destacam TNF- $\alpha$ , IFN- $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-1, IL-6, fator ativador de plaquetas e histamina que poderiam vir a induzir o extravasamento de plasma por múltiplos efeitos sobre o endotélio vascular, com envolvimento do sistema complemento, bem como pela ativação de monócitos, linfócitos e plaquetas (McBride, W. J. & H. Bielefeldt-Ohmann 2000, Mangada, M. M. et al. 2002, Mongkolsapaya, J. et al. 2003, Pang, T. et al. 2007). A produção de citocinas durante a infecção por DENV é foco de vários estudos que buscam comparar a atuação dessas

substâncias em pacientes com FHD e pacientes com dengue. Em casos de FHD foram evidenciados níveis aumentados de TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-6 e IFN- $\gamma$ . Uma explicação chave para a associação das citocinas com FHD inclui a mudança da resposta imunológica do tipo Th1 na dengue para Th2 na FHD com aumento dos níveis de IL-10 e IL-4 (Chaturvedi, U. C. et al. 1999, 2006).

Um aumento da expressão de genes que codificam citocinas inflamatórias incluindo IFN- $\gamma$  e IL-12A foi demonstrado em crianças com infecção grave por dengue, e, o perfil de Toll-like receptors foi diferentemente ativado com aumento da expressão de TL7 e TL4R3, ambos incrementando a resposta antiviral em associação com efusão pleural e manifestações hemorrágicas (de Kruif, M. D. et al. 2008).

Células T regulatórias (Treg) possuem o papel de regular o estímulo da resposta imunológica por supressão de células T efetoras assim como suprimir a produção de citocinas vasoativas como IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , and IL-6 descritas em vários estudos que avaliam a função dessas células em doenças crônicas (von Boehmer, H. 2005). Células Treg CD4(+) CD25(high) FoxP3(+) foram avaliadas pela primeira vez em infecção aguda, em estudo conduzido por Luhn et al. que demonstrou que tanto em pacientes com dengue quanto aqueles com FHD, células Treg demonstraram aumento de sua expansão clonal, manutenção da capacidade funcional de supressão de células T e secreção de IL-10. Entretanto, diferença estatisticamente significativa foi observada quando comparada a razão entre células Treg e células T efetoras dentre pacientes com doença leve daqueles com doença severa o que demonstrou que apesar da expansão clonal e a manutenção das atividades, em casos graves, a quantidade de células Treg podem não ser suficiente para controlar a resposta imune e dessa forma, o desenvolvimento da doença seria resultante de um balanço entre a atividade funcional das células T regulatórias e células T efetoras produtoras de citocinas vasoativas (Luhn, K. et al. 2007).

Todas essas evidências apontam para o importante papel das citocinas e mediadores químicos na exacerbação da cascata de eventos da patogênese na dengue (Stephenson, J. R. 2005, Pang, T. et al. 2007). Acredita-se que as citocinas desempenham um papel direto na imunopatogênese da infecção, devido seus efeitos pró-inflamatórios nas células do endotélio vascular que presumivelmente levam a um aumento da permeabilidade capilar (Mongkolsapaya, J. et al. 2003).

Fatores genéticos foram estudados em relação à suscetibilidade das formas clínicas de dengue e aos diferentes perfis de células T, resultando em resposta imunológica anti-viral variada (Clyde, K. et al. 2006, Coffey, L. L. et al. 2009). Sierra et. al (2007)

descreveram que o polimorfismos na região do gene HLA (HLA-A, HLA-B-alvo, HLA-CW1) foram estatisticamente associados com a susceptibilidade para desenvolvimento do FHD enquanto polimorfismo no HLA-DRB1 estava associado à proteção. Este estudo foi realizado em população Cubana que desenvolveu dengue ou FHD durante a epidemia de DENV2 em 1997.

Outros fatores podem estar intimamente associados com infecção por vírus dengue e necessitam ainda de mais estudos, tais como, febre ocasionada pela ação das citocinas que deveriam impedir o desenvolvimento do vírus no hospedeiro, entretanto podem estar auxiliando na gravidade da doença, definição dos fatores determinantes da viremia, mecanismo de transmissão vetorial enquanto vetor biológico ou apenas como vetor mecânico, melhor compreensão da participação do sistema imune inato (Noisakran, S. & G. C. Perng 2008), definição do papel de anticorpos neutralizantes e o significado dos vírus que escapam da neutralização, determinação do papel da autoimunidade no curso da dengue e FHD assim como compreender o papel genético na susceptibilidade dos hospedeiros (Guzman, M. G. et al. 2006).

### **3. Dengue em gestantes e crianças**

De acordo com a literatura, a imunidade humoral em gestantes se mantém em níveis normais, porém há uma supressão seletiva de alguns aspectos da imunidade celular para acomodar o feto (Mellor, A. L. & D. H. Munn 2000). Anticorpos do tipo IgG são transferidos da mãe para o feto via placenta e conferem proteção específica ao recém-nascido, por período variável de tempo, habitualmente nos primeiros meses de vida (Mellor, A. L. & D. H. Munn 2000). Infecções virais adquiridas ou reativadas durante a gravidez representam um risco para as gestantes e seus conceptos (Perret, C. et al. 2004, World Health Organization 2007). Para algumas infecções, por exemplo, mulheres HIV positivas, o manejo adequado pode reduzir a transmissão vertical (Newell, M. L. 2001, Turchi, M. D. et al. 2007), entretanto não há intervenções terapêuticas descritas para prevenção da transmissão vertical das infecções pelos vírus da dengue.

Utilizamos com finalidade de revisão bibliográfica das questões referentes às infecções pelos vírus dengue em gestantes e crianças os seguintes unitermos: dengue, pregnant, pregnancy, maternal, infant, neonate, children, vertical transmission, sendo a pesquisa realizada no Pubmed com as seguintes sintaxes:

- (a) [((dengue) AND (pregnant OR pregnancy)) AND (neonate OR infant)];  
 (b) [((dengue) AND (pregnant OR pregnancy OR maternal)) AND vertical transmission];  
 (c) [((dengue) AND (maternal)) AND (infants OR children)].

As buscas bibliográficas realizadas na B.V.S. e Scielo com os unitermos “dengue” e “pregnancy” entretanto não acrescentaram novos artigos à lista anterior.

Foram selecionados artigos em Inglês, Português ou Espanhol, com população de estudo restrita às gestantes ou que incluíam subpopulação de gestantes. Foram excluídos os relatos de caso e série de casos, pois, foram contemplados, na revisão sistemática realizada por Poliout e colaboradores. Nesta nossa atualização bibliográfica identificamos apenas um artigo do tipo relato de caso, não incluído na revisão sistemática. O estudo realizado em Taiwan foi publicado em março de 2010 período posterior à publicação da revisão e descreve um caso de dengue diagnosticado no início da gestação (11 semanas).

Foram excluídos da nossa tabela estudos que avaliavam infecção de dengue em gestantes, entretanto não enfocavam comparação entre os marcadores de exposição viral recente ou tardia dos pares de gestante e neonato.

Na tabela abaixo estão descritos os principais estudos selecionados das bases eletrônicas de dados pesquisadas (Pubmed, Lilacs, BVS, Scielo) que abordaram infecção de dengue em gestantes, frequência de dengue nesta população, transmissão vertical do DENV e desfechos no parto para as mulheres e seus conceptos.

<b>Autor/ Ano</b>	<b>Local</b>	<b>Desenho</b>	<b>Participantes</b>	<b>Resultados</b>
<b>Sudeste Asiático</b>				
Perret, 2004	Bangkok, Tailândia	Prevalência	245 Gestantes/RN	Prevalência gestantes 94,7%
Watanaveeradej, 2003	Bangkok, Tailândia	Coorte	2000 sangue cordão 250 pares Gestantes/RN 100 crianças	Prevalência gestantes 97% Concordância IgG entre os pares 96,8% Declínio de Acs maternos: 72%(6m), 99% (9m) e 100% (12m) Imunidade para os 4 DENV
Pengsaa, 2006	Bangkok Tailândia	Coorte	219 pares Gestantes/RN 140 crianças	Prevalência gestantes 93,6% Prevalência neonato 95% Declínio de Acs maternos: 27%(6m), 80%(9m) e 95% (12m) Imunidade para os 4 DENV
Simmons, 2007	Vietnam	Coorte	55 RN	Prevalência 100% Detecção dos Ac IgG maternos em: 98% (6m), 84%(9m) e 53% (12m)
Tan, 2008	Malásia	Coorte	2531 Gestante/RN	Incidência gestantes: 2,5% (IC95% 1,9-3,2%) 88,9% (56/63)assintomáticas

				Incidência neonatos: 1,6% (IC95% 0,0-9,5%)
<b>Revisão Sistemática</b>				
Pouliot, 2010	Diversos países	Revisão Sistemática	19 Relatos de casos 9 Série de casos 2 estudos comparativos	Transmissão vertical: 64% relatos de casos 12,6% em série de casos Desfechos: 12% pré-eclampsia 4% eclampsia 4% e 7 % neonatos com baixo peso relato e série de casos respectivamente. 16,1% prematuros

Nas publicações sobre infecção pelos vírus da dengue em gestantes os desfechos variaram desde infecções assintomáticas, pré-eclampsia, eclampsia, hemorragia durante o parto e óbito materno (Halstead, S. B. 2009, Jain, A. & U. C. Chaturvedi 2010). A infecção pelos vírus da dengue pode causar doença em neonatos, mesmo durante uma infecção assintomática das gestantes e os desfechos descritos na literatura variaram desde casos assintomáticos até a morte dos conceptos (Pouliot, S. H. et al. 2010). A transmissão vertical de dengue foi descrita na América Latina em países como Cuba (Fernandez, R. et al. 1994), Colômbia (Restrepo, B. N. et al. 2003), Brasil (Maroun, S. L. et al. 2008), Guiana Francesa (Basurko, C. et al. 2009), em países asiáticos como Malásia (Chye, J. K. et al. 1997, Tan, P. C. et al. 2008), Polinésia Francesa (Poli, L. et al. 1991), Taiwan (Chong, K. Y. & K. C. Lin 1989) e Tailândia (Witayathawornwong, P. 2003, Petdachai, W. et al. 2004, Sirinavin, S. et al. 2004, Phongsamart, W. et al. 2008).

Em recente revisão sistemática sobre eventos materno-fetais em dengue, diferentes aspectos relativos à infecção por DENV na gestação foram abordados tais como: potencial de alteração da susceptibilidade materna à infecção, possibilidade de desfechos desfavoráveis no feto e no parto (Pouliot, S. H. et al. 2010). Esta revisão sistemática foi realizada no intuito de avaliar o impacto do desfecho das infecções de dengue na gravidez. As seguintes publicações foram incluídas na revisão sistemática de Pouliot et al: 19 relatos de casos, 9 séries de casos e dois estudos de seguimento dentre eles uma coorte com 2531 pares de gestantes e neonatos, recrutados na Malásia e um estudo de caso controle realizado na Colômbia com aproximadamente 24 neonatos.

Dois estudos brasileiros estão descritos nesta revisão sistemática. Figueiredo e colaboradores (1994) demonstraram que anticorpos antidengue DENV-1 IgG transferidos para o feto não desencadeou desfechos desfavoráveis durante o parto nem para a mãe nem para a criança. O estudo conduzido por Maroun e colaboradores (2008) descreve

transmissão vertical do DENV durante grande epidemia no Rio de Janeiro em 2008, confirmado por RT-PCR para DENV-2 e presença de anticorpos antidengue do tipo IgM na criança após o parto. Da mesma forma desfechos desfavoráveis não foram descritos.

Os desfechos adversos extraídos dos artigos selecionados pela revisão sistemática foram: tipo de parto, baixo peso ao nascer, prematuridade, pré-eclampsia, eclampsia, hemorragias no parto, morte fetal e materna, transmissão vertical entre outros. A conclusão da revisão sistemática foi que apesar dos estudos apresentados, devido ao número limitado de estudos comparativos, não há evidências suficientes para determinar se a infecção por DENV é fator de risco no desfecho da gravidez e ainda, não foi possível estimar a frequência de transmissão vertical da infecção apesar do risco existente (Pouliot, S. H. et al. 2010).

Na infecção natural de dengue os anticorpos desenvolvidos conferem imunidade sorotípica permanente ao indivíduo infectado enquanto os anticorpos antidengue transferidos passivamente da mãe para o feto conferem imunidade temporária com decréscimo gradual destes anticorpos durante o primeiro ano de vida. Estudos demonstram que um decréscimo acentuado dos anticorpos maternos ocorrem no período de 6 aos 9 meses de idade como descrito por Pengsaa et al. 2006 e Watanaveradeej et al. 2003 que demonstraram redução de 80% e 99% dos anticorpos maternos em crianças aos 9 meses de idade respectivamente.

Quanto à patogênese durante o primeiro ano de vida da criança, postula-se que a queda dos anticorpos antidengue (IgG) maternos transferidos na gestação possa propiciar uma janela imunológica caracterizada pela presença de níveis subneutralizantes de anticorpos que são capazes de provocar a exacerbação da infecção pelo DENV nos macrófagos em seus receptores de superfície Fc (Simmons, C. P. et al. 2007, Halstead, S. B. 2009). Essa hipótese é reforçada por estudos realizados em países do sudeste asiático que mostram que, diferente da imunopatogênese da doença nos adultos, a dengue grave em crianças resulta frequentemente de uma primo-infecção (Endy, T. P. et al. 2004, Laoprasopwattana, K. et al. 2005).

Ainda, a maior gravidade do dengue nos primeiros anos de vida é atribuída à reduzida capacidade de compensar o extravasamento de líquido para o meio extravascular, além de outras disfunções orgânicas sistêmicas, particularidade que torna difícil o manejo clínico nessa população (Nguyen, T. H. et al. 2004).

Um estudo *in vitro* comparou replicação do DENV-2 em cultura celular utilizando sangue de cordão de recém nascidos imunizados verticalmente e não imunizados, assim

como, amostras de soro de pacientes com até 12 meses de idade. Os resultados demonstraram facilidade de replicação viral em leucócitos permissivos nas amostras que continham anticorpos antidengue maternos e demonstraram ainda redução gradual na replicação viral em amostras de pacientes com até 12 meses de idade. Isso reforça a hipótese de que a FHD em crianças com infecção primária grave com choque observado em Bangkok está relacionada com o estado imunológico da mãe (Marchette, N. J. et al. 1979).

Em 1981, o DENV-2 foi introduzido em Cuba e testes com soros pareados de pacientes com FHD/SCD mostraram resposta imunológica de anticorpos de infecção secundária. Foi descrito que crianças de 1 e 2 anos de idade não necessitaram de internação visto que estas nasceram após epidemia por DENV-1 em 1977-1978, para estas, a exposição limitou-se ao DENV-2. Do mesmo modo, crianças menores de 1 ano de idade com primo-infecção e que desenvolveram FHD/SCD eram nascidas de mães que adquiriram imunidade contra dengue na epidemia anterior (Halstead, S. B. 2007, Kurane, I. 2007).

Estudos sugerem que FHD ocorre quase que exclusivamente em dois cenários: (1) crianças e adultos com infecção secundária por DENV sorotipo heterólogo, e (2) crianças com infecção primária por dengue cujas mães possuam alguma imunidade contra o vírus dengue (Halstead, S. B. 2007, Jain, A. & U. C. Chaturvedi 2010). Sugere-se que os anticorpos antidengue maternos desempenham um papel duplo, em primeiro lugar protegem e, posteriormente, aumentam o risco de desenvolvimento de FHD/SCD em recém-nascidos (Kliks, S. C. et al. 1988, Jain, A. & U. C. Chaturvedi 2010).

Existe, portanto, um risco potencial de aumento dos casos graves em menores de um ano e crianças, devido à transferência transplacentária de anticorpos antidengue (Watanaveeradej, V. et al. 2003, Perret, C. et al. 2004). Enquanto os títulos dos anticorpos maternos permanecem altos, normalmente durante os seis primeiros meses de idade, a criança está protegida e a partir da queda desses títulos aumenta-se o risco. Do ponto de vista da teoria da imunoamplificação (ADE), crianças no primeiro ano de vida apresentam alto risco de desenvolver FHD na presença de anticorpos maternos antidengue (Halstead, S. B. et al. 1970, Guzman, M. G. et al. 2000, Alvarez, M. et al. 2006).

Em nossa atualização da literatura, dos quatro estudos de coorte incluídos, todos foram conduzidos no Sudeste Asiático: dois estudos realizados na Tailândia (Watanaveeradej, 2003, Pengsaa 2006) um estudo no Vietnam (Simmons, 2007) e um estudo na Malásia (Tan, 2008). Os estudos conduzidos na Tailândia descreveram

prevalências acima de 90% dentre os participantes do estudo que foram 250 e 219 pares de gestantes e neonatos no primeiro e no segundo estudo respectivamente. Essas pesquisas ainda descrevem o decréscimo dos anticorpos antidengue maternos notadamente a partir do nono mês de vida da criança, com desaparecimento total aos 12 meses de idade. As gestantes apresentaram imunidade contra pelo menos um dos quatro tipos de DENV o que é compatível com a alta circulação dos quatro sorotipos virais nessa região. O estudo de coorte realizado no Vietnã com 55 recém-nascidos evidencia também a prevalência dos anticorpos antidengue ao nascimento seguindo o mesmo padrão de declínio dos anticorpos no primeiro ano de vida dos estudos anteriormente descritos. No estudo conduzido na Malásia, em população de 2531 pares de gestantes e neonatos, foi detectada incidência de infecção de dengue de 2,5% (IC95% 1,9%-3,2%) entre as gestantes caracterizando infecção recente e de 1,6% (IC95% 0,0%-9,5%) entre os neonatos caracterizando transmissão vertical do dengue, havendo sobreposição dos intervalos de confiança, o que indica similaridades entre as incidências em gestantes e neonatos. Das 63 gestantes com infecção recente, 56 não relataram sintomas de dengue, evidenciando o percentual de 88,9% de infecções subclínicas.

## 2. JUSTIFICATIVA

---

Importantes diferenças na epidemiologia da dengue vêm sendo registradas entre continentes e intrapaíses. Em países do Sudeste Asiático a dengue configura-se como uma das principais causas de internação em criança com co-circulação dos quatro sorotipos virais (DENV-1 a DENV-4) de forma continuada por mais de cinco décadas (Halstead, S. B. 2006). No Brasil a circulação dos sorotipos virais do dengue é considerada mais recente e o sistema de vigilância epidemiológica aponta a população adulta como a de maior risco de aquisição da infecção/doença por DENV, com tendência crescente da incidência de casos em crianças e adolescentes e aumento de casos de Febre Hemorrágica da Dengue (FHD) (Siqueira, J. B., Jr. et al. 2005, Féres, V. C. et al. 2006, Barreto, M. L. & M. G. Teixeira 2008, Guilarde, A. O. et al. 2008).

Estudos que relatam infecção por DENV em crianças descrevem um risco potencial de aumento de casos graves em menores de um ano de idade a partir do declínio dos anticorpos antidengue maternos transferidos durante a gestação (Watanaveeradej, V. et al. 2003, Perret, C. et al. 2004, Simmons, C. P. et al. 2007). Segundo Halstead (1988) estes anticorpos promoveriam uma imunoamplificação da infecção por DENV possibilitando o desenvolvimento de FHD em primo-infecção. A maioria dos estudos prospectivos em coortes de neonatos foi conduzida prioritariamente em países do Sudeste Asiático (Pengsaa, K. et al. 2006, Chau, T. N. et al. 2009, Libraty, D. H. et al. 2009). No contexto brasileiro essa questão ainda é pouco explorada.

O Ministério da Saúde classifica gestantes e crianças com suspeita de dengue como grupo de risco para desenvolvimento de formas graves. Portanto, o conhecimento da incidência de dengue na infância, a prevalência de anticorpos maternos e a cinética de anticorpos antidengue nas crianças são fundamentais para o entendimento da imunopatogênese da dengue nessa população e para o estabelecimento da idade ideal em futuros esquemas vacinais.

### **3. OBJETIVOS**

---

1. Determinar as prevalências e incidências de infecção pelos vírus dengue em parturientes e neonatos atendidos na Maternidade do Hospital das Clínicas e na Maternidade Nossa Senhora de Lourdes em Goiânia-GO.
2. Determinar o percentual de transferência de anticorpos antidengue IgG materno-fetais (co-positividade de anticorpos antidengue IgG).
3. Detectar e identificar o sorotipo viral de dengue em amostras de parturientes e neonatos com infecção aguda.
4. Avaliar a associação entre soropositividade à infecção recente e as características relacionadas à gestação/parto e ao neonato.

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

---

### **4.1. Delineamento do estudo**

Um estudo transversal foi realizado para determinar a frequência de marcadores de infecção recente (IgM) e tardia (IgG) pelos vírus dengue em parturientes e neonatos em dois hospitais públicos localizados no município de Goiânia, o Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás e a Maternidade Estadual Nossa Senhora de Lourdes, no período de dezembro de 2009 a maio de 2010.

### **4.2. Local de estudo**

Goiânia, capital do estado de Goiás, localiza-se na região Centro-Oeste com aproximadamente 1,3 milhões de habitantes (IBGE 2010) registrou os primeiros casos de dengue em 1994 (Maciel, I. J. 1999). A partir do ano 2000 os dados epidemiológicos evidenciaram alta circulação viral com co-circulação de DENV-1 (sorotipo predominante) e DENV-2. Após 2002 três sorotipos virais circularam na região (DENV-1, 2 e 3) (Féres, V. C. R. 2004, Maciel, I. J. et al. 2008) com aparecimento de maior incidência de casos graves. Inquérito soropidemiológico realizado no município em 2002 apontou uma prevalência de ~ 40% para exposição prévia ao DENV. De 2003 a 2008 o sorotipo viral predominante foi DENV-3 com aumento gradual dos isolados por DENV-1 com a substituição do DENV-3 pelo DENV-1 em 2009/2010, conforme registrado no sistema de vigilância epidemiológica estadual (Secretaria de Estado da Saúde de Goiás 2010). Em 2010 seguindo o padrão brasileiro, Goiânia e o estado de Goiás registraram a maior epidemia de dengue vivenciada nestas localidades com mais de 20 mil e 80 mil casos notificados respectivamente até a semana epidemiológica 26 caracterizando acréscimo de 253% de casos no estado em relação ao mesmo período no ano de 2009 (Ministério da Saúde 2010b, Secretaria de Estado da Saúde de Goiás 2010).

### **4.3. Critério de Inclusão e exclusão**

Foram incluídas gestantes que procuraram os hospitais selecionados por motivo de parto, independente do risco gestacional e de antecedentes de doenças infecciosas ou crônicas durante a gestação, residentes na área do município de Goiânia e entorno da capital. Foram também incluídos de forma emparelhada, seus conceptos vivos.

Foram excluídas gestantes que residem em outros estados e aquelas com idade inferior a dezoito anos quando não havia um responsável para assinar o termo de consentimento livre e esclarecido. Foram também excluídas as gestantes e seus respectivos conceptos quando não foi possível obter amostras pareadas de soro para realização dos exames.

### **4.4. Recrutamento e trabalho de campo**

Inicialmente, todas as parturientes foram registradas em formulário de triagem (Anexo 4). Após exposição do motivo da investigação e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo 2), as mulheres foram entrevistadas e tiveram amostra de sangue total (5mL) coletada até 48 horas após o parto. As amostras de sangue de cordão umbilical são coletadas rotineiramente no momento do parto pela equipe de enfermagem de cada maternidade e quando autorizado pela mãe ou responsável, uma amostra foi cedida ao projeto. As amostras de sangue foram transportadas, de acordo com as normas de biossegurança, ao Laboratório de Biologia Molecular e Imunologia das Doenças Infecciosas do IPTSP/UFG para processamento, estocagem e posterior realização dos testes laboratoriais (Figura 1). As amostras foram centrifugadas, aliquotadas e acondicionadas a -20°C para realização de sorologia e a -70°C para realização de RT-PCR, para conservação das mesmas.

Os testes sorológicos foram realizados no Laboratório de Biologia Molecular e Imunologia de Doenças Infecciosas do IPTSP/UFG e os testes moleculares foram realizados no Laboratório de Saúde Pública Drº Giovanni Cysneiros - LACEN-GO. Os laboratórios possuem programas de controle de qualidade estabelecidos e experiência prévia em projetos de pesquisa em dengue.

#### **4.5. Medidas de Exposição**

Uma entrevista foi realizada e o questionário (Anexo 3) foi aplicado às parturientes em até 48 horas após o parto por profissional de saúde treinado e obtidos os seguintes dados: nome, idade, local de moradia atual, procedência, infecção prévia de dengue, história de dengue em familiares, situação vacinal contra febre amarela. As características gestacionais e do parto foram extraídas dos registros médicos.

Para os neonatos, foram registrados os dados referentes às condições de nascimento, extraídos dos registros médicos e da Declaração de Nascido Vivo (Anexo 5), preenchido em cada maternidade.

#### **4.6. Testes Laboratoriais**

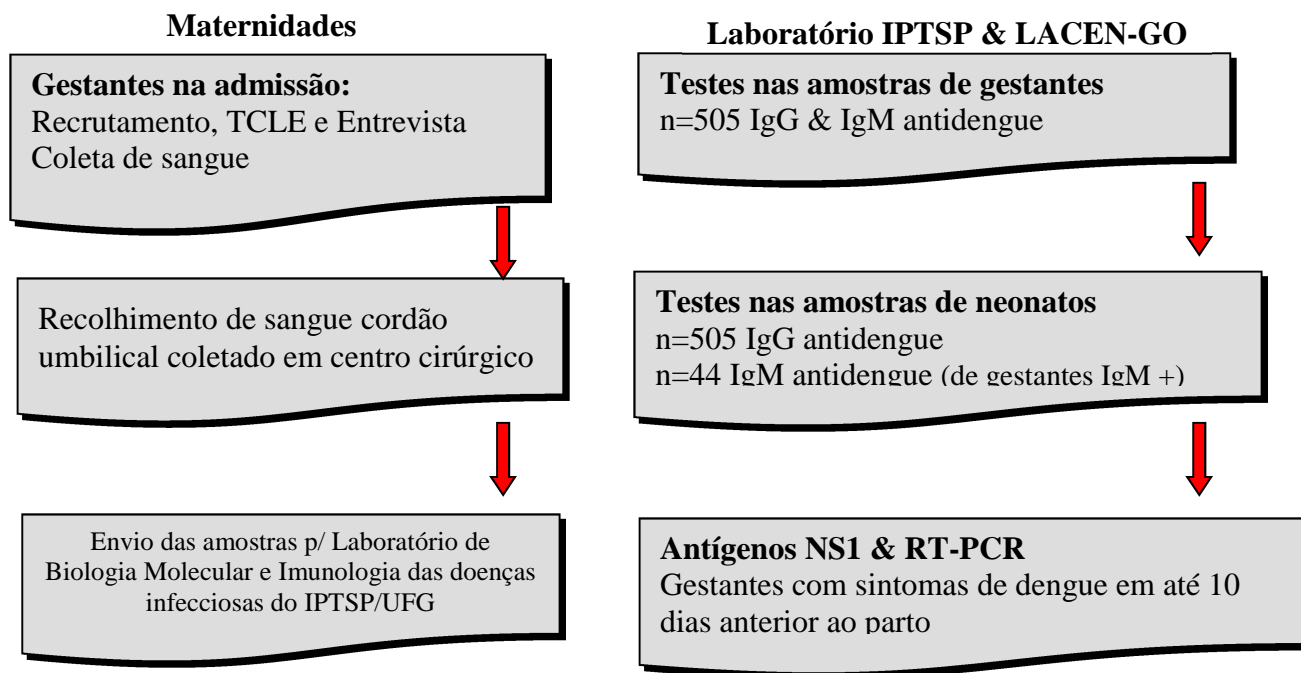
O rastreamento para marcadores de infecção pelos vírus dengue foi realizado pelo método imunoenzimático (ELISA) para anticorpos antidengue utilizando-se kits ELISA IgM e ELISA IgG (PANBIO). O kit Early NS1 (PANBIO) foi utilizado para pesquisa de antígeno viral NS1.

Todas as amostras de parturientes e neonatos foram testadas para detecção de anticorpos antidengue IgG para determinação da infecção prévia.

As amostras das parturientes foram testadas para determinação de infecção aguda por detecção de anticorpos antidengue IgM e, para aquelas que apresentaram positividade no teste, foram também testadas as amostras de seus conceitos para verificação de transmissão vertical do DENV.

Para distinguir infecção primária e secundária dentre as parturientes com infecção recente, calculamos a razão entre a densidade óptica dos resultados obtidos dos testes sorológicos (IgM/IgG), cujos valores maiores ou iguais a 1,2 correspondem a infecção primária e valores abaixo deste sugere infecção secundária (Shu, P. Y. et al. 2003).

Mulheres com história de febre e dois sintomas específicos de dengue como cefaléia, mialgia, artralgia, dor retro-orbitária e exantema, em período de até 10 dias anterior ao parto, tiveram suas amostras testadas para detecção de antígeno viral NS1 e detecção/sorotipagem do ácido nucléico viral por RT-PCR no intuito de constatar infecção recente. Em caso de positividade também foram testadas as amostras de seus conceitos para os mesmos testes supracitados (Figura 1).



**Figura 1. Fluxograma do Trabalho de campo e testes laboratoriais**

#### **4.6.1. Princípio do teste Dengue IgG Indireto – ELISA**

Os anticorpos antidengue IgG presentes no soro ligaram-se aos antígenos do vírus dengue fixados na placa de poliestireno de 96 cavidades para teste. Incubou-se a placa por 30 minutos à temperatura de 37°C. O soro residual foi removido por lavagem e um conjugado anti-IgG humana-peroxidase foi adicionado à placa o qual se ligou aos anticorpos anti-dengue IgG complexados aos antígenos da placa. As cavidades foram lavadas e um substrato incolor tetrametilbenzidina/peróxido de hidrogênio (TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) foi adicionado. Esta enzima cataliza a liberação de O<sub>2</sub> do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que por sua vez promoveu oxidação do substrato TMB que nessas condições sofreu mudança de cor, sendo um produto instável. Após 10 minutos de incubação à temperatura ambiente e protegida da incidência de luz, adicionou-se ácido fosfórico 1M que atua no substrato formando um composto estável de coloração amarela. A intensidade da cor do produto de oxidação do cromógeno é proporcional à quantidade de enzima ligada à fase sólida, o que constitui uma medida indireta da quantidade de anticorpos na amostra.

#### **4.6.2. Princípio do teste Dengue IgM Captura – ELISA**

Os anticorpos antidengue da classe IgM, quando presentes, foram capturados por anticorpos anti-IgM humanos fixados na superfície das cavidades de poliestireno para teste. Foi realizada uma diluição contendo um pool de antígenos do DENV-1, 2, 3 e 4 e adicionada volume a volume (V/V) com anticorpo monoclonal conjugado à peroxidase (Mab), formando o complexo antígeno-Mab. Após lavagem para retirada de resíduos de soro, o complexo antígeno-Mab foi adicionado às cavidades da placa. Após incubação, as cavidades foram lavadas e o sistema de coloração por substrato é adicionado (TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). O substrato foi hidrolisado pela enzima e o cromógeno muda para a cor azul que nessas condições sofre mudança de cor, sendo um produto instável. Após 10 minutos de incubação à temperatura ambiente e protegida da incidência de luz, adicionou-se ácido fosfórico 1M que atua no substrato formando um composto estável de coloração amarela. A intensidade de cor é diretamente relacionada à concentração de anticorpos antidengue IgM na amostra testada.

#### **4.6.3. Princípio do teste Dengue NS1ag – ELISA**

Os antígenos séricos do dengue NS1, quando presentes, ligam-se aos anticorpos anti-NS1 presentes na superfície de poliestireno das cavidades da microplaca. O soro residual foi removido das cavidades por lavagem. O conjugado HRP-anti-NS1Mab foi adicionado a microplaca. Após incubação as cavidades foram lavadas e um substrato incolor tetrametilbenzidina/peróxido de hidrogênio (TMB/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) foi adicionado. A enzima cataliza a liberação de O<sub>2</sub> do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> que por sua vez promoveu oxidação do substrato TMB que nessas condições sofre mudança de cor, sendo um produto instável. Após 10 minutos adicionou-se ácido fosfórico 1M que atua no substrato formando um composto estável de coloração amarela. A intensidade da cor do produto de oxidação do cromógeno é proporcional à quantidade de enzima ligada à fase sólida. O desenvolvimento de cor indica a presença do antígeno NS1 do DENV na amostra testada.

#### **4.6.4. Pontos de corte para os testes sorológicos**

Para todos os testes sorológicos realizados (IgM, IgG e NS1ag) os resultados positivos, negativos e indeterminados foram obtidos por cálculo do ponto de corte. O ponto de corte foi calculado utilizando-se calibradores que acompanham os kits e testados em triplicata. Após leitura das densidades óticas (DO), obtém-se a média dos calibradores e multiplica-se por um fator de calibração determinado pelo fabricante (PANBIO).

Valores situados acima do ponto de corte são positivos e valores situados abaixo do ponto de corte são negativos. As amostras com resultado indeterminado são aquelas cujos valores de densidade óptica estão incluídos na zona cinza (*borderline*), que compreende a faixa de valores de DO incluídas no intervalo de 10% abaixo ou acima do valor do ponto de corte.

Nestes ensaios foram utilizados controles positivos e negativos que validam a reação ao reproduzirem valores dentro da faixa esperada e determinada pelo fabricante.

Resultados positivos para anticorpos antidengue IgG em parturientes e neonatos foram considerados como infecção prévia por DENV. Resultados positivos para anticorpos antidengue IgM, antígeno NS1 e/ou detecção de ácido nucléico viral por RT-PCR nesta população foram considerados como infecção recente por DENV.

#### **4.6.5. Transcriptase reversa seguida da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR)**

- *Extração do RNA viral:* o RNA viral foi extraído a partir de 200 µL amostras de soro adicionada ao tampão de lise, utilizando o sistema de colunas de extração PureLink™ RNA Mini Kit (Invitrogen, US), de acordo com o protocolo descrito pelo fabricante. O RNA viral foi eluído em 40µL de tampão de eluição e imediatamente utilizado nas etapas seguintes da PCR.

- *Obtenção de cDNA e PCR:* A obtenção do cDNA e 1ª amplificação foi realizada em etapa única de reação utilizando-se primers senso e anti-senso consensuais para as regiões C e prM do genoma viral em um volume final de 50 µL utilizando-se 5 µL do RNA extraído. O produto obtido foi diluído a 1:100 em água Milli-Q estéril e então submetido à segunda etapa de amplificação (*Semi-nested PCR*) para tipagem dos vírus dengue, segundo protocolo descrito por Lanciotti et al. (1992).

- *Eletroforese em gel de agarose*: Após amplificação, 15  $\mu\text{L}$  do produto da semi-nested PCR e um padrão de peso molecular 100 pb DNA Ladder (Life Technologies) foram misturados a 1  $\mu\text{L}$  do tampão corante da amostra, aplicados em gel de agarose (Invitrogen Corporation, Auckland New Zealand) a 1,5% contendo 0,5  $\mu\text{g/mL}$  de brometo de etídeo e, então, submetidos a uma eletroforese a 100 V durante 30 a 40 minutos em TBE 1X. O gel de eletroforese foi examinado em transluminador com luz ultravioleta para observação dos amplicons com tamanhos específicos (em pb) o sorotipo do vírus detectado.

Os testes RT-PCR e NS1ag foram realizados em todas as amostras de parturientes que apresentaram febre e dois sintomas específicos de dengue em até 10 dias anterior ao parto e para aquelas que apresentaram positividade foram também testadas as amostras de seus conceptos para verificação de infecção aguda e transmissão vertical do DENV.

#### **4.7. Tamanho da amostra**

Utilizando fórmula para cálculo de tamanho de amostra para estimativa de proporções, cerca de 500 gestantes foram suficientes para estimativas de soroprevalência de ~25% com precisão de 1%.

#### **4.8. Análise de dados**

Foi realizada análise descritiva das características das parturientes e neonatos com cálculo de estimativas de prevalência de infecção prévia e incidência por DENV com seus respectivos intervalos de 95% de confiança (IC95%). O índice Kappa de concordância entre os pares de resultados positivos e negativos (parturientes e neonatos) foi calculado. Foram calculados os Valores Preditivos Positivos (VPP) e Valores Preditivos Negativos (VPN) para o relato de episódio de dengue clínico comparado com os resultados positivos e negativos do teste sorológico para anticorpos antidengue do tipo IgG, respectivamente. Resultados indeterminados foram considerados negativos para finalidade de análise. Foi realizada análise tipo caso controle para avaliar as características relacionadas à gestação (duração da gestação, número de consultas pré-natal e tipo de parto) assim como as características relacionadas aos neonatos (peso ao nascer, apgar do primeiro e quinto minuto) dentre as parturientes soropositivas ao IgM (casos) versus controles

(soronegativas). A comparação entre as variáveis categóricas foi realizada pelo teste de qui-quadrado e valores de  $p$  menores que 0,05 foram considerados estatisticamente significantes. Foi realizada análise exploratória de dados com gráfico de caixas e diagrama de ramos e folhas para avaliação da distribuição das variáveis contínuas. Foram utilizados o teste  $t$  para comparação entre médias e testes de Kruskal-Wallis para comparação entre medianas. A análise foi realizada usando os programas SPSS 17.0 e EpiInfo (CDC versão 6.04d e 3.5.1).

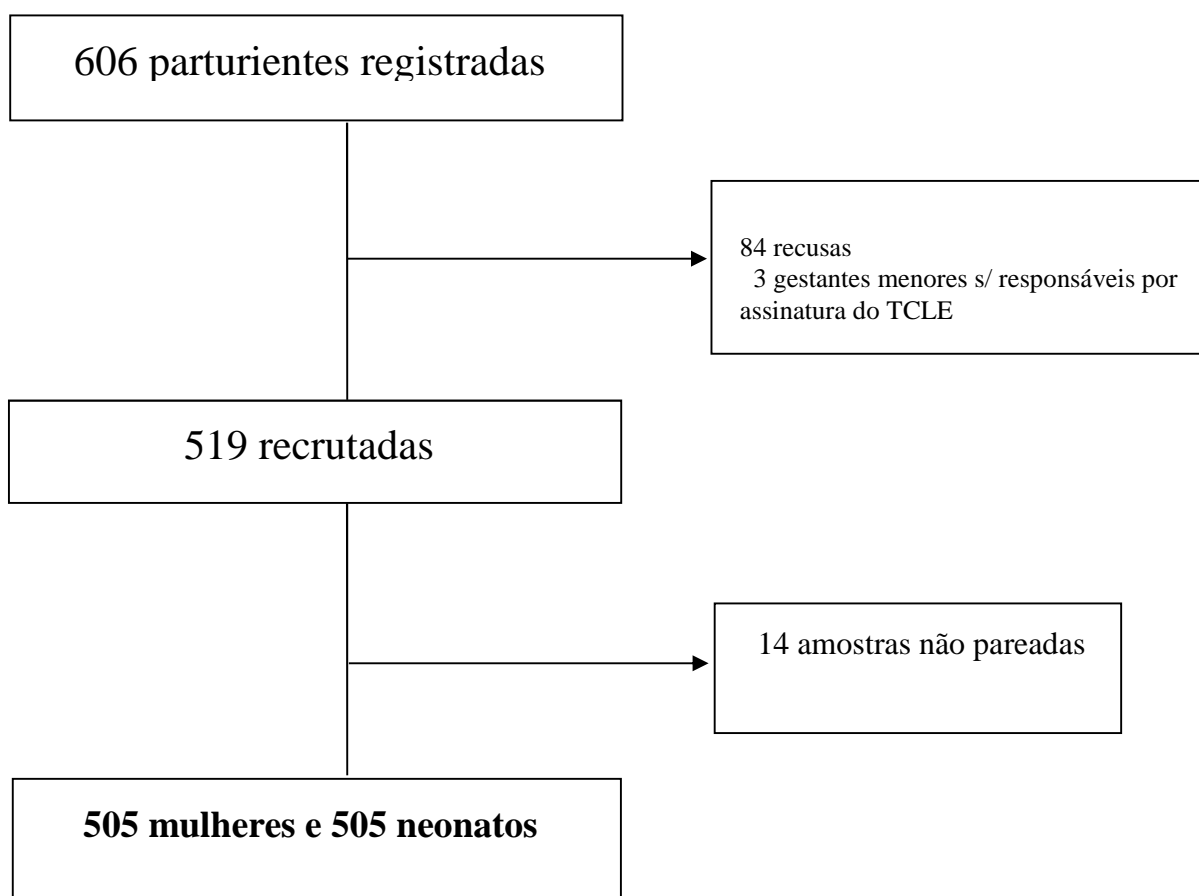
#### **4.9. Considerações Éticas**

O projeto foi aprovado pelo Conselho de Ética em Pesquisa Médica Humana e Animal do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás sob o número: 078/2009 (Anexo 1). Todas as parturientes foram convidadas para participar do projeto e incluídas após assinatura de termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Gestantes menores de 18 anos foram incluídas sob autorização e assinatura de um responsável.

## 5. RESULTADOS

---

A Figura 2 apresenta a triagem de 606 gestantes no período de dezembro de 2009 a maio de 2010 em duas maternidades públicas, sendo que 87 (14,3%) foram excluídas ocorrendo 13,9% de recusas e 0,5% representada por gestantes menores sem responsáveis para assinatura de consentimento informado. Do total de 519 parturientes recrutadas, 505 (97,3%) foram analisadas por apresentarem amostras de soro pareadas entre parturientes e neonatos.



**Figura 2. Triagem das parturientes e neonatos investigados para infecção pelos vírus dengue no município de Goiânia-GO 2009-2010**

Das 505 participantes, aproximadamente metade foi atendida e recrutada na Maternidade do Hospital das Clínicas - HC (53,5%) e metade na Maternidade Estadual Nossa Senhora de Lourdes - MNSL (46,5%). A maioria das parturientes eram procedentes da cidade de Goiânia e municípios vizinhos. A faixa etária predominante foi a de 16 a 29 anos englobando 72,1% das participantes. A média de idade das parturientes foi similar entre os dois locais de recrutamento, sendo de 26,6 (dp=6,9) com variação de 12 a 46 anos no HC e na MNSL a média de idade foi de 24,9 (dp=5,8), mínima de 13 e máxima de 43 anos. Cerca de 40% das mulheres referiram união estável e 61,1% sem renda própria. As características gerais das parturientes foram descritas na Tabela 1.

**Tabela 1. Características das parturientes recrutadas nas maternidades de Goiânia, Goiás, 2009 e 2010**

<b>Variáveis</b>	<b>N (%)</b>
<b>Faixa etária (anos)</b>	
< =15	11 ( 2,2)
16 – 29	364 (72,1)
>=30-39	114 (22,6)
> 40	16 ( 3,1)
<b>Locais de Recrutamento</b>	
Maternidade Hospital das Clínicas	270 (53,5)
Maternidade Nossa Senhora de Lourdes	235 (46,5)
<b>Raça</b>	
Branca	122 (24,4)
Preta	69 (13,8)
Parda	302 (60,3)
Indígena	6 ( 1,2)
Ignorado	2 ( 0,4)
<b>Estado Civil</b>	
Solteira	99 (19,8)
Casada	169 (33,8)
União Estável	220 (44,1)
Separada	3 ( 0,6)
Divorciada	6 ( 1,2)
Viúva	0 ( 0,0)
Ignorado	2 ( 0,4)

**Tabela 1 (Continuação). Características das parturientes recrutadas nas maternidades de Goiânia, Goiás, 2009 e 2010**

<b>Variáveis</b>	<b>N (%)</b>
<b>Escolaridade</b>	
Analfabeta	4 ( 0,8)
1ª a 4ª série incompleta do ensino fundamental	12 ( 2,4)
4ª série completa do ensino fundamental	14 ( 2,8)
5ª a 8ª série incompleta do ensino fundamental	117 (23,2)
Ensino fundamental completo	50 ( 9,9)
Ensino médio incompleto	118 (23,4)
Ensino médio completo	168 (33,3)
Ensino superior incompleto	14 ( 2,8)
Ensino superior completo	7 ( 1,4)
<b>Renda em salário mínimo</b>	
Sem renda	311 (61,6)
Com renda	194 (38,4)
< 1	75 (38,7)
1 a 2	106 (54,6)
> 2 a 3	8 ( 4,1)
> 3	5 ( 2,6)
<b>Procedência</b>	
Outras cidades	34 ( 7,0)
Região Metropolitana de Goiânia <sup>a</sup>	469 (93,0)
Goiânia	394 (78,0)
Aparecida de Goiânia	43 ( 8,5)

<sup>a</sup> Região Metropolitana de Goiânia engloba as cidades: Goiânia, Trindade, Goianira, Santo Antônio de Goiás, Nerópolis, Goianópolis, Senador Canedo, Aparecida de Goiânia, Hidrolândia, Aragoiânia e Abadia de Goiás. Fonte: Prefeitura Municipal de Goiânia.

Obs.: A soma dos valores das variáveis estratificadas pode não totalizar 505 participantes devido à falta de informação.

Quanto às características do parto, 487 (97,4%) tiveram tipo de parto único e a termo (98,8%), sendo que mais de 89% fizeram quatro consultas ou mais durante o pré-natal conforme descrito na Tabela 2.

**Tabela 2. Características dos eventos gestacionais entre as parturientes atendidas no município de Goiânia, Goiás, 2009 – 2010**

<b>Variáveis</b>	<b>N (%)</b>
<b>Tipo de gravidez</b>	
Única	487 (97,4)
Dupla	11 ( 2,2)
Tripla ou mais	2 ( 0,4)
<b>Tipo de Parto</b>	
Vaginal	233 (46,7)
Cesário	266 (53,3)
<b>Duração da gestação em semanas</b>	
< 22	1 ( 0,2)
22 a 27	3 ( 0,6)
28 a 31	8 ( 1,6)
32 a 36	64 (12,9)
37 a 41	414 (83,6)
Ignorado	5 ( 1,0)
<b>Número de Consultas pré-natal</b>	
Nenhuma	2 ( 0,4)
1 a 3	23 ( 4,6)
4 a 6	155 (31,1)
7 e mais	292 (58,5)
Ignorado	27 ( 5,4)

Obs.: Para as análises de dados foi considerado para cada parturiente apenas um neonato;  
A soma dos valores das variáveis estratificadas pode não totalizar 505 participantes devido à falta de informação.

Entre as 505 parturientes rastreadas a prevalência de infecção prévia pelos vírus dengue (IgG) foi de 53,9% (IC95% 49,4%-58,3%), 1,8% dos resultados foram considerados indeterminados. O percentual de parturientes com sintomatologia compatível com a definição de caso suspeito de dengue nos 10 dias que antecederam o parto foi de 1,4%.

Entre os neonatos, a positividade de anticorpos antidengue IgG materno foi de 55,0% (IC95% 50,6%-59,4%), não havendo diferença estatisticamente significante entre a positividade das parturientes e dos neonatos devido a interposição dos intervalos de confiança.

A co-positividade entre anticorpos antidengue IgG maternos e fetais foi de 99,2% (270/272). A co-negatividade dos resultados foi de 96,5% (225/233), com 8 pares discordantes sendo 6 indeterminados (mãe) e positivos nos neonatos e 2 negativos (mãe) e

positivos nos neonatos (Tabela 3). O índice kappa que avaliou a concordância de resultados sorológicos entre as parturientes e neonatos foi de 0,96 (IC95% 0,88 – 1,04).

**Tabela 3. Co-positividade<sup>a</sup> e co-negatividade<sup>b</sup> de anticorpos antidengue IgG entre parturientes e neonatos**

		IgG parturientes		Total
		Positivo	Negativo/ Indeterminado	
IgG neonatos	Positivo	270	8	278
	Negativo/ Indeterminado	2	225	227
Total		272	233	505

<sup>a</sup>Co-positividade= resultados concordantes na positividade/total de positivos nas gestantes.

<sup>b</sup>Co-negatividade= resultados concordantes na negatividade/total de negativo nas gestantes.

O Valor Preditivo Positivo (VPP) da história prévia de dengue foi de 88,0% (IC95% 79,6%-93,4%), isto é, das 100 mulheres que referiram ter apresentado um ou mais episódios de dengue 88 foram positivas para anticorpos antidengue IgG. O Valor Preditivo Negativo (VPN) foi de 54,6% (IC95% 49,6%-59,5%) conforme descrito na Tabela 4.

Antecedente de vacinação contra febre amarela foi relatada por 82,7% das mulheres que possuíam anticorpos antidengue IgG e em 86,8% das mulheres que não possuíam esses anticorpos.

**Tabela 4. Valor Preditivo Positivo e Negativo da história prévia de dengue e resultado de sorologia para anticorpos antidengue IgG nas parturientes**

História prévia de dengue	IgG (+) n (%)	IgG Neg./Ind. n (%)	Total
Sim	88 (88,0)	12 (12,0)	100
Não	184 (45,4)	221 (54,6)	405
Total	272 (100,0)	233 (100,0)	505

A pesquisa de anticorpos IgM foi realizada nas 505 amostras das parturientes. A incidência de infecção de dengue foi de 8,7% (IC95% 6,5%-11,6%) caracterizada pela presença de anticorpos antidengue IgM em 44 amostras. A correlação dos resultados de IgM e IgG nas parturientes mostrou que oito destas tiveram como único marcador

sorológico os anticorpos IgM, sendo portanto, consideradas como infecção primária. (Tabela 5).

Das 44 parturientes IgM positivas, 12 (27,3%) apresentaram infecção primária considerando a razão das densidades ópticas dos marcadores sorológicos IgM:IgG (conforme descrito na metodologia). Somadas às oito mulheres que apresentaram Acs IgM como único marcador de infecção: 20/44 (45,5%) das parturientes com infecção recente tiveram primo-infecção por dengue durante a gravidez.

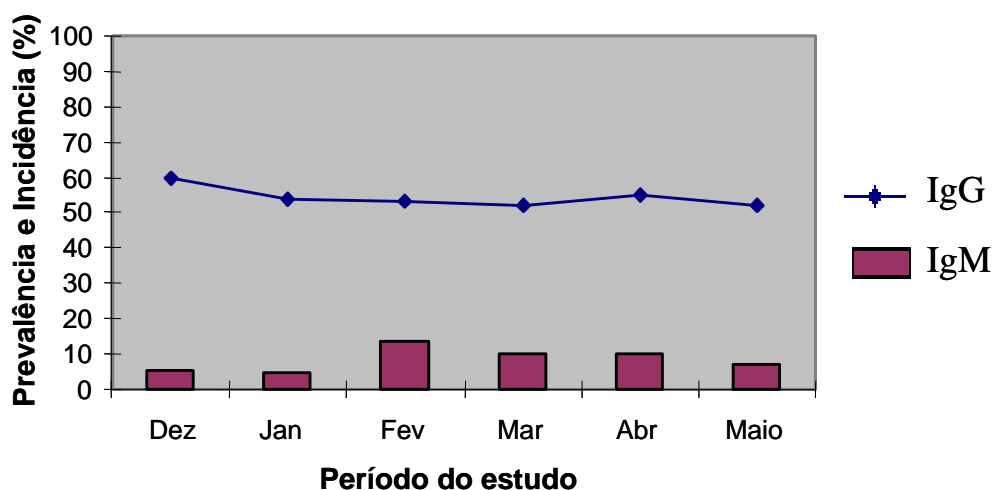
Das 505 parturientes, sete relataram sintomas de dengue (febre mais dois dos seguintes sintomas: cefaléia, mialgia, artralgia, exantema e/ou dor retro-orbitária) em pelo menos 10 dias anterior ao parto, sendo testadas para detecção de ácido nucléico viral por RT-PCR e antígeno viral por ELISA para NS1ag. Uma amostra foi positiva ao RT-PCR sendo identificado o sorotipo DENV-2. Nenhuma das sete parturientes com sintomatologia de dengue recente apresentou positividade ao antígeno NS1. A incidência de infecção aguda de dengue foi de 8,9% (IC95% 6,6%-11,8%) considerando-se os resultados positivos aos testes sorológicos (anticorpos antidengue IgM e antígeno NS1) e molecular (RT-PCR).

Realizamos teste sorológico para IgM em 53 amostras de neonatos cujas mães apresentaram resultados positivos (n=44) ou indeterminados (n=9) para anticorpos antidengue IgM, e foram detectadas 8 amostras soropositivas, caracterizando a transmissão vertical de DENV. Portanto a incidência de dengue nos neonatos de 1,6% (IC95% 0,7%-3,2%) foi estimada pela soropositividade destas amostras testadas dentre o total de neonatos participantes (N=505).

**Tabela 5. Comparação entre os resultados dos testes sorológicos para anticorpos antidengue IgM e IgG em parturientes**

		IgG			Total
		Positivo	Negativo	Indeterminado	
IgM	Positivo	36	8	0	44
	Negativo	231	212	9	452
	Indeterminado	5	4	0	9
Total		272	224	9	505

A prevalência de anticorpos antidengue IgG nas parturientes manteve-se constante durante os meses do estudo. A frequência de mulheres com infecção recente por DENV, variou entre 2 a 15 casos por mês no período do estudo (Figura 3).



Período do estudo	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Maio	Total
Parturientes recrutadas	39	66	43	143	113	101	505
IgM(+)	2	4	4	15	12	7	44
IgG (+)	24	35	22	76	61	54	272

**Figura 3. Prevalência e Incidência de dengue nas parturientes no período de dezembro de 2009 a maio de 2010**

A tabela 6 mostra as características relacionadas ao neonato e à gestação das parturientes que apresentaram infecção aguda de dengue confirmadas pela presença de anticorpo antidengue IgM na amostra de soro ou presença de vírus por RT-PCR comparadas às gestantes sem infecção recente. Não foram detectadas diferenças estatisticamente significantes entre gestantes com infecção recente pelos vírus dengue e as características gestacionais estudadas (duração da gestação, número de consultas pré-natal e tipo de parto). A mediana dos valores de APGAR no primeiro minuto de vida foi de 8, variando de 1 a 10 (distorção menos 1,94 e achatamento de 5,18), para os conceitos de parturientes soropositivas. No grupo de controles, a mediana dos valores de APGAR de cinco minutos foi de 8, mínimo de 1 e máximo de 10, (distorção menos 1,81 e achatamento de 3,94). Os valores do APGAR relativo a cinco minutos nos grupos de casos e controles

apresentaram também distribuição não normal. A mediana foi de 10 (mínimo 2, máximo de 10, valores extremos maior ou igual a 7) para casos, comparada a mediana de 9 (mínimo 2, máximo de 10, valores extremos maior ou igual a 7), diferença estatisticamente não significativa. Em relação às características do neonato a soropositividade materna ao IgM não esteve associada as variáveis baixo peso ao nascer e a média do Apgar no primeiro e no quinto minuto de vida.

**Tabela 6. Associação entre parturientes com infecção recente e as características relacionadas à gestação/parto e ao neonato**

Variáveis	IgM positivos n (%)	IgM negativos n (%)	p
<b>Duração gestação/semanas<sup>a</sup></b>			
<37 Semanas (pré-termo)	5 (12,2)	71 (15,8)	0,54
37 semanas e mais	36 (87,8)	378 (84,2)	
<b>Consultas pré-natal</b>			
Nenhuma	1 (2,4)	1 (0,2)	0,16 <sup>b</sup>
1 a 3	3 (7,1)	20 (4,7)	
4 a 6	15 (35,7)	138 (32,3)	
7 e mais	23 (54,8)	268 (62,8)	
<b>Tipo de parto</b>			
Vaginal	23 (52,3)	214 (46,5)	0,40
Cesário	21 (47,7)	246 (53,5)	
<b>Peso ao nascer<sup>c</sup></b>			
< 2500gr	6 (13,6)	70 (15,2)	0,78
2500gr ou mais	38 (86,4)	391 (84,8)	
Mediana Apgar 1º minuto (min - max)	8 (1 - 10)	8 (1 - 10)	0,25
Apgar 6 ou menos	6 (13,6)	60 (13)	0,91
Apgar > 6	38 (86,4)	401(87)	
Mediana Apgar 5º minuto (min - max)	10 (2 - 10)	9 (2 - 10)	0,7
Apgar 6 ou menos	1 (2,3)	8 (1,75)	0,90
Apgar > 6	43 (97,7)	450 (98,25)	

<sup>a</sup>Pré termo é definido gestação < 37 semanas

<sup>b</sup>Qui –quadrado com 3gl

<sup>c</sup> Baixo peso ao nascer é definido peso <2500gr

Testes de significância: teste t para médias e qui-quadrado para proporções

\*A soma dos valores das variáveis estratificadas pode não totalizar 505 participantes devido à falta de informação.

## 6. DISCUSSÃO

---

As investigações sobre as particularidades da epidemiologia e a patogênese das infecções pelos vírus dengue durante a gravidez são consideradas fundamentais do ponto de vista individual para o diagnóstico e manejo dos casos clínicos de dengue, do potencial de transmissão vertical e dos possíveis desfechos adversos no concepto. Do ponto de vista de saúde pública, o potencial de gerar epidemias da dengue se reveste de importância para a vigilância de casos graves de dengue no período gestacional e de suas consequências no concepto (World Health Organization 2007).

No presente estudo, conduzido em região urbana do Centro-Oeste do Brasil, endêmica para a circulação do vírus da dengue, 53,9% das 505 parturientes apresentavam pelo menos uma infecção prévia pelos vírus dengue. Esse rastreamento sorológico inicial evidenciou imunidade permanente a pelo menos um dos sorotipos dos vírus dengue circulantes em aproximadamente metade das parturientes, estando a outra metade da população estudada susceptível a primo-infecção viral. Nessa investigação, a incidência de infecção viral nas parturientes foi de 8,9%, mas apenas 25% das mulheres soropositivas (IgM) referiram sintomatologia de dengue recente. A incidência de infecção viral, medida por meio de marcadores sorológicos e moleculares, foi pelo menos oito vezes superior ao percentual de antecedentes de sintomatologia de dengue recente de 1% relatado pelas parturientes. Esses resultados estão em consonância com as publicações científicas sobre a ocorrência de infecção viral assintomática em gestantes (Tan, P. C. et al. 2008) e na população adulta em geral (Siqueira, J. B. et al. 2004, Braga, C. et al. 2009).

No cenário epidemiológico regional, a prevalência de 53,9% de infecção viral prévia detectada em parturientes foi maior que as soroprevalências globais de aproximadamente 40% obtidas nos inquéritos de base populacional realizados na cidade de Goiânia, no início da década (Siqueira-Junior, J. B. et al. 2008). Interessante observar, entre os inquéritos realizados na cidade, que o aumento anual estimado foi de cerca de 7% entre os anos de 2001 e 2002. Esse aumento da prevalência detectado nas parturientes em nosso estudo poderia refletir esse incremento de exposição em população susceptível devido à intensa circulação de diferentes sorotipos virais nesta década, em conformidade com os dados de notificações regionais (Ministério da Saúde 2010b). Sob o pressuposto de

exposição similar aos vírus dengue circulantes entre homens e mulheres (World Health Organization 2007), os níveis de infecção prévios nas gestantes devem, portanto, refletir as exposições virais na população adulta jovem em geral para a região. Dessa forma, a prevalência e a incidência de marcadores de infecção viral detectadas nas parturientes parece compatível com o cenário epidemiológico regional caracterizado pela co-circulação de DENV-1, 2 e 3 (Féres, V. C. et al. 2006, Maciel, I. J. et al. 2008, Siqueira-Junior, J. B. et al. 2008, Ministério da Saúde 2010b). Interessante lembrar que a presente investigação foi conduzida na cidade de Goiânia durante o maior surto de dengue registrado em Goiás desde a introdução do DENV-1 em 1994. Mais de 80 mil casos de dengue foram notificados até a semana epidemiológica de número 26 e acréscimo de 253% de casos em relação ao mesmo período no ano de 2009 (Ministério da Saúde 2010b). Esta alta endemicidade regional justifica também o alto valor preditivo positivo da história prévia de um ou mais episódios de dengue. A população de gestantes estudada relatou vacinação contra febre amarela concordante com a alta cobertura vacinal regional, possivelmente sem associação entre antecedentes vacinais (82,7%) e soropositividade aos anticorpos antidengue IgG (53,9%), estes resultados estão em consonância com outros estudos populacionais (Siqueira, J. B. et al. 2004, Braga, C. et al. 2009).

O perfil epidemiológico da dengue em gestantes, e conseqüentemente dos seus conceitos na região Centro-Oeste do Brasil, difere dos países do Sudeste Asiático com prevalências acima de 90% de marcadores de exposição aos vírus dengue nesse grupo populacional (Watanaveeradej, V. et al. 2003, Pengsaa, K. et al. 2006). Essa alta prevalência de infecção viral em países asiáticos é compatível com áreas consideradas hiperendêmicas de dengue, com alta circulação dos quatro sorotipos virais sustentada há mais de cinco décadas (Watanaveeradej, V. et al. 2003). Esses diferentes contingentes de mulheres susceptíveis e imunes aos vírus dengue poderiam explicar em parte as diferenças epidemiológicas e de gravidade dos casos entre os neonatos. Conforme postulado pela teoria ADE de Halstead, quanto maior o número de mulheres imunes, maior também será o risco de crianças desenvolverem FHD em primo infecção devido a imunidade passiva transferida verticalmente durante a gestação, tal como ocorre no Sudeste Asiático.

Em nossa investigação, houve elevada taxa de transferência de anticorpos antidengue IgG materno-fetais com concordância de 99,2% da soropositividade entre parturientes e neonatos. Taxas de transferência de anticorpos antidengue IgG em pares de gestantes e neonatos próximos de 100% também foram descritos em estudos anteriores realizados no Sudeste Asiático (Watanaveeradej, V. et al. 2003, Pengsaa, K. et al. 2006,

Simmons, C. P. et al. 2007). O pequeno percentual de pares discordantes (1,9%) representou resultados indeterminados em parturientes e positivos em neonatos (6 pares) e 2 pares de neonatos positivos com gestantes negativas, que nesse caso poderia refletir resultados falsos positivos em neonatos. Discordância de resultados de sorologia antidengue entre pares de parturientes e conceptos foram descritos por outros autores como Watanaveeradej et al. (2003) e Perret et al. (2005), sugerindo que a existência de maiores títulos de anticorpos nos neonatos do que nas parturientes, caracteriza possivelmente a transferência ativa de anticorpos via placenta.

No total de 505 neonatos estudados, a incidência de infecção de DENV foi de 1,6% (IC95% 0,7%-3,2%) detectada através da presença de anticorpos IgM. Resultado similar de incidência em neonatos foi registrado em estudo conduzido no Sudeste Asiático por Tan et al. (2008). Vale ressaltar que a taxa de transmissão vertical de DENV pode estar subestimada, considerando que foi realizada testagem em série de anticorpos e antígenos virais, isto é, foram testadas apenas as amostras dos neonatos cujas mães apresentavam infecção de dengue recente. Postula-se que os anticorpos antidengue IgM poderiam persistir na criança enquanto nas gestantes poderiam atingir níveis indetectáveis (Tan, P. C. et al. 2008). A revisão sistemática conduzida por Poliout, et al. (2010) sugere que as taxas de transmissão vertical de DENV poderiam ser maiores entre as gestantes infectadas em período próximo ao parto, entre aquelas com infecção sintomática ou doença mais grave e dentre aquelas com infecção secundária.

Os fatores de risco associados à infecção recente, investigados em nossa região, mostraram que as características relacionadas à gestação/parto e as características do neonato foram similares entre o grupo de mulheres com infecção recente (casos) e as soronegativas (controle). De fato, dentre os variáveis relacionadas à gestação e ao parto, tais como, tipo de gravidez, número de consultas pré-natal, duração da gestação e tipo de parto, assim como, as variáveis relacionadas ao neonato como Apgar no 1º e no 5º minuto e peso ao nascer, não demonstraram diferença estatisticamente significativa entre os grupos de mulheres com infecção recente comparada com as sem marcadores de exposição recente. Adicionalmente, quando avaliamos as mesmas variáveis dentre as gestantes do estudo com diagnóstico de infecção recente por DENV (44/505), categorizadas como gestantes com infecção primária (27,3%) e com infecção secundária (72,7%), nenhuma diferença estatisticamente significativa foi observada.

A literatura apresenta resultados contraditórios em relação à existência de fatores de risco associados à gestação, ao parto e ao concepto durante infecção ou doença causada por

DENV. Por exemplo, dois estudos de coorte (Restrepo, B. N. et al. 2003, Tan, P. C. et al. 2008) descrevem diferença significativamente importante na variável baixo peso ao nascer entre os neonatos de gestantes com infecção recente de dengue quando comparada àquelas sem infecção. Em contrapartida outros estudos de relato e séries de casos não mostraram evidências de maior risco de eventos desfavoráveis nesse grupo. Dessa forma, os estudos sobre os fatores de risco materno-fetais durante uma infecção por dengue ainda não apresentaram evidências conclusivas, como apresentado na recente revisão sistemática (Pouliot, S. H. et al. 2010).

Entre os sintomas clínicos em mulheres, na vigência de um episódio de dengue ou FHD/SCD, a metrorragia e o sangramento no período gestacional foram descritos como sinais de alertas de gravidade da doença em diferentes países (Gubler, D. & G. Kuno 1997). Durante o período gestacional a infecção por DENV poderia ocasionar desfechos fatais no parto e nos conceptos em decorrência do agravamento do sangramento ou como complicações no parto e puerpério (Halstead, S. B. 1997). O documento da Organização Mundial de Saúde, que aborda as diferenças de sexo e gênero em doenças com potencial epidêmico, aponta a necessidade de especificar os sintomas de sangramento para mulheres. Essa publicação ainda alerta para o risco potencial de desfechos desfavorável durante a gestação, parto e lactação (World Health Organization 2007).

No contexto epidemiológico da região Centro-Oeste, dentre as mulheres rastreadas, metade apresentou imunidade duradoura sorotipo específica, isto implicaria também, na imunidade de seus respectivos conceptos devido à transferência transplacentária dos anticorpos maternos do tipo IgG. Em contraste com o efeito protetor da transferência desses anticorpos para uma série de doenças virais na infância (World Health Organization 2007), a transferência de anticorpos maternos antidengue tem implicações tanto positivas como negativas para a criança (Jain, A. & U. C. Chaturvedi 2010). À primeira vista, essa transferência passiva de anticorpos IgG traria vantagem aos neonatos que estariam imunizados passivamente, o que seria válido para aproximadamente metade dos conceptos participantes deste estudo que receberam os anticorpos maternos. Na hipótese de circulação de apenas um sorotipo viral durante o período epidêmico, supõe-se que a proteção conferida a essas crianças seria efetiva (World Health Organization 2007). No entanto, o declínio dos anticorpos maternos durante o primeiro ano de vida da criança poderia favorecer a amplificação viral em função de atividade subneutralizante desses anticorpos, resultando em formas mais graves da dengue (FHD/SCD) em caso de infecção por diferente sorotipo viral. Esse fenômeno imunológico denominado de ADE (Halstead,

S. B. 1988) tem sido a teoria mais citada para explicar a gravidade dos eventos relacionados à doença durante primo-infecção no primeiro ano de vida das crianças em países endêmicos de dengue. Estudos de coorte mensuraram o declínio dos anticorpos antidengue IgG maternos nos conceptos a partir do sexto mês de nascimento com desaparecimento destes marcadores no primeiro ano de vida tornando as crianças susceptíveis a novas infecções e facilitando a ocorrência do fenômeno ADE (Watanaveeradej, V. et al. 2003, Pengsaa, K. et al. 2006, Simmons, C. P. et al. 2007). O estudo do descenso de anticorpos maternos e a investigação dos potenciais riscos de infecções por DENV grave no primeiro ano de vida estão fora do escopo desta pesquisa.

No presente estudo foi possível detectar um caso de infecção por DENV-2 em mulheres sintomáticas, sem evidência de complicação no parto e para o neonato. Nossos resultados corroboram com o relato de caso de Maroun et al. (2008) que descreveram transmissão vertical do DENV-2, sem desfechos desfavoráveis à gestante e neonato, durante importante epidemia ocorrida no Rio de Janeiro em 2008. Nesse mesmo ano, vários estados brasileiros registraram epidemia por DENV-2 com grande número de casos graves e óbitos (Ministério da Saúde 2002). Em Goiás a epidemia registrada nesse período cursou com predominância do DENV-3 e circulação com menor expressão dos sorotipos DENV-1 e DENV-2. Do ponto de vista do monitoramento viral de sorotipos circulantes, o DENV-2 tem sido detectado desde 1998, e se mantém em circulação ao longo dos anos na região, entretanto sem apresentar-se como o sorotipo viral predominante (Féres, V. C. et al. 2006, Secretaria de Estado da Saúde de Goiás 2010).

No cenário brasileiro as epidemias ocorridas nos anos de 2001/2002 (DENV-3), 2008 (DENV-2) e 2010 (DENV-1) foram consideradas importantes frente ao maior número e gravidade de casos notificados. Recentemente, o Ministério da Saúde publicou os dados do cenário epidemiológico de 2010 que descreve mais de 900 mil casos de dengue notificados e 592 óbitos confirmados o que caracteriza a pior epidemia já vivenciada no país e com o maior número de óbitos (Ministério da Saúde 2010a). A introdução de genótipos virulentos (dos Santos, C. N. et al. 2002, Miagostovich, M. P. et al. 2002, Féres, V. C. et al. 2006) e a seqüência de infecções primária e secundárias por combinação de sorotipos virais distintos como DENV-1/DENV-2 e DENV-1/DENV-3 (World Health Organization 2006), são fatores que podem refletir no aumento da gravidade dos casos. No Sudeste Asiático a dengue é uma das dez principais causas de internação entre crianças (Halstead, S. B. 2006) e no contexto brasileiro um aumento de casos graves de dengue nesta população tem sido descrito em estudos conduzidos por Siqueira (2005) e Teixeira

(2008) demonstrando uma tendência de mudança de gravidade da dengue no perfil etário da população brasileira.

As mulheres incluídas no estudo eram predominantemente jovens, com baixa renda e escolaridade, atendidas em maternidade públicas. As características epidemiológicas descritas nesse grupo de parturientes foram similares aos relatados para as gestantes recrutadas para triagem de infecções no pré-natal com potencial de transmissão vertical pela rede de atendimento pública de saúde regional (Costa, Z. B. et al. 2009). Mesmo assim os resultados obtidos podem não refletir a prevalência de dengue nas gestantes da área de estudo em geral. No entanto, se as características de baixa renda forem indicativas de maior exposição aos vírus dengue como apontam estudos populacionais regionais (Siqueira, J. B. et al. 2004) e no nordeste do Brasil (Braga, C. et al. 2009), poderíamos supor que o presente resultado refletiria a parcela da população com maior exposição aos vírus dengue da região estudada. Ainda os resultados obtidos em gestantes neste estudo não podem ser extrapolados para o Brasil como um todo. Em recente estudo de base populacional realizado na cidade de Recife, Braga et al. (2009) detectaram diferenças importantes de prevalência na população adulta variando de aproximadamente 70% a 100%, evidenciando diferenças intra-urbanas de exposição e aumento de prevalência associado à baixa renda. As características de endemicidade dependem da intensidade e do período de circulação dos diferentes DENV, o que determina a proporção de susceptíveis e imunes dos diferentes grupos populacionais (Anderson, R. M. & R. M. May 1991). A difusão geográfica dos vírus dengue na região central do Brasil poderia ser considerada uma onda mais tardia de interiorização da dengue, considerando-se as primeiras epidemias do Rio de Janeiro no início da década de 80 (Siqueira, J. B., Jr. et al. 2005, Teixeira, M. G. et al. 2009).

Podemos citar como limitação a não realização de testes de Soroneutralização por Redução de Placa (SNRP) na população estudada, que poderia indicar a seqüência de sorotipos virais nas parturientes infectadas. A técnica de SNRP além de laboriosa ainda apresenta questões de padronização que tornaram inviável a realização em larga escala, como no presente estudo (Finotti, A. 2005). Ainda, foram testadas apenas as amostras de neonatos de gestantes com resultados positivos ou indeterminados para anticorpos antidengue IgM, o que poderia ter subestimado a freqüência de positividade de infecção recente nos neonatos.

Esperamos que o nosso trabalho venha contribuir para o melhor entendimento da infecção pelos vírus dengue em gestantes e neonatos em nossa região. A continuidade do

presente estudo, acompanhando coorte de neonatos servirá para melhor compreender a dinâmica de anticorpos materno-fetais e suas conseqüências na gravidade dos casos no primeiro ano de vida dos neonatos.

Essas informações são valiosas do ponto de vista individual para o monitoramento e o manejo dos neonatos frente a uma infecção de dengue. Do ponto de vista de saúde pública a informação será útil para a vigilância dos casos mais graves nesse grupo etário.

Finalmente as informações de prevalência e incidência de infecção pelos DENV em neonatos e gestantes são fundamentais para determinar a idade ideal de vacinação antidengue nas crianças, quando a vacina antidengue estiver disponível para uso em larga escala.

## **7. CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES**

---

Na região Centro-Oeste do Brasil, aproximadamente metade das parturientes estudadas foram imunes a um dos sorotipos circulantes de DENV, e conseqüentemente metade dos neonatos apresentariam imunidade temporária sorotipo específica. Esses achados apontam para a vantagem potencial de um período de proteção neonatal e como desvantagem a possibilidade de maior gravidade do acometimento de casos de dengue no primeiro ano de vida devido ao fenômeno ADE, em decorrência de redução parcial dos níveis de anticorpos protetores.

A incidência de dengue em parturientes de 8,9% detectada no presente estudo foi compatível com a ocorrência de epidemia durante o período do estudo. Essa alta incidência de infecção aguda serve de alerta para a vigilância de síndromes febris no período gestacional para evitar potenciais desfechos desfavoráveis no parto e nos conceptos.

O estudo caso controle realizado não mostrou risco de desfechos desfavoráveis para os neonatos nascidos de parturientes com infecção recente. As variáveis relacionadas à gestação, ao parto e as características do neonato não estiveram associadas à infecção aguda materna por DENV quando comparadas àquelas parturientes sem infecção recente.

Recomendamos outros estudos de prevalência e incidência de dengue em gestantes e neonatos em diferentes contextos regionais. Adicionalmente, estudos de coorte em pares de gestantes e neonatos são fundamentais para monitorar os casos clínicos de dengue entre os neonatos no primeiro ano de vida e estabelecer a idade ideal de uso das potenciais vacinas antidengue.

## 8. REFERÊNCIAS

---

Alvarez M., Rodriguez-Roche R., Bernardo L., Vazquez S., Morier L., Gonzalez D., Castro O., Kouri G., Halstead S. B., Guzman M. G. 2006. Dengue hemorrhagic Fever caused by sequential dengue 1-3 virus infections over a long time interval: Havana epidemic, 2001-2002. *Am J Trop Med Hyg* 75: 1113-1117.

Anderson C. R., Downs W. G., Hill A. E. 1956. Isolation of dengue virus from a human being in Trinidad. *Science* 124: 224-225.

Anderson R. M., May R. M. 1991. *Infectious diseases of humans : dynamics and control*. ed. Oxford University Press, Oxford, VIII. 757 pp.

Barreto M. L., Teixeira M. G. 2008. Dengue fever: a call for local, national, and international action. *Lancet* 372: 205.

Basurko C., Carles G., Youssef M., Guindi W. E. 2009. Maternal and fetal consequences of dengue fever during pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 147: 29-32.

Braga C., Luna C. F., Martelli C. M., Souza W. V., Cordeiro M. T., Alexander N., Albuquerque M. D., Junior J. C., Marques E. T. 2009. Seroprevalence and risk factors for dengue infection in socio-economically distinct areas of Recife, Brazil. *Acta Trop* 113: 234-240.

Braga I. A., Valle D. 2007. *Aedes aegypti*: History of Control in Brazil. *Epidemiologia e Serviços de Saúde* 16: 113 - 118.

Chaturvedi U. C. 2006. Tumour necrosis factor & dengue. *Indian J Med Res* 123: 11-14.

Chaturvedi U. C., Elbishbishi E. A., Agarwal R., Raghupathy R., Nagar R., Tandon R., Pacsa A. S., Younis O. I., Azizieh F. 1999. Sequential production of cytokines by dengue virus-infected human peripheral blood leukocyte cultures. *J Med Virol* 59: 335-340.

Chau T. N., Hieu N. T., Anders K. L., Wolbers M., Lien le B., Hieu L. T., Hien T. T., Hung N. T., Farrar J., Whitehead S., Simmons C. P. 2009. Dengue virus infections and maternal antibody decay in a prospective birth cohort study of Vietnamese infants. *J Infect Dis* 200: 1893-1900.

Chong K. Y., Lin K. C. 1989. A preliminary report of the fetal effects of dengue infection in pregnancy. *Gaoxiang Yi Xue Ke Xue Za Zhi* 5: 31-34.

Chye J. K., Lim C. T., Ng K. B., Lim J. M., George R., Lam S. K. 1997. Vertical transmission of dengue. *Clin Infect Dis* 25: 1374-1377.

Clyde K., Kyle J. L., Harris E. 2006. Recent advances in deciphering viral and host determinants of dengue virus replication and pathogenesis. *J Virol* 80: 11418-11431.

Coffey L. L., Mertens E., Brehin A. C., Fernandez-Garcia M. D., Amara A., Despres P., Sakuntabhai A. 2009. Human genetic determinants of dengue virus susceptibility. *Microbes Infect* 11: 143-156.

Costa Z. B., Machado G. C., Avelino M. M., Gomes Filho C., Macedo Filho J. V., Minuzzi A. L., Turchi M. D., Stefani M. M., de Souza W. V., Martelli C. M. 2009. Prevalence and risk factors for Hepatitis C and HIV-1 infections among pregnant women in Central Brazil. *BMC Infect Dis* 9: 116.

Cunha R. V., Maspero R. C., Miagostovich M. P., Araújo E. S. M., Luz D. C., Nogueira R. M., Schatzmayr H. G. 1997. Dengue infection in Paracambi, State of Rio de Janeiro, 1990-1995. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 30: 379-383.

de Kruif M. D., Setiati T. E., Mairuhu A. T., Koraka P., Aberson H. A., Spek C. A., Osterhaus A. D., Reitsma P. H., Brandjes D. P., Soemantri A., van Gorp E. C. 2008. Differential gene expression changes in children with severe dengue virus infections. *PLoS Negl Trop Dis* 2: e215.

dos Santos C. N., Rocha C. F., Cordeiro M., Fragoso S. P., Rey F., Deubel V., Despres P. 2002. Genome analysis of dengue type-1 virus isolated between 1990 and 2001 in Brazil reveals a remarkable conservation of the structural proteins but amino acid differences in the non-structural proteins. *Virus Res* 90: 197-205.

Endy T. P., Nisalak A., Chunsuttitwat S., Vaughn D. W., Green S., Ennis F. A., Rothman A. L., Libraty D. H. 2004. Relationship of preexisting dengue virus (DV) neutralizing antibody levels to viremia and severity of disease in a prospective cohort study of DV infection in Thailand. *J Infect Dis* 189: 990-1000.

Féres V. C. R. 2004. *Vigilância laboratorial da infecção pelos vírus dengue em Goiânia, 2002-2003: caracterização molecular de amostras virais positivas*. Dissertação de Mestrado. Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública. Universidade Federal de Goiás Goiânia. 82 pp.

Féres V. C., Martelli C. M. T., Turchi M. D., Junior J. B., Nogueira R. M., Rocha B. A., Silva L. F., Silva M. M. J., Cardoso D. D. P. 2006. Laboratory surveillance of dengue virus in Central Brazil, 1994-2003. *J Clin Virol* 37: 179-183.

Fernandez R., Rodriguez T., Borbonet F., Vazquez S., Guzman M. G., Kouri G. 1994. [Study of the relationship dengue-pregnancy in a group of cuban-mothers]. *Rev Cubana Med Trop* 46: 76-78.

Figueiredo L. T., Carlucci R. H., Duarte G. 1994. [Prospective study with infants whose mothers had dengue during pregnancy]. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 36: 417-421.

Figueiredo L. T. M. 1996. Dengue in Brazil: history, epidemiology and research. . *Virus Rev & Res* 9-16.

Finotti A. 2005. *Sorotipos circulantes dos vírus dengue em inquérito sorológico de base populacional na cidade de Goiânia-Goiás em 2002*. Dissertação de Mestrado. Programa de

Pós-Graduação em Medicina Tropical do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública. Universidade Federal de Goiás: Goiânia. 75 pp.

Gubler D., Kuno G. 1997. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *London, CAB Internacional*

Gubler D. J. 1998. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clin Microbiol Rev* 11: 480-496.

Gubler D. J. 2002. The global emergence/resurgence of arboviral diseases as public health problems. *Arch Med Res* 33: 330-342.

Guilarde A. O., Turchi M. D., Siqueira J. B., Jr., Feres V. C., Rocha B., Levi J. E., Souza V. A., Boas L. S., Pannuti C. S., Martelli C. M. 2008. Dengue and dengue hemorrhagic fever among adults: clinical outcomes related to viremia, serotypes, and antibody response. *J Infect Dis* 197: 817-824.

Guzman M. G., Garcia G., Kouri G. 2006. [Dengue and dengue hemorrhagic fever: research priorities]. *Rev Panam Salud Publica* 19: 204-215.

Guzman M. G., Kouri G., Valdes L., Bravo J., Alvarez M., Vazques S., Delgado I., Halstead S. B. 2000. Epidemiologic studies on Dengue in Santiago de Cuba, 1997. *Am J Epidemiol* 152: 793-799; discussion 804.

Halstead S. B. 1988. Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. *Science* 239: 476-481.

Halstead S. B. 1997. Epidemiology. In Gubler DJ, Kuno G, *Dengue and dengue hemorrhagic fever*. CAB International, London. p. 37-38.

Halstead S. B. 2006. Dengue in the Americas and Southeast Asia: do they differ? *Rev Panam Salud Publica* 20: 407-415.

Halstead S. B. 2007. Dengue. *Lancet* 370: 1644-1652.

Halstead S. B. 2009. Antibodies determine virulence in dengue. *Ann N Y Acad Sci* 1171 *Suppl 1*: E48-56.

Halstead S. B., Udomsakdi S., Simasthien P., Singharaj P., Sukhavachana P., Nisalak A. 1970. Observations related to pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. I. Experience with classification of dengue viruses. *Yale J Biol Med* 42: 261-275.

Harving M. L., Ronsholt F. F. 2007. The economic impact of dengue hemorrhagic fever on family level in Southern Vietnam. *Dan Med Bull* 54: 170-172.

IBGE 2010. Censo demográfico 2010. Resultados do Universo, Goiás - Goiânia. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística.

ICTVdB 2010. *The Universal Virus Database, version 4*.

- Jain A., Chaturvedi U. C. 2010. Dengue in infants: an overview. *FEMS Immunol Med Microbiol* 59: 119-130.
- Kliks S. C., Nimmanitya S., Nisalak A., Burke D. S. 1988. Evidence that maternal dengue antibodies are important in the development of dengue hemorrhagic fever in infants. *Am J Trop Med Hyg* 38: 411-419.
- Knudsen A. B., Slooff R. 1992. Vector-borne disease problems in rapid urbanization: new approaches to vector control. *Bull World Health Organ* 70: 1-6.
- Kouri G. P., Guzman M. G., Bravo J. R., Triana C. 1989. Dengue haemorrhagic fever/dengue shock syndrome: lessons from the Cuban epidemic, 1981. *Bull World Health Organ* 67: 375-380.
- Kuhn R. J., Zhang W., Rossmann M. G., Pletnev S. V., Corver J., Lenches E., Jones C. T., Mukhopadhyay S., Chipman P. R., Strauss E. G., Baker T. S., Strauss J. H. 2002. Structure of dengue virus: implications for flavivirus organization, maturation, and fusion. *Cell* 108: 717-725.
- Kurane I. 2007. Dengue hemorrhagic fever with special emphasis on immunopathogenesis. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 30: 329-340.
- Kurane I., Rothman A. L., Livingston P. G., Green S., Gagnon S. J., Janus J., Innis B. L., Nimmannitya S., Nisalak A., Ennis F. A. 1994. Immunopathologic mechanisms of dengue hemorrhagic fever and dengue shock syndrome. *Arch Virol Suppl* 9: 59-64.
- Kyle J. L., Harris E. 2008. Global spread and persistence of dengue. *Annu Rev Microbiol* 62: 71-92.
- Laoprasopwattana K., Libraty D. H., Endy T. P., Nisalak A., Chunsuttiwat S., Vaughn D. W., Reed G., Ennis F. A., Rothman A. L., Green S. 2005. Dengue Virus (DV) enhancing antibody activity in preillness plasma does not predict subsequent disease severity or viremia in secondary DV infection. *J Infect Dis* 192: 510-519.
- Leitmeyer K. C., Vaughn D. W., Watts D. M., Salas R., Villalobos I., de C., Ramos C., Rico-Hesse R. 1999. Dengue virus structural differences that correlate with pathogenesis. *J Virol* 73: 4738-4747.
- Libraty D. H., Acosta L. P., Tallo V., Segubre-Mercado E., Bautista A., Potts J. A., Jarman R. G., Yoon I. K., Gibbons R. V., Brion J. D., Capeding R. Z. 2009. A prospective nested case-control study of Dengue in infants: rethinking and refining the antibody-dependent enhancement dengue hemorrhagic fever model. *PLoS Med* 6: e1000171.
- Libraty D. H., Endy T. P., Houn H. S., Green S., Kalayanarooj S., Suntayakorn S., Chansiriwongs W., Vaughn D. W., Nisalak A., Ennis F. A., Rothman A. L. 2002. Differing influences of virus burden and immune activation on disease severity in secondary dengue-3 virus infections. *J Infect Dis* 185: 1213-1221.

- Lin C. F., Wan S. W., Cheng H. J., Lei H. Y., Lin Y. S. 2006. Autoimmune pathogenesis in dengue virus infection. *Viral Immunol* 19: 127-132.
- Luhn K., Simmons C. P., Moran E., Dung N. T., Chau T. N., Quyen N. T., Thao le T. T., Van Ngoc T., Dung N. M., Wills B., Farrar J., McMichael A. J., Dong T., Rowland-Jones S. 2007. Increased frequencies of CD4+ CD25(high) regulatory T cells in acute dengue infection. *J Exp Med* 204: 979-985.
- Maciel I. J. 1999. Avaliação epidemiológica do dengue no município de Goiânia no período de 1994 a 1997. Dissertação de Mestrado. Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública. Universidade Federal de Goiás. Goiânia. 120 pp.
- Maciel I. J., Siqueira J. B., Martelli C. M. 2008. Epidemiologia e Desafios no controle do dengue. *Revista de Patologia Tropical* 37: 111-130.
- Mangada M. M., Endy T. P., Nisalak A., Chunsuttiwat S., Vaughn D. W., Libraty D. H., Green S., Ennis F. A., Rothman A. L. 2002. Dengue-specific T cell responses in peripheral blood mononuclear cells obtained prior to secondary dengue virus infections in Thai schoolchildren. *J Infect Dis* 185: 1697-1703.
- Mangada M. M., Rothman A. L. 2005. Altered cytokine responses of dengue-specific CD4+ T cells to heterologous serotypes. *J Immunol* 175: 2676-2683.
- Marchette N. J., Halstead S. B., O'Rourke T., Scott R. M., Bancroft W. H., Vanopruks V. 1979. Effect of immune status on dengue 2 virus replication in cultured leukocytes from infants and children. *Infect Immun* 24: 47-50.
- Maroun S. L., Marliere R. C., Barcellus R. C., Barbosa C. N., Ramos J. R., Moreira M. E. 2008. Case report: vertical dengue infection. *J Pediatr (Rio J)* 84: 556-559.
- Martelli C. M. T., Maciel I. J., J.B.S. J., Oliveira R. M. 2003. Inquérito populacional da infecção pelos vírus dengue no município de Goiânia, 2002 Brasília. . *VII Congresso Brasileiro de Saúde Coletiva*
- McBride W. J., Bielefeldt-Ohmann H. 2000. Dengue viral infections; pathogenesis and epidemiology. *Microbes Infect* 2: 1041-1050.
- Mellor A. L., Munn D. H. 2000. Immunology at the maternal-fetal interface: lessons for T cell tolerance and suppression. *Annu Rev Immunol* 18: 367-391.
- Messer W. B., Gubler D. J., Harris E., Sivananthan K., de Silva A. M. 2003. Emergence and global spread of a dengue serotype 3, subtype III virus. *Emerg Infect Dis* 9: 800-809.
- Miagostovich M. P., dos Santos F. B., de Simone T. S., Costa E. V., Filippis A. M., Schatzmayr H. G., Nogueira R. M. 2002. Genetic characterization of dengue virus type 3 isolates in the State of Rio de Janeiro, 2001. *Braz J Med Biol Res* 35: 869-872.
- Ministério da Saúde 2002. Programa Nacional de Controle da Dengue. 1ed. Brasília. Ministério da Saúde: Fundação Nacional de Saúde 34 pp.

Ministério da Saúde 2007a. Dengue diagnóstico e manejo clínico: adulto e criança. Ministério da Saúde: Secretaria de Vigilância em Saúde, Diretoria Técnica de Gestão. 3. ed. Brasília : Ministério da Saúde 28 pp.

Ministério da Saúde 2008. Informe Epidemiológico da Dengue entre Janeiro a Novembro de 2008. Secretaria de Vigilância à Saúde. Acessado em: 10/08/ 2010.

Disponível em:

[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/boletim\\_dengue\\_janeiro\\_novembro.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/boletim_dengue_janeiro_novembro.pdf)

Ministério da Saúde 2009. Secretaria de Vigilância em Saúde. Informe Epidemiológico da Dengue. Semanas de 1 a 52. Brasília.

Ministério da Saúde 2010a. Saúde divulga novo mapa de infestação pelo mosquito da dengue e lança campanha nacional de combate à doença. Disponível em: [http://portal.saude.gov.br/portal/aplicacoes/noticias/default.cfm?pg=dspDetalheNoticia&id\\_area=1498&CO\\_NOTICIA=11890](http://portal.saude.gov.br/portal/aplicacoes/noticias/default.cfm?pg=dspDetalheNoticia&id_area=1498&CO_NOTICIA=11890). Acessado em: 14 de Dezembro de 2010.

Ministério da Saúde 2010b. Informe Epidemiológico da Dengue Análise de situação e tendências. Secretaria de Vigilância em Saúde. Acessado em 01/09/2010.

Ministério da Saúde 2010c. NOTA TÉCNICA CGPNCD/DEVEP/SVS/MS CGVS/SES RRSVS/SMS-BV- Isolamento do sorotipo DENV 4 em Roraima/Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. Acessado em 16/12/2010.

Mongkolsapaya J., Dejnirattisai W., Xu X. N., Vasanawathana S., Tangthawornchaikul N., Chairunsri A., Sawasdivorn S., Duangchinda T., Dong T., Rowland-Jones S., Yenchitsomanus P. T., McMichael A., Malasit P., Screaton G. 2003. Original antigenic sin and apoptosis in the pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. *Nat Med* 9: 921-927.

Mongkolsapaya J., Duangchinda T., Dejnirattisai W., Vasanawathana S., Avirutnan P., Jairungsri A., Khemnu N., Tangthawornchaikul N., Chotiyarnwong P., Sae-Jang K., Koch M., Jones Y., McMichael A., Xu X., Malasit P., Screaton G. 2006. T cell responses in dengue hemorrhagic fever: are cross-reactive T cells suboptimal? *J Immunol* 176: 3821-3829.

Newell M. L. 2001. Prevention of mother-to-child transmission of HIV: challenges for the current decade. *Bull World Health Organ* 79: 1138-1144.

Nguyen T. H., Lei H. Y., Nguyen T. L., Lin Y. S., Huang K. J., Le B. L., Lin C. F., Yeh T. M., Do Q. H., Vu T. Q., Chen L. C., Huang J. H., Lam T. M., Liu C. C., Halstead S. B. 2004. Dengue hemorrhagic fever in infants: a study of clinical and cytokine profiles. *J Infect Dis* 189: 221-232.

Nogueira R. M., de Araujo J. M., Schatzmayr H. G. 2007. Dengue viruses in Brazil, 1986-2006. *Rev Panam Salud Publica* 22: 358-363.

Nogueira R. M., Zagner S. M., Martins I. S., Lampe E., Miagostovich M. P., Schatzmayr H. G. 1991. Dengue haemorrhagic fever/dengue shock syndrome (DHF/DSS) caused by serotype 2 in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 86: 269.

- Noisakran S., Perng G. C. 2008. Alternate hypothesis on the pathogenesis of dengue hemorrhagic fever (DHF)/dengue shock syndrome (DSS) in dengue virus infection. *Exp Biol Med (Maywood)* 233: 401-408.
- Ooi E. E., Gubler D. J. 2009. Dengue in Southeast Asia: epidemiological characteristics and strategic challenges in disease prevention. *Cad Saude Publica* 25 Suppl 1: S115-124.
- Osanai C. H., Travassos da Rosa A. P., Tang A. T., do Amaral R. S., Passos A. D., Tauil P. L. 1983. Dengue outbreak in Boa Vista, Roraima. Preliminary report. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 25: 53-54.
- Pan American Health Organization 2008. PAHO. Reported cases of Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever in the Americas.
- Pang T., Cardoso M. J., Guzman M. G. 2007. Of cascades and perfect storms: the immunopathogenesis of dengue haemorrhagic fever-dengue shock syndrome (DHF/DSS). *Immunol Cell Biol* 85: 43-45.
- Pengsaa K., Luxemburger C., Sabchareon A., Limkittikul K., Yoksan S., Chambonneau L., Chaovarind U., Sirivichayakul C., Lapphra K., Chanthavanich P., Lang J. 2006. Dengue virus infections in the first 2 years of life and the kinetics of transplacentally transferred dengue neutralizing antibodies in Thai children. *J Infect Dis* 194: 1570-1576.
- Penna M. L. 2003. [A challenge for the public health system in Brazil: dengue control]. *Cad Saude Publica* 19: 305-309.
- Perret C., Chanthavanich P., Pengsaa K., Limkittikul K., Hutajaroen P., Bunn J. E., Brabin B. J. 2004. Dengue infection during pregnancy and transplacental antibody transfer in Thai mothers. *J Infect* 51: 287-293.
- Petdachai W., Sila'on J., Nimmannitya S., Nisalak A. 2004. Neonatal dengue infection: report of dengue fever in a 1-day-old infant. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 35: 403-407.
- Phongsamart W., Yoksan S., Vanaprappa N., Chokeyphaibulkit K. 2008. Dengue virus infection in late pregnancy and transmission to the infants. *Pediatr Infect Dis J* 27: 500-504.
- Pinheiro F. P., Corber S. J. 1997. Global situation of dengue and dengue haemorrhagic fever, and its emergence in the Americas. *World Health Stat Q* 50: 161-169.
- Poli L., Chungue E., Soullignac O., Gestas P., Kuo P., Papouin-Rauzy M. 1991. [Materno-fetal dengue. Apropos of 5 cases observed during the epidemic in Tahiti (1989)]. *Bull Soc Pathol Exot* 84: 513-521.
- Pouliot S. H., Xiong X., Harville E., Paz-Soldan V., Tomashek K. M., Breart G., Buekens P. 2010. Maternal dengue and pregnancy outcomes: a systematic review. *Obstet Gynecol Surv* 65: 107-118.

- Restrepo B. N., Isaza D. M., Salazar C. L., Ramirez J. L., Upegui G. E., Ospina M., Ramirez R. 2003. Prenatal and postnatal effects of dengue infection during pregnancy. *Biomedica* 23: 416-423.
- Rico-Hesse R. 2007. Dengue virus evolution and virulence models. *Clin Infect Dis* 44: 1462-1466.
- Rocha L. A., Tauil P. L. 2009. Dengue em criança: aspectos clínicos e epidemiológicos, Manaus, Estado do Amazonas, no período de 2006 e 2007. *Rev Soc Bras Med Trop* 42: 18-22.
- Rosen L. 1977. The Emperor's New Clothes revisited, or reflections on the pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. *Am J Trop Med Hyg* 26: 337-343.
- Rothman A. L., Ennis F. A. 1999. Immunopathogenesis of Dengue hemorrhagic fever. *Virology* 257: 1-6.
- Russell P. K., Udomsakdi S., Halstead S. B. 1967. Antibody response in dengue and dengue hemorrhagic fever. *Jpn J Med Sci Biol* 20 Suppl: 103-108.
- Scherer W. F., Russell P. K., Rosen L., Casals J., Dickerman R. W. 1978. Experimental infection of chimpanzees with dengue viruses. *Am J Trop Med Hyg* 27: 590-599.
- Secretaria de Estado da Saúde de Goiás 2010. SPAIS - Superintendência de Políticas de Atenção Integral à Saúde.
- Shu P. Y., Chen L. K., Chang S. F., Yueh Y. Y., Chow L., Chien L. J., Chin C., Lin T. H., Huang J. H. 2003. Comparison of capture immunoglobulin M (IgM) and IgG enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and nonstructural protein NS1 serotype-specific IgG ELISA for differentiation of primary and secondary dengue virus infections. *Clin Diagn Lab Immunol* 10: 622-630.
- Sierra B., Alegre R., Perez A. B., Garcia G., Sturn-Ramirez K., Obasanjo O., Aguirre E., Alvarez M., Rodriguez-Roche R., Valdes L., Kanki P., Guzman M. G. 2007. HLA-A, -B, -C, and -DRB1 allele frequencies in Cuban individuals with antecedents of dengue 2 disease: advantages of the Cuban population for HLA studies of dengue virus infection. *Hum Immunol* 68: 531-540.
- Simmons C. P., Chau T. N., Thuy T. T., Tuan N. M., Hoang D. M., Thien N. T., Lien le B., Quy N. T., Hieu N. T., Hien T. T., McElnea C., Young P., Whitehead S., Hung N. T., Farrar J. 2007. Maternal antibody and viral factors in the pathogenesis of dengue virus in infants. *J Infect Dis* 196: 416-424.
- Siqueira-Junior J. B., Maciel I. J., Barcellos C., Souza W. V., Carvalho M. S., Nascimento N. E., Oliveira R. M., Morais-Neto O., Martelli C. M. 2008. Spatial point analysis based on dengue surveys at household level in central Brazil. *BMC Public Health* 8: 361.
- Siqueira J. B., Jr., Martelli C. M., Coelho G. E., Simplicio A. C., Hatch D. L. 2005. Dengue and dengue hemorrhagic fever, Brazil, 1981-2002. *Emerg Infect Dis* 11: 48-53.

Siqueira J. B., Martelli C. M., Maciel I. J., Oliveira R. M., Ribeiro M. G., Amorim F. P., Moreira B. C., Cardoso D. D., Souza W. V., Andrade A. L. 2004. Household survey of dengue infection in central Brazil: spatial point pattern analysis and risk factors assessment. *Am J Trop Med Hyg* 71: 646-651.

Siqueira J. B. 2008. Spatial Point Analysis Based on Dengue Surveys at Household Level in Central Brazil. *BMC Public Health* 8: 361.

Siqueira Júnior J. B. 2001. *Vigilância do dengue: Aplicação de diagramas de Controle e Análise espacial no município de Goiânia-Goiás*. Dissertação de Mestrado. Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública. Universidade Federal de Goiás: Goiânia, Goiás, Brasil. pp.

Sirinavin S., Nuntnarumit P., Supapannachart S., Boonkasidecha S., Techasaensiri C., Yoksarn S. 2004. Vertical dengue infection: case reports and review. *Pediatr Infect Dis J* 23: 1042-1047.

Stephenson J. R. 2005. Understanding dengue pathogenesis: implications for vaccine design. *Bull World Health Organ* 83: 308-314.

Tan G. K., Ng J. K., Trasti S. L., Schul W., Yip G., Alonso S. 2010. A non mouse-adapted dengue virus strain as a new model of severe dengue infection in AG129 mice. *PLoS Negl Trop Dis* 4: e672.

Tan P. C., Rajasingam G., Devi S., Omar S. Z. 2008. Dengue infection in pregnancy: prevalence, vertical transmission, and pregnancy outcome. *Obstet Gynecol* 111: 1111-1117.

Teixeira M. G., Barreto M. L., Guerra Z. 1999. Epidemiologia e Medidas de Prevenção do Dengue. *Informe Epidemiológico do SUS* 8:

Teixeira M. G., Costa M. C., Coelho G., Barreto M. L. 2008. Recent shift in age pattern of dengue hemorrhagic fever, Brazil. *Emerg Infect Dis* 14: 1663.

Teixeira M. G., Costa Mda C., Barreto F., Barreto M. L. 2009. Dengue: twenty-five years since reemergence in Brazil. *Cad Saude Publica* 25 Suppl 1: S7-18.

Torres E. M. 2005. *Dengue*. ed. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro, 344 pp.

Turchi M. D., Duarte Lda S., Martelli C. M. 2007. Mother-to-child transmission of HIV: risk factors and missed opportunities for prevention among pregnant women attending health services in Goiania, Goias State, Brazil. *Cad Saude Publica* 23 Suppl 3: S390-401.

von Boehmer H. 2005. Mechanisms of suppression by suppressor T cells. *Nat Immunol* 6: 338-344.

Wang W. K., Chen H. L., Yang C. F., Hsieh S. C., Juan C. C., Chang S. M., Yu C. C., Lin L. H., Huang J. H., King C. C. 2006. Slower rates of clearance of viral load and virus-containing immune complexes in patients with dengue hemorrhagic fever. *Clin Infect Dis* 43: 1023-1030.

Watanaveeradej V., Endy T. P., Samakoses R., Kerdpanich A., Simasathien S., Polprasert N., Aree C., Vaughn D. W., Ho C., Nisalak A. 2003. Transplacentally transferred maternal-infant antibodies to dengue virus. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene*

Wichmann O., Gascon J., Schunk M., Puente S., Siikamaki H., Gjorup I., Lopez-Velez R., Clerinx J., Peyerl-Hoffmann G., Sundoy A., Genton B., Kern P., Calleri G., de Gorgolas M., Muhlberger N., Jelinek T. 2007. Severe dengue virus infection in travelers: risk factors and laboratory indicators. *J Infect Dis* 195: 1089-1096.

Witayathawornwong P. 2003. Parturient and perinatal dengue hemorrhagic fever. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 34: 797-799.

World Health Organization 1997. Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control 2nd ed. Geneva.

World Health Organization 2006. TDR.Report on Dengue.Geneva. 1-168.

World Health Organization 2007. Addressing sex and gender in epidemic-prone infectious diseases.

World Health Organization 2009. Dengue: Guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control.

Yauch L. E., Prestwood T. R., May M. M., Morar M. M., Zellweger R. M., Peters B., Sette A., Shresta S. CD4+ T cells are not required for the induction of dengue virus-specific CD8+ T cell or antibody responses but contribute to protection after vaccination. *J Immunol* 185: 5405-5416.

Young P. R., Hilditch P. A., Bletchly C., Halloran W. 2000. An antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay reveals high levels of the dengue virus protein NS1 in the sera of infected patients. *J Clin Microbiol* 38: 1053-1057.

Zagne S. M., Alves V. G., Nogueira R. M., Miagostovich M. P., Lampe E., Tavares W. 1994. Dengue haemorrhagic fever in the state of Rio de Janeiro, Brazil: a study of 56 confirmed cases. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 88: 677-679.

## 9. ANEXOS

---

<b>Anexo 1</b>	Parecer do Comitê de Ética .....	55
<b>Anexo 2</b>	TCLE .....	56
<b>Anexo 3</b>	Questionário .....	58
<b>Anexo 4</b>	Formulário de triagem .....	62
<b>Anexo 5</b>	Declaração de nascido vivo .....	63



**INVESTIGADOR RESPONSÁVEL:** Profª Dra. Celina Maria Turchi Martelli

Profº Dr. João Bosco Siqueira Júnior;

Profª Msc. Zelma Bernardes Costa;

Profª Dra. Lucimeire Antonielli da Silva;

Profª Dra. Valéria Christina de Resende Feres;

Profª Dra. Mariane Stefani;

Dr. Rui Gilberto Ferreira;

Mestranda Ângela Ferreira L. Teive e Argolo

**TÍTULO:** "Avaliação da prevalência de infecção para o vírus da dengue em gestantes e da incidência em neonatos"

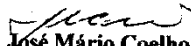
**Área Temática:** Grupo III

**Local:** HC/UFG- Maternidade / IPTSP

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa Médica Humana e Animal analisou e **aprova** o projeto de pesquisa acima referido, juntamente com os documentos apresentados e o mesmo foi considerado em acordo com os princípios éticos vigentes.

- Informamos que **não há** necessidade de aguardar o parecer da CONEP- Comissão Nacional de Ética em Pesquisa para iniciar a pesquisa.
- O pesquisador responsável deverá encaminhar ao CEPMHA/HC/UFG, relatórios semestrais do andamento da pesquisa, encerramento, conclusão(ões) e publicação(ões).

O CEPMHA/HC/UFG pode, a qualquer momento, fazer escolha aleatória de estudo em desenvolvimento para avaliação e verificação do cumprimento das normas da Resolução 196/96 (*Manual Operacional Para Comitês de Ética em Pesquisa – Item 13*).

  
Farm. José Mário Coelho Moraes  
Coordenador do CEPMHA/HC/UFG

## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado para participar como voluntário em uma investigação sobre a dengue. Você será esclarecido sobre as etapas da investigação a seguir. Caso você aceite participar da investigação, assine ao final do documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa você não terá nenhum tipo de prejuízo quanto ao atendimento médico.

### **O que é infecção por Dengue?**

A infecção por Dengue é causada pelo vírus da dengue que é transmitido de pessoa a pessoa através da picada de um mosquito infectado, o *Aedes aegypti*, que vive nas áreas urbanas do Brasil. O vírus da dengue pode causar febre alta, dor nos músculos, dor de cabeça, dor de garganta, falta de apetite, vômitos e manchas avermelhadas na pele. Nos casos leves, a doença pode durar até 5 a 7 dias. Atualmente, não existe nenhum tratamento específico para dengue. Você / seu filho(a) receberá tratamento adequado por um médico. Nos casos mais graves, o tratamento consiste em hidratação com soro na veia e monitoramento de exames de sangue até que seu próprio corpo se recupere da infecção.

### **Qual é o propósito desse estudo?**

A dengue é uma doença que pode levar a morte nos casos mais graves. Nós gostaríamos de saber como podemos melhorar o diagnóstico das gestantes que contraem a doença e a transmissão do vírus para o feto, e quando será melhor vacinar as crianças antes de um ano de idade. Então, esse estudo irá determinar a melhor forma de se identificar os casos de dengue em gestantes e no recém-nascido e evitar casos graves de dengue, contribuindo com os estudos sobre prevenção de dengue com vacina, para reduzir o número de pessoas que morrem pela doença na cidade de Goiânia e no Brasil.

Para obtermos essas informações, serão feitas perguntas a você sobre esse episódio da doença (você / seu filho(a) / e os sintomas que você / ele / ela apresentaram. A sua participação ou do(a) seu filho(a) / no estudo não traz nenhum benefício direto a sua saúde porque você / ele / ela receberá o mesmo cuidado mesmo que não participe. Porém, nós esperamos que fique satisfeito em saber que as informações fornecidas contribuirão para uma compreensão de como melhorar o tratamento das pessoas com a doença na cidade e no país. Posteriormente, durante a realização da entrevista você será informado sobre os resultados dos testes laboratoriais para dengue. Não existe nenhum risco ou desconforto previsto para a sua participação.

Este estudo é intitulado “*Avaliação da prevalência de infecção dos vírus dengue em gestantes e da incidência em neonatos*”. Ele está sendo conduzido pela Dra. Celina Maria Turchi Martelli do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública e da Dra. Valéria Christina de Rezende Féres, da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás, com a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa Médica Humana e Animal do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás.

### **Quais serão os procedimentos do estudo?**

Se você concordar em participar e consentir na participação do seu filho(a), um investigador do estudo irá fazer algumas perguntas para você durante sua internação no hospital. Estas podem identificar se você ficou doente, quando ficou, a duração de febre, o tipo e duração de outros sintomas. Uma amostra de seu sangue será coletada antes ou logo após o parto, usando agulha e tubo de coleta descartáveis, para colher 5 a 10 ml de sangue. Este procedimento pode causar um leve desconforto, como dor no local da punção, e, raramente, pode levar ao aparecimento de uma mancha roxa ao redor da picada, causada pelo extravasamento de pequena quantidade de sangue (hematoma).

Pedimos sua permissão, em relação ao seu filho(a), para a coleta de sangue do cordão umbilical na sala de parto, informando que ele não sentirá dor e não terá risco para o bebê. No acompanhamento do bebê até um ano de idade serão realizadas duas coletas de sangue (com 6 e 9 meses) e quando ele tiver sintomas de dengue para diagnóstico. O sangue será coletado por punção digital (pequeno furo no dedo da mão ou pé) ou, se necessário, usando agulha e tubo de coleta descartáveis, para colher 5 ml. Este procedimento pode causar um leve desconforto para a criança, como dor no local da punção, e, raramente, pode levar ao aparecimento de uma mancha roxa ao redor da picada, causada pelo extravasamento de pequena quantidade de sangue (hematoma).

*Solicitamos sua autorização para guardar o material para pesquisas futuras, esclarecendo que será guardado de forma adequada e segura no Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública/UFG. No caso de uso desse material em pesquisa futura, vamos novamente solicitar o seu consentimento, após aprovação da pesquisa futura pelos Comitês de Ética.*

**Minhas repostas são confidenciais?** Sim, tudo que soubermos sobre você e seu bebê, através do estudo (resultados de exames, entrevista) será confidencial. A sua identidade não será revelada e mesmo na divulgação dos resultados nenhuma participante será identificada. Os estudos serão divulgados em grupo. Nenhuma informação individual será identificada.

**Eu tenho que responder?** Não. Sua participação é completamente voluntária. Você pode parar sua participação no estudo a qualquer momento com a garantia que não existirá nenhum efeito negativo no seu tratamento ou de seu filho(a). Além disso, se você pedir por escrito, nós destruiremos todos os registros que contém suas informações. Sua decisão sobre a participação não afetará sua saúde ou os serviços que você recebe.

**Detalhes de Contato:** se você tiver perguntas ou precisar de mais informações sobre o estudo, por favor, entre em contato com a Dra. Valéria Christina de Rezende Féres, no seguinte número: 62 3209 6451 das 14 às 17 horas, na Faculdade de Farmácia – UFG na Av. Universitária esquina com a primeira avenida, Setor Universitário. CEP: 74 650 – 050 Goiânia, Goiás.

#### CONSENTIMENTO INFORMADO

Eu, \_\_\_\_\_ RG/ \_\_\_\_\_ número prontuário \_\_\_\_\_, abaixo assinado, concordo em participar do estudo “*Avaliação da prevalência de infecção dos vírus dengue em gestantes e da incidência em neonatos*”, como sujeito voluntário e confirmo que fui informado sobre a natureza do estudo. Eu também li e entendi as informações acima descritas relativas a este estudo.

Eu posso em qualquer fase, sem prejuízo ou penalidade, retirar meu consentimento para mim / do meu filho(a) da participação neste estudo.

Assinatura: \_\_\_\_\_ Local e data: \_\_\_\_\_

Nome do Entrevistador do Estudo: \_\_\_\_\_

Nome da testemunha: \_\_\_\_\_

Assinatura da testemunha: \_\_\_\_\_

Nome e assinatura do pesquisador responsável: \_\_\_\_\_

# QUESTIONÁRIO: GESTANTES

DADOS DO INDIVÍDUO			
1. Data da entrevista	2. Número do Prontuário	3 - Número de indivíduo para a coleta de sangue	COLAR ETIQUETA
/ /			
4. Local do parto:	(1) Hospital das Clínicas (HC); (2) Hospital Materno Infantil (HMI); (3) Maternidade Nossa Senhora de Lourdes (MNSL)	LOCPARTO	<input type="checkbox"/>
5. Nome da Paciente:			NOME <input type="checkbox"/>
6. Apelido			APELIDO <input type="checkbox"/>
7. Qual a sua idade?	8. Qual a data de seu nascimento?	IDADE	<input type="checkbox"/>
Anos	/ /	DTNASC	<input type="checkbox"/>
9. Raça/Cor:	(1) Branca (2) Preta (3) Amarela (4) Parda (5) Indígena (9) Ignorado	RACA	<input type="checkbox"/>
10. Estado Civil	(1) Solteira (2) Casada (3) Unida estavelmente (4) Separada (5) Divorciada (9) Viúva	ESTCIVIL	<input type="checkbox"/>

DADOS DE RESIDENCIA			
<b>11. Endereço</b>			
Rua/AV		Número/complemento	
Bairro		CEP	
Estado	Cidade		
Ponto de referência			
Telefone 1		Obs. Tel 1	
Telefone 2		Obs. Tel 2	
Telefone 3		Obs. Tel 3	
Possui parentes que moram em Goiânia?	(1) Sim (2) Não	PARENGOI	<input type="checkbox"/>
Grau de parentesco:			
Rua/AV		Número/complemento	
Bairro		CEP	
Estado	Cidade		
Ponto de referência			
Telefone 1		Obs. Tel 1	
Telefone 2		Obs. Tel 2	
Telefone 3		Obs. Tel 3	

DADOS SÓCIO-ECONÔMICOS			
12. Sabe ler e escrever?	(1) Sim      (2) Não      (9) Não responde		<input type="checkbox"/>
		LERESCREV	
13. Frequenta escola?	(1) Sim      (2) Não      (9) Não responde		<input type="checkbox"/>
		FREQESC	
14. Escolaridade: (0.) Analfabeto (1.) 1ª a 4ª série incompleta do EF (antigo primário ou 1º grau) (2.) 4ª série completa do EF (antigo primário ou 1º grau) (3.) 5ª à 8ª série incompleta do EF (antigo ginásio ou 1º grau) (4.) Ensino fundamental completo (antigo ginásio ou 1º grau) (5.) Ensino médio incompleto (antigo colegial ou 2º grau) (6.) Ensino médio completo (antigo colegial ou 2º grau) (7.) Educação superior incompleta (8.) Educação superior completa (9.) Ignorado		<input type="checkbox"/>	
15. Você trabalha (exerce atividade remunerada)?	(1.) Sim (2.) Não (Siga para questão 20)	ATIVREMUN	<input type="checkbox"/>
16. Qual a sua ocupação principal?		OCUP	<input type="checkbox"/>
17. Qual o seu rendimento mensal?		RENDA	<input type="checkbox"/>
ESPECÍFICAS DE DENGUE			
20. Está ou esteve com febre durante a gravidez?	(1.) Sim (2.) Não (siga para questão 25) (9.) Ignorado	FEBRE	<input type="checkbox"/>
21. Data do início da febre?	____/____/____	D TINIFEBR	<input type="checkbox"/>
22. Duração da febre (em dias)	____ dias	DURFEBRE	<input type="checkbox"/>
23. Outros sinais e sintomas de dengue?	(1.) Sim (2.) Não (9.) Ignorado	SINSINT	<input type="checkbox"/>
23.1. Cefaléia	(1.) Sim      (2) Não	CEFALEIA	<input type="checkbox"/>
23.2. Mialgia	(1.) Sim      (2) Não	MIALGIA	<input type="checkbox"/>
23.3. Artralgia	(1.) Sim      (2) Não	ARTRALGIA	<input type="checkbox"/>
23.4. Exantema	(1.) Sim      (2) Não	EXANTEMA	<input type="checkbox"/>
23.5. Náuseas/Vômitos	(1.) Sim      (2) Não	NAUSVOM	<input type="checkbox"/>
23.6. Dor Retro-Orbitária	(1.) Sim      (2) Não	DORREORB	<input type="checkbox"/>
23.7. Prostração	(1.) Sim      (2) Não	PROSTRAC	<input type="checkbox"/>
23.8. Diarréia	(1.) Sim      (2) Não	DIARREIA	<input type="checkbox"/>
23.9. Outros		OUSINSINT	<input type="checkbox"/>

Os dados abaixo (histórico Obstétrico e dados do Neonato) serão obtidos da DECLARAÇÃO DE NASCIDO VIVO preenchida no setor e disponível na papeleta da paciente. Apenas as questões 43 e 44 serão questionadas, pois não estão disponíveis na declaração.

42. Número de filhos tidos em gestações anteriores (utilizar 00, 99, ignorado):	Nascidos vivos:	NASCVIVO	<input type="checkbox"/>
	Nascidos mortos:	NASC MORT	<input type="checkbox"/>
43. Tipo de gravidez:	(1) Única (2) Dupla (3) Tripla e mais (9) Ignorado	TIPOGRAV	<input type="checkbox"/>
44. Tipo de parto:	(1) Vaginal (2) Cesáreo (9) Ignorado	TIPOPART	<input type="checkbox"/>
45. Você já teve aborto?	(1) Sim (2) Não (9) Ignorado	TEVEABOR	<input type="checkbox"/>
46. Caso sim, quantos?		NUMABOR	<input type="checkbox"/>
47. Duração da gestação em semanas:	(1) Menos de 22 (2) 22 a 27	DURGEST	<input type="checkbox"/>
	(3) 28 a 31 (4) 32 a 36		
	(5) 37 a 41 (6) 42 ou mais		
	(9) Ignorado		
48. Número de consultas de pré-natal:	(1) Nenhuma (2) De 1 a 3 (3) De 4 a 6 (4) 7 ou mais (9) Ignorado	NUMCONS	<input type="checkbox"/>

#### DADOS DO NEONATO

49. APGAR	1º Minuto:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	APGAR1	<input type="checkbox"/>
	5º Minuto	<input type="text"/>	<input type="text"/>	APGAR5	<input type="checkbox"/>
50. Sexo:	(1) Masculino (2) Feminino (9) Ignorado	SEXORN	<input type="checkbox"/>		
51. Data do nascimento:	/ /	DTNASC RN	<input type="checkbox"/>		
52. Hora:	<input type="text"/> : <input type="text"/> : <input type="text"/> 99 Ignorado	HORANASC	<input type="checkbox"/>		
53. Peso ao nascer:	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> Gramas	PESORN	<input type="text"/>		
54. Detectada alguma malformação congênita ou anomalia Cromossômica?	(1) Sim (2) Não (9) Ignorado	ANOMLARN	<input type="checkbox"/>		
55. Caso sim, qual?		CODANOMA	<input type="text"/>		

25. Você já teve dengue?	(1) Sim (2) Não (siga para a questão 33) (9) Ignorado	TEVEDENG	<input type="checkbox"/>
Caso sim,			
26. Quando teve dengue?		QUANDENG	<input type="checkbox"/>
27. Quantas vezes?		NUNVEZES	<input type="checkbox"/>
28. Houve confirmação por teste laboratorial?	(1) Sim (2) Não (9) Ignorado	CONFLAB	<input type="checkbox"/>
29. Você já foi internado com Dengue?	(1) Sim (2) Não (9) Ignorado	INTERDENG	<input type="checkbox"/>
Caso sim,			
30. Data da internação	/ /	DTINTERN	<input type="checkbox"/>
31. Município do hospital		MUNHOSP	<input type="checkbox"/>
32. Estado do hospital		UFHOSP	<input type="checkbox"/>
33. Alguém da sua família já teve dengue?	(1) Sim (2) Não (9) Ignorado	FAMDENG	<input type="checkbox"/>
<b>ESPECIFICAS DE HEPATITE E FEBRE AMARELA</b>			
34. Você já recebeu vacina contra Hepatite B?	(1) Sim (2) Não (9) Ignorado	VACHEPB	<input type="checkbox"/>
Caso sim,			
35. Quantas doses recebeu?		DOSHEPB	<input type="checkbox"/>
36. Data da última dose:	/ /	DTDOSHEPB	<input type="checkbox"/>
37. Você já recebeu vacina contra Febre Amarela?	(1) Sim (2) Não (9) Ignorado	VACFA	<input type="checkbox"/>
Caso sim,			
38. Data da última dose:	/ /	DTDOSFA	<input type="checkbox"/>
39. Quantos anos você tinha quando teve a primeira relação sexual?		IDRELSEX	<input type="checkbox"/>
40. Você já teve outro parceiro sexual além do seu parceiro atual?	(1) Sim (2) Não (9) NS/NR	OUPARSEX	<input type="checkbox"/>
41. Quantos parceiros sexuais você teve nos últimos 12 meses?		NPARSEX	<input type="checkbox"/>





I	Cartório	Código		Registro	Data		
		Município				UF	
II	Local da Ocorrência	Local da ocorrência		Estabelecimento			
		<input type="checkbox"/> 1 - Hospital <input type="checkbox"/> 2 - Outros estab. saúde <input type="checkbox"/> 3 - Domicílio <input type="checkbox"/> 4 - Outros <input type="checkbox"/> 9 - Ignorado		Código			
		Endereço da ocorrência, se fora do estab. ou da resi. da mãe (Rua, praça, avenida, etc)		Número	Complemento	CEP	
III	Mãe	Bairro/Distrito		Código	Município de ocorrência		
		Código		Código	UF		
		Nome da mãe		RIC			
IV	Gestação e parto	Idade (anos)		Estado civil			
		<input type="checkbox"/> 1 - Solteira <input type="checkbox"/> 2 - Casada <input type="checkbox"/> 3 - Viúva <input type="checkbox"/> 4 - Separada judic. <input type="checkbox"/> 5 - União consenz. <input type="checkbox"/> 9 - Ignorado		Escolaridade (Em nome de estudo concluída)		Ocupação habitual e ramo de atividade	
		<input type="checkbox"/> 1 - Nenhuma <input type="checkbox"/> 2 - De 1 a 3 <input type="checkbox"/> 3 - De 4 a 7 <input type="checkbox"/> 4 - De 8 a 11 <input type="checkbox"/> 5 - 12 e mais <input type="checkbox"/> 9 - Ignorado		Código		<input type="checkbox"/> 1 - Nenhuma <input type="checkbox"/> 2 - De 1 a 3 <input type="checkbox"/> 3 - De 4 a 6 <input type="checkbox"/> 4 - 7 e mais <input type="checkbox"/> 9 - Ignorado	
V	Recém Nascido	Residência da mãe		Número			
		Logradouro		Complemento	CEP		
		Bairro/distrito		Código	Município	Código	
VI	Identificação	Duração da gestação (em semanas)		Tipo de gravidez			
		<input type="checkbox"/> 1 - Menos de 22 <input type="checkbox"/> 2 - De 22 a 27 <input type="checkbox"/> 3 - De 28 a 31 <input type="checkbox"/> 4 - De 32 a 36 <input type="checkbox"/> 5 - De 37 a 41 <input type="checkbox"/> 6 - 42 e mais <input type="checkbox"/> 9 - Ignorado		<input type="checkbox"/> 1 - Única <input type="checkbox"/> 2 - Dupla <input type="checkbox"/> 3 - Tripla e mais <input type="checkbox"/> 9 - Ignorado		Tipo de parto	
		<input type="checkbox"/> 1 - Vaginal <input type="checkbox"/> 2 - Cesáreo <input type="checkbox"/> 9 - Ignorado		Número de consultas de pré-natal			
VII	Responsável pelo preenchimento	Nascimento		Sexo			
		Data		<input type="checkbox"/> M - Masculino <input type="checkbox"/> F - Feminino <input type="checkbox"/> 9 - Ignorado			
		Raça/cor		Peso ao nascer		Índice de Apgar	
<input type="checkbox"/> 1 - Branca <input type="checkbox"/> 2 - Preta <input type="checkbox"/> 3 - Amarela <input type="checkbox"/> 4 - Parda <input type="checkbox"/> 5 - Indígena		<input type="checkbox"/> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 9 - Ignorado		<input type="checkbox"/> 1 - Nenhum <input type="checkbox"/> 2 - De 1 a 3 <input type="checkbox"/> 3 - De 4 a 6 <input type="checkbox"/> 4 - 7 e mais <input type="checkbox"/> 9 - Ignorado			
Detectada alguma malformação congênita e/ou anomalia cromossômica?		Qual?		Código			
<input type="checkbox"/> 1 - Sim <input type="checkbox"/> 2 - Não <input type="checkbox"/> 9 - Ignorado							
Polegar direito da mãe		Pé direito da criança					
Nome		Função	Identidade	Órgão Emissor	Data		

**ATENÇÃO : ESTE DOCUMENTO NÃO SUBSTITUI A CERTIDÃO DE NASCIMENTO**

O Registro de Nascimento é obrigatório por lei.  
Para registrar esta criança, o pai ou responsável deverá levar este documento ao cartório de registro civil.