



UNIVERSIDADE DA BEIRA INTERIOR
Ciências da saúde

Dengue: Etiologia, patogénese e suas implicações a nível global.

Juliana da Silva Nunes

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em:
Medicina
(ciclo de estudo integrado)

Orientadora: Dra. Leopoldina Vicente.

Covilhã, Maio de 2011

Agradecimentos

Esse trabalho é o culminar de um processo de aprendizagem e desenvolvimento pessoal o qual não seria possível sem o apoio e o incentivo de algumas pessoas, a quem devo de coração reconhecimento e um sincero agradecimento.

Assim, gostaria de agradecer à Doutora Leopoldina Vicente, por ter aceite o meu convite para orientação do presente trabalho, e ter demonstrado desde logo inteira disponibilidade, interesse e partilha de conhecimento.

Um agradecimento muito especial à minha família, à minha mãe, Ilma Nunes, e ao meu pai, Jorge Nunes, que me ajudaram na realização desta tese, sempre me apoiaram e forneceram as ferramentas necessárias para alcançar uma meta importante, o meu curso. O meu sucesso só foi possível graças a vossa eterna força de vontade e dedicação. Aos meus avós, tias e tios que sempre me apoiaram.

À minha Irmã Daniela, referência importante na minha vida, ajudou-me com a sua sabedoria e dedicação incansável na leitura e constituição desta tese.

Ao meu namorado Ricardo, pelo apoio, cuidado e paciência inquestionável.

As minhas amigas, queridas, que sempre me apoiaram, Cátia, Rita, Carina e Martina.

A todos os que me ajudaram na realização desta tese, de forma directa ou indirecta.

O meu muito e sincero obrigada!

Resumo

A doença causada pelo vírus do Dengue tornou-se uma das principais doenças infecciosas emergentes a nível mundial, sendo agora considerada uma epidemia global e registada em mais de 120 países. Tal facto põe em risco grande parte da população mundial.

O vírus do Dengue pertence ao grupo das arboviroses, referente a família *Flaviviridae*, género *Flavivirus*, possui quatro serotipos geneticamente e antigenicamente distintos (1-4).

Transmitido ao homem através da picada de mosquitos hematófagos fêmeas do género *Aedes*, principalmente o *Aedes Aegypti* e *Aedes Albopictus*. Ambos possuem disseminação a nível mundial, com um aumento crescente de propagação a nível da Europa. A manifestação clínica pode variar desde uma infecção assintomática, como causar uma doença febril (designada Febre do Dengue), podendo ainda evoluir para um quadro hemorrágico seguido ou não de choque, conhecidos respectivamente como, febre Hemorrágica do Dengue e Síndrome do Choque do Dengue.

Vários factores influenciam a disseminação da doença e entre as principais estão: as alterações climáticas (aumento do aquecimento global), expansão da densidade populacional, exportações de mercadorias contendo ovos, bem como a facilidade em realizar viagens para países endémicos.

A actual preocupação é consequência da crescente globalização, o que possibilita a interacção e aproximação de vários países permitindo a propagação mais rápida de doenças. Estes factores em conjunto afectam a disseminação dos vectores para áreas onde antes não existiam, e consequentemente aumentam a dispersão desta doença causando um grave impacto na saúde pública mundial.

Com o fracasso das campanhas de controlo do vector, torna-se necessário o desenvolvimento de uma vacina segura e capaz de proteger a população mundial diminuindo a morbidade e mortalidade relacionadas com a doença. Outro aspecto importante é o fortalecimento das campanhas existentes.

A presente dissertação pretende efectuar uma revisão da literatura existente no âmbito da melhor caracterização da epidemiologia, etiologia e patogénese do vírus do Dengue, como também reconhecer a importância do correcto diagnóstico e tratamento da doença. Serve ainda para alertar sobre o processo de globalização, bem como outros factores que podem afectar a propagação de doenças transmitidas por vectores a nível mundial.

Palavras-chave

Aedes aegypti, *Aedes albopictus*, dengue, dengue/diagnóstico e tratamento, febre do dengue, febre hemorrágica do dengue, Febre em viajantes, Fisiopatologia, *Flavivirus*.

Abstract

The diseases caused by the Dengue virus become one of the principal infectious diseases around the world. Registered in more than 120 countries, it is considered a global epidemic, a danger faced by a vast part of the world's population.

The Dengue virus belongs to the arbovirus group, referent to the *Flaviviridae* family, generous *Flavivirus*, that can be formed by four serotypes genetically and antigenically distinct (1-4).

The virus is transmitted to humans by infected female feeding mosquitoes of the *Aedes* genus, mostly *Aedes Aegypti* or *Aedes Albopictus*, world-wide spread species with an enhancing propagation in Europe. The clinical manifestation of the infection can vary from asymptomatic to high fever (named Dengue fever), in worst cases accompanied by haemorrhages and often followed by shock, known as Dengue hemorrhagic fever and Dengue Shock Syndrome, respectively.

Several factors influence the disease dissemination and the main are listed: climatic changes (global warming), increase in population density, international trade of products containing dengue mosquito eggs, and due to the facility of travelling to endemic countries.

The actual concern is the consequence of enhancement on globalization, that possibilities the interaction and approximation of several countries allowing the rapid propagation of diseases. These factors together affect the dissemination of vectors in areas not present previously, enhancing the disease dispersion and consequently causing a severe impact in world public health.

As the vector control campaigns failed to bring the desired effect, it is necessary to develop a safe vaccine that would be capable of protecting the world's population and decreasing Dengue fever's mortality rate. At the same time, the impact of the ongoing campaigns should be increased.

The present dissertation intends to perform a literature revision to improve the epidemiology characterization, etiology and pathogenesis of Dengue virus. Moreover, recognize the importance of a correct diagnostic and disease treatment. It also alerts about the globalization process, as well as other factors that affect the vector-borne diseases in world level.

Keywords

Aedes aegypti, *Aedes albopictus*, dengue, dengue / diagnosis and treatment, dengue fever, dengue hemorrhagic fever, fever in travelers, pathophysiology, *Flavivirus*.

Índice

Agradecimentos	ii
Resumo	iii
Palavras-chave	iii
Abstract	iv
Keywords	iv
Lista de Figuras	vii
Lista de acrónimos	viii
Objectivos	1
Métodos	2
Desenvolvimento	3
3. Introdução	3
3.1 Aspectos históricos.....	3
3.2 Dados epidemiológicos do Dengue no Século XXI	5
3.2.1 Continente Asiático	5
3.2.2 América	6
3.2.2.1 América do Sul	6
3.2.2.2 América central e México	7
3.2.2.3 Caraíbas	7
3.2.2.4 América do Norte	7
3.2.3 Continente Africano	7
3.2.4 Países do Mediterrâneo Oriental	7
3.2.5 Europa	8
4. Características gerais	9
4.1 Vírus do Dengue	9
4.1.1 Serotipos e genótipos do DENV	11
4.2 Vector	12
4.2.1 Alterações climáticas e impacto sobre o vector	16
4.3 Ciclo de vida do vírus	18
5. Fisiopatologia	22
5.1 Teoria dos Anticorpos Potencializadores de infecção	22
5.2 Papel dos Linfócitos T na infecção pelo vírus do Dengue	24
5.3 Activação do Complemento	26
5.4 Variabilidade Genética do Hospedeiro	27
6. Manifestações clínicas	28
6.1 Atendimento ao doente com manifestações de Dengue	31
6.2 Diagnóstico laboratorial	31
6.2.1 Isolamento viral	32

6.2.2 Diagnóstico molecular/Detecção do Genoma	32
6.2.3 Testes sorológicos	33
6.3 Diagnóstico etiológico e procedimentos em Portugal segundo a Direcção Geral de Saúde	33
6.4 Diagnóstico diferencial	34
7. Tratamento	35
8. Estratégias de Controlo e Vigilância do Dengue	36
8.1 Controlo do <i>Aedes aegypti</i>	36
8.1.1 Gestão Ambiental	36
8.1.2 Controlo Químico	37
8.2 Vigilância do Dengue	38
9. Dengue em viajantes internacionais	41
10. Exemplo de um caso Clínico	43
11. Conclusão	44
12. Perspectivas futuras	45
Referência	46

Lista de Figuras

Figura 1. Média anual de casos de Dengue e Febre Hemorrágica do Dengue, dos países que notificaram à OMS nos anos de 1955 - 2007.....	5
Figura 2. Mapa dos países e áreas em risco de desenvolver Dengue no ano de 2010.....	8
Figura 3. Organização genómica do vírus Dengue.....	10
Figura 4. Ciclo evolutivo do <i>Ae. aegypti</i>	13
Figura 5. Fêmea adulta do <i>Ae. Aegypti</i>	14
Figura 6. <i>Aedes albopictus</i>	14
Figura 7. Distribuição do <i>ae. albopictus</i> na europa em 2009	15
Figura 8. Ciclo da transmissão do Vírus do Dengue.	19
Figura 9. Ciclo do vírus do Dengue	21
Figura 10. Representação esquemática do fenómeno dos anticorpos potencializadores de infecção	24
Figura 11. Patogénese da infecção por vírus do dengue.....	26
Figura 12. Exantema máculo-papular causado pelo vírus do Dengue com zonas de pele integra	28
Figura 13. Manifestações da infecção por vírus do Dengue	29
Figura 14. Curso clínico do Febre do Dengue e Febre hemorrágica do Dengue	30
Figura 15. Graus de gravidade do Dengue hemorrágico	30
Figura 16. Curso da doença do Dengue e métodos de diagnóstico.....	32

Lista de Acrónimos

- A.C - Antes de Cristo.
- ADE - Anticorpos Potencializadores de Infecção.
- ADN - Ácido desoxirribonucleico.
- ARN - Ácido ribonucleico.
- Ae. aegypti* - *Aedes aegypti*.
- Ae. albopictus* - *Aedes albopictus*.
- AIAN - Amplificação isotérmica do Ácido nucleico.
- ARNm - ARN mensageiro.
- Cápside C - Cápsula proteica.
- CF - Fixação do Complemento.
- CD - Célula dendrítica.
- DC-SING - C-type Lectin ICAM3-Grabbing Non-Integrin.
- DENV - Vírus do Dengue.
- DENV-1-4 - Serotipos do vírus do Dengue do 1 ao 4.
- E - Proteína do envelope.
- FC - Receptor para a porção constante dos anticorpos.
- FD - Febre do Dengue.
- FHD - Febre Hemorrágica do Dengue.
- H-14 - *Bacillus thuringiensis*
- HLA - *Human leukocyte antigen*/antígeno leucocitário humano.
- ICAM-3 - *Intercellular adhesion molecule-3 grabbing non-integrin*.
- IFN - Interferão.
- IFN- β - Interferão beta.
- IFN- γ - Interferão gama.
- IgG - Imunoglobulina G.
- IgM - Imunoglobulina M.
- IH - Inibição da hemaglutinização.

- IL - Interleucina.
- INSA - Instituto Nacional de saúde Dr. Ricardo Jorge.
- KDa - Kilobases.
- MAC-ELISA - Teste imunoenzimático de captura.
- MHC - Complexo *major* de histocompatibilidade.
- nm - Nanômetros.
- NS - Glicoproteína não estrutural.
- OMT - Organização Mundial do Turismo.
- OMS/WHO - Organização Mundial da Saúde.
- ON - Óxido Nítrico.
- ORF - Open Reading Frame.
- PAF - Factor de activação plaquetária.
- PCR - Reacção em cadeia de polimerase.
- prM - Proteína precursora membrana.
- RE - Reticulo Endoplasmático.
- RER - Reticulo Endoplasmático Rugoso.
- RT-PCR - Transcrição reversa seguida de reacção em cadeia de polimerase.
- SCD - Síndrome do choque do Dengue.
- SNS - Sistema Nacional de Saúde.

1. Objectivos

A presente dissertação pretende constituir uma pesquisa alargada da literatura científica acerca da doença causada pelo vírus do Dengue, enfatizando os seus aspectos mais actuais. Assim, os objectivos são:

- ❖ Determinar a etiologia e patogénese do vírus;
- ❖ Determinar a importância do conhecimento da distribuição do Dengue a nível mundial, assim como, determinar o papel das alterações climáticas sobre a disseminação dos vectores;
- ❖ Relatar a importância do correcto diagnóstico e tratamento dos casos de Dengue;
- ❖ Reconhecer a importância do aumento de casos de Dengue em viajantes que retornam de áreas endémicas.

2. Métodos

Como metodologia para este trabalho de investigação bibliográfica, utilizou-se a estratégia de procura de artigos, no período compreendido entre Maio de 2010 até Março de 2011. A pesquisa foi realizada nas seguintes bases de dados electrónicas: Pubmed, Medline, ScienceDirect, Wiley Online Library, World Health Organization e CDC- Center for disease Control and Prevention. Utilizou-se a combinação das palavras *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, dengue, dengue/diagnóstico e tratamento, febre do dengue, febre hemorrágica do dengue, Febre em viajantes, Fisiopatologia do dengue, *Flavivirus*.

Além disto, foi conduzida uma busca manual de publicações com base nas referências bibliográficas listadas nos artigos identificados. Recorreu-se ainda a literatura pertinente e a livros publicados no âmbito.

Foram incluídos todos os trabalhos publicados nos seguintes idiomas: inglês, português e espanhol, no período compreendido entre 1970-2010.

Não foram utilizadas quaisquer limitações na pesquisa, e posteriormente, procedeu-se à selecção dos artigos mais relevantes para cada uma das vertentes do trabalho.

Desenvolvimento

3. Introdução

A doença causada pelo vírus do dengue (DENV), é uma infecção viral transmitida por vectores artrópodes, que produz infecções em pessoas residentes em zonas endémicas, como nos viajantes que podem contrair a doença nessas zonas e desenvolverem-na em países que não possuam o conhecimento para o tratamento da doença, o que pode aumentar a morbidade e a mortalidade.

Assim sendo, torna-se pertinente um melhor entendimento sobre a fisiopatologia, e medidas de prevenção e tratamento, de forma a minimizar as consequências da doença, sendo igualmente importante realizar a prevenção a nível mundial, de modo a evitar que novas zonas alberguem o vector e consequentemente não ocorra a progressão da doença para novos continentes.

O Dengue pertence ao grupo das arboviroses (Arthropod-borne viruses), provocado por um *Flavivirus*, e transmite-se ao homem através da picada de mosquitos hematófagos fêmeas do género *Aedes*, particularmente o *Aedes Aegypti* (*Ae. aegypti*). O DENV causa uma doença febril, conhecida como Febre do Dengue (FD), que pode evoluir para um quadro hemorrágico seguido ou não de choque, conhecidos respectivamente como, Febre Hemorrágica do Dengue (FHD) ou Síndrome do Choque do Dengue (SCD) [1].

A doença está disseminada em todas as regiões tropicais e subtropicais do planeta, com uma crescente incidência nas regiões da Ásia, África e Américas Central e do Sul, constituindo um sério problema de saúde pública a nível mundial.

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), nos últimos 50 anos, a incidência de casos de dengue aumentou 30 vezes, principalmente devido à expansão geográfica para novos países. Actualmente, estima-se que ocorram anualmente 50 milhões de infecções e que aproximadamente 2,5 bilhões de pessoas vivam em risco de contrair a doença nos países endémicos [1].

3.1 Aspectos Históricos

De acordo com dados históricos, os primeiros registos de uma doença com sintomas similares ao Dengue estão descritos na enciclopédia chinesa de sintomas, doenças e remédios, publicada durante a Dinastia Chin (265 a 420 A.C.) e formalmente editada na dinastia Tang (610 A.C.). A doença semelhante ao Dengue foi chamada de “água envenenada” e associada a insectos voadores. Ocorreram surtos nas Antilhas Francesas em 1635 e no Panamá em 1699, onde há fortes indícios de tratar-se de casos de Dengue [2].

Após esse período, o Dengue ou uma doença similar teve uma ampla distribuição geográfica (posterior ao século XVIII), quando a primeira pandemia conhecida começou.

Desconhece-se se as epidemias em Batávia (Jacarta), Indonésia, Cairo e Egipto, em 1779 estão relacionadas com a infecção causada por Dengue, no entanto, é bastante provável que a epidemia existente na Filadélfia, em 1780, tenha sido [2].

Uma segunda série de pandemias de Dengue espalhou-se ao longo do globo, nomeadamente da África para a Índia e da Oceânia para a América, entre 1823 à 1916, sendo epidemiologicamente activas durante 3 a 7 anos respectivamente. Não se sabe qual o serotipo envolvido, contudo, está descrito que terá sido o mesmo serotipo que ocorreu aquando da disseminação para os trópicos, tendo como origem o vector africano *Aedes aegypti* transportado pelos escravos e comércio [3].

Entre 1780 e 1940 foram relatadas várias epidemias, tais como Zanzibar (1823 e 1870), Calcutá (1824, 1853, 1871 e 1905), Índias Ocidentais (1827), Hong Kong (1901), Grécia (1927 e 1928), Austrália (1925, 1926 e 1942), EUA (1922) e Japão (1942 - 1945) [4].

A segunda guerra mundial proporcionou alterações na epidemiologia global e dinâmica de transmissão do vírus do Dengue no Sudeste Asiático e Pacífico. Durante a 2ª Guerra Mundial, Sabin e Schesinger isolaram os serotipos tipo 1 e 2, sendo que os serotipos 3 e 4 foram identificados em 1976 após uma epidemia em Manila, Filipinas [3].

A guerra proporcionou mudanças na ecologia associada ao movimento das tropas, o que consequentemente proporcionou a difusão do *Aedes aegypti* entre os centros populacionais provocando grandes epidemias. O fim da mesma levou a um aumento incontável da urbanização, com moradias inadequadas, água não potável, bem como precária gestão de esgotos e resíduos, permitindo assim um aumento da proporção do vector e uma dispersão de serotipos para diversas regiões geográficas [3].

O primeiro registo de uma epidemia de febre hemorrágica do Dengue ocorreu em Manila, nas Filipinas, entre 1953-1954, seguido por Bangkok, Tailândia e Malásia em 1958, e Singapura e Vietnam em 1960. Com o crescimento da economia, e consequente aumento da urbanização após a Segunda Guerra Mundial, a epidemia de FD/FHD espalhou-se na década de 70 para outras partes do mundo, a partir do Sudeste Asiático [5, 6].

A epidemia do Dengue foi circunscrita no continente americano durante os anos 50, 60 e 70, aquando da realização da campanha para erradicação do *Aedes aegypti* com o objectivo de combater a febre-amarela, o que erradicou efectivamente a doença da América central e do sul. Porém, essa campanha foi descontinuada, originando nova infestação do mosquito nas áreas em que ocorreu a erradicação [2].

No início do século XXI, a FD/FHD tornou-se uma das principais arboviroses nos seres humanos (figura 1), e mais de 100 países tropicais são endémicos para o Dengue, destes, 60 países têm relatado casos de FHD. Estima-se que ocorreram por ano entre 50 e 100 milhões de casos de FD e centenas de milhares de casos de FHD, com uma taxa de letalidade em alguns países tão elevada como 10 - 15% [5].

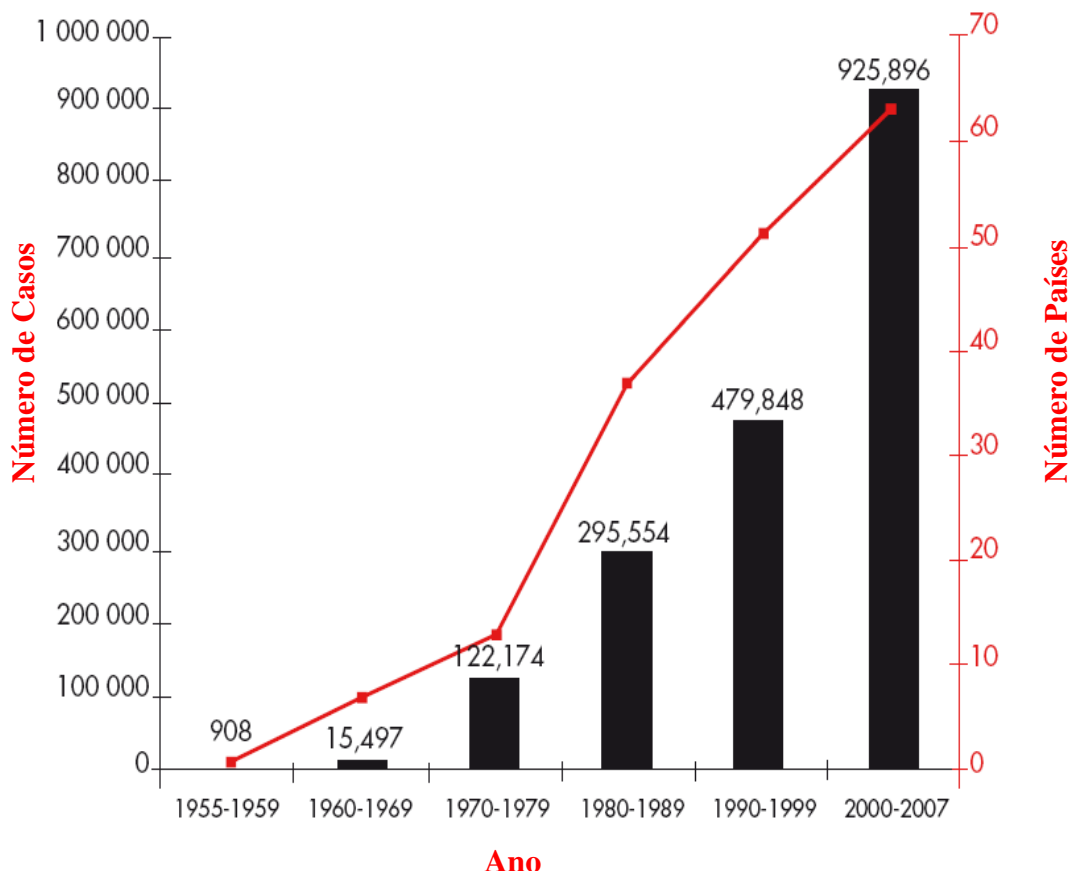


Figura 1. Média anual de casos de Dengue e Febre Hemorrágica do Dengue, dos países que notificaram à OMS nos anos de 1955 - 2007. Adaptado de: WHO Dengue TREATMENT, PREVENTION AND CONTROL new edition 2009.

3.2. Dados epidemiológicos do Dengue no Século XXI

No século XXI, as frequentes epidemias transformaram-se num caso problemático, com a ocorrência em todas as regiões tropicais e subtropicais do planeta e com a possibilidade de disseminação para regiões isentas de infecção. Assim sendo, actualmente o dengue constitui um sério problema para a saúde pública mundial (Figura 2).

3.2.1 Continente Asiático

Os países asiáticos com maior número de casos reportados são o Vietnã, Tailândia e as Filipinas. Em todos estes países existem o movimento dos quatro serotipos do vírus. Os países do Sudeste Asiático têm a particularidade de pertencerem a uma zona equatorial de monção, onde o *Aedes aegypti* é comum em zonas urbanas e rurais [6].

Em 2003, países como Bangladesh, Índia, Indonésia, Maldivas, Myanmar, Sri Lanka, Tailândia e Timor-Leste referiram casos de Dengue. Em 2004, Butão expôs o primeiro surto de

Dengue. Em 2005, ocorreu em Timor-Leste uma taxa de letalidade de 3.55%, e em Novembro de 2006 o Nepal relatou os primeiros casos de Dengue [1].

Em 2007, na Indonésia, onde 35% da população vive em área urbana, ocorreu uma notificação de 150 000 casos (o maior já registado), com mais de 25 000 casos relatados em Jacarta e Java Ocidental, apresentando uma taxa de letalidade de 1%. Na Tailândia, o Dengue é reportado em todo o território, sendo que em 2007 um total de 58 836 casos foram notificados, com uma taxa de letalidade de 0.2% [1].

Após a última grande pandemia de Dengue em 1998, foi registado um crescente número de casos entre os anos de 2001 e 2008, com notificações no Camboja, Malásia, Filipinas e Vietname (total de 1 020 333 casos), sendo nestes quatro países onde se registou maior número de casos e óbitos. Segundo relatórios oficiais dos referidos países, apresentaram um número total de 4798 óbitos. Comparando com outros países da mesma região, o número de casos e óbitos mais elevado continuou sendo o do Camboja e das Filipinas, em 2008.

Entre 2001-2008, o Dengue acabou por se espalhar pelas ilhas do Pacífico, registando-se 35 869 casos na Polinésia Francesa, 6 836 na Nova Caledónia, 3735 nas Ilhas Cook, 1816 na Samoa Americana, 1108 no Palau e 664 nos Estados Federados da Micronésia [1].

3.2.2 América

A transmissão do Dengue segue um padrão sazonal, com a ocorrência de surtos cíclicos de 3-5 anos. Os quatro serotipos do vírus circulam nessas regiões simultaneamente. Existem muitos factores que influenciam o desenvolvimento do Dengue nessa região como o meio ambiente (Fenómenos como o El Nino e La nina), a migração, o crescimento populacional, a falta de investimento em recursos básicos (água potável e saneamento) e a dispersão dos diferentes serotipos.

No período compreendido entre 2001-2007, mais de 30 países do Continente Americano notificaram um total de 4 332 731 casos de Febre do Dengue e 106 037 casos de Febre Hemorrágica do Dengue. No mesmo período, ocorreu um total de 1 299 mortes com uma taxa de letalidade de 1,2% [1].

3.2.2.1 América do sul

Entre 2001-2007 foram reportados na Argentina, Brasil, Chile, Paraguai e Uruguai 64.6% de casos de Febre do Dengue (2 798 601), dos quais 6. 733 foram de Dengue Hemorrágica, causando um total de 500 mortes. Os serotipos mais frequentes na América Latina foram os DEN-1, DEN-2 e DEN-3 [1, 6].

Neste período o Brasil apresentou 98.5% dos casos, com a maior taxa de mortalidade. A região dos países Andinos como a Bolívia, Colômbia, Equador, Peru e Venezuela contribuíram para 19% dos casos de Dengue (819 466). É a sub-região, com maior número de casos de Febre Hemorrágica notificados, totalizando 58% de casos (61 341 no total) e 306 mortes. A Colômbia

e Venezuela obtiveram os números mais altos com 81% de casos desta sub-região, sendo que a Colômbia registou o maior número de mortes, 73% [1].

Recentes surtos entre o fim de 2010 e início de 2011 foram reportados no Peru, Bolívia e Brasil [6].

3.2.2.2 América Central e México

No período compreendido entre 2001-2007 nesta sub-região ocorreram um total de 545 049 casos, representando 12% dos casos reportados nas Américas. Ocorreram ainda 35 746 casos de FHD e 209 óbitos.

A Nicarágua registou 64 óbitos totalizando 31%, seguidas pelas Honduras com 52 (25%) e pelo México, com 29 (14%). A Costa Rica, Honduras e México assinalaram o maior número de casos neste período. DEN-1, -2 e -3 foram os serotipos mais frequentemente relatados [1].

3.2.2.3 Caraíbas

Nesta sub-região foram notificados 3,9% dos casos de Dengue (168 819), sendo 2.217 de FHD, observando-se 284 mortes. Todos os quatro serotipos circulam na área do Caribe, porém, os mais predominantes são DEN-1 e DEN-2 [1].

3.2.2.4 América do Norte

A maioria dos casos reportados no Canadá e Estados Unidos ocorreram em viajantes que retornaram de áreas endêmicas. Entre 2001-2007, foram notificados 796 casos nos EUA. Aconteceram ainda surtos no Havai (2001) e no Texas (2005) [1, 6].

3.2.3 Continente Africano

Apesar do Dengue existir no continente Africano, os dados epidemiológicos são escassos. Contudo, há descrições de ocorrência de surtos na Costa do Marfim entre 2006 - 2008 [1].

3.2.4 Países do Mediterrâneo Oriental

Recentes surtos foram registados no Paquistão, Arábia Saudita, Sudão e Iémen em 2005 e em 2006.

No Paquistão, o primeiro surto reportado de DEN-3 com Dengue Hemorrágica ocorreu em 2005. Desde então, ocorreu uma expansão das infecções, com um aumento da frequência e da gravidade, relatada a partir de grandes cidades do Paquistão [1].

No Iémen ocorreu um aumento da frequência e distribuição geográfica de novos casos, desde a grande epidemia de DEN-3 em 2005 no AL-Hudeidah. Em 2008 o Dengue atingiu o sul da província de Shabwa.

A Arábia Saudita reportou em 2006 uma epidemia de DEN-1 com um registo de 1269 casos, sendo que 27 evoluíram para FHD com um total de 6 mortes, e outra epidemia em 2008 de DEN-3 gerando 775 casos de FD, 9 casos de FHD e com um total de 4 mortes [1].

3.2.5 Europa

O vírus do Dengue não é endémico na Europa. A maioria dos casos registados foi importada de viajantes, ou a partir de movimentos das forças armadas que retornaram de regiões endémicas.

No entanto, a última epidemia reportada na Europa, ocorreu entre 1927-1928 na Grécia, com uma alta mortalidade. O vector implicado foi o *Aedes albopictus* [7].



Figura 2. Mapa dos países e áreas em risco de desenvolver Dengue no ano de 2010. As linhas em vermelho: linhas isotérmicas de Janeiro e Julho indicando áreas em risco, definidas pelos limites geográficos dos Hemisférios Norte e Sul, explicada pela sobrevivência/ano do *Aedes aegypti*. Adaptado de: World health organization. Map Production : Public Health Information and Geographic Information Systems.

4. Características gerais

Devido ao aumento e crescente ocorrência de casos de FD e FHD em várias partes do mundo, o correcto conhecimento sobre o agente etiológico e o vector torna-se indispensável.

No presente capítulo, descreve-se essencialmente as características do vírus do Dengue e do respectivo vector.

4.1. Vírus do Dengue

O vírus Dengue (DENV) pertence à família *Flaviviridae*, género *Flavivirus*. A maioria dos *Flavivirus* são arboviroses por serem essencialmente transmitidos por vectores artrópodes, como exemplo o mosquito [8].

A estrutura do DENV é simples, as partículas virais são esféricas, com um diâmetro entre 50 a 55 nm. O genoma consiste de uma fita simples de ARN com aproximadamente 11 Kilobases (KDa), cujo ARN possui 5' cap, sem cauda de "poli A" e apresenta polaridade positiva. Nas extremidades 5' e 3' existem regiões não codificadoras. Possuem sequências conservadas e estruturas secundárias de ARN que direccionam os processos de amplificação genómica, tradução e empacotamento viral. O ARN viral possui uma única fase de leitura (Open Reading Frame (ORF)) a qual codifica uma grande poliproteína que posteriormente é clivada por proteases celulares e serinas codificadas pelo vírus em três proteínas estruturais, e sete não estruturais (Figura 3) [9].

As proteínas estruturais são a cápsula proteica (Cápside C), que é responsável pela forma esférica da partícula viral. A proteína precursora de membrana (prM) é glicosilada, possui 26 kDa e é clivada durante a replicação viral por uma protease do tipo furina, gerando a proteína estrutural M de 8 KDa, que juntamente com a proteína de envelope (E) forma o revestimento externo da partícula viral. Várias cópias de proteína C (11 KDa) encapsulam o ARN genómico para formar o nucleocápside viral, sendo este cercado por uma bicamada lipídica em que 180 exemplares das proteínas M e E estão ancoradas.

A proteína E (56 KDa) é fundamental para a ligação viral ao receptor de membrana e representa o principal componente antigénico do vírus, sendo a única capaz de induzir a produção de anticorpos neutralizantes da infecção *in vivo*. Possui uma estrutura tridimensional com três domínios estruturais distintos: primeiro (I) ou central; segundo (II) que contém a região de dimerização e o peptídeo de fusão; e terceiro (III), o qual apresenta o sítio de ligação ao receptor. A análise estrutural de virions maduros DENV revelou que o vírus possui uma organização com envelope icosaédrico com um núcleo esférico [2, 4, 10, 11].

As proteínas não estruturais são essenciais para a replicação do ARN viral. A glicoproteína não-estrutural 1 (NS1) (46 KDa) é transferida para o lúmen no retículo endoplasmático (RE) e é separada do extremo Carboxi-Terminal e da proteína E por peptidases sinal; NS1 é separada

de NS2 por protéases celulares residentes no RE; NS1 têm participação na replicação do ARN viral. Os níveis de proteína NS1 circulante no soro de pacientes infectados têm sido correlacionados com a gravidade da doença [3, 9].

A glicoproteína NS2 é primeiramente clivada em duas subunidades, NS2A e NS2B, que são pequenas moléculas hidrofóbicas associadas a membranas celulares. NS2A (22 KDa) está envolvida na montagem viral, replicação do ARN sendo que estudos mostraram que é um antagonista do interferão, e é separada de NS1 por protéases do RE. NS1-NS2A é clivada da NS1 e o Carboxi-terminal é gerado por clivagem da junção NS2A/2B por serina protéase do citoplasma. NS2B (14 KDa) actua como cofactor de NS3 protéase, sendo esta interacção responsável por todos os eventos de clivagem na maturação da poliproteína viral [3, 9, 12].

A NS3 (70 KDa) é uma glicoproteína multifuncional, com um domínio protéase na porção N-terminal, uma actividade ARN helicase no domínio central, domínio NTPase estimulado por ARN e um domínio ARN trifosfatase, ambos na porção Carboxi-terminal. A actividade ARN trifosfatase contribui na formação da estrutura cap do ARN, que promove a desfosforilação da extremidade 5' não traduzida do ARN viral, antes da adição desta estrutura. As actividades NTPase e ARN helicase auxiliam na síntese do ARN viral. A função de serina-protéase da NS3, juntamente com seu cofactor NS2B, é essencial para a clivagem da poliproteína e para a replicação do vírus [3, 9, 12].

NS4A (16 KDa) e NS4B (27 KDa) são proteínas hidrofóbicas, que estão associadas à membrana. Sua região Carboxi-terminal serve como sequência sinal para a deslocação da NS4B para o lúmen do RE. A NS4B regula a replicação através da sua interacção com a NS3.

A NS5 é a maior e mais conservada proteína viral. O ARN polimerase contém sequências homólogas dependentes da actividade polimerase para a replicação do ARN. A NS5 também apresenta metiltransferases envolvidas na formação de cap do ARN [3, 9, 13].

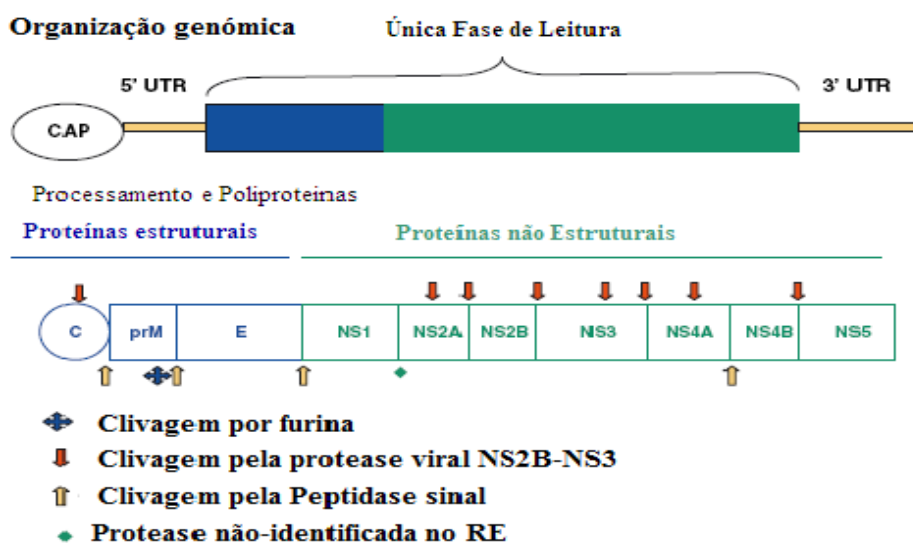


Figura 3. Organização genômica do vírus Dengue. Adaptado de: Melino, S. and M. Paci, *Progress for dengue virus diseases Towards the NS2B-S3pro inhibition for a therapeutic-based Approach*.

O género *Flavivirus* inclui mais de 70 vírus encontrados em todo o mundo. Eles são importantes patógenos para o homem, tendo como exemplos: vírus da Febre-amarela, Dengue, Encefalite Japonesa, Encefalite do Oeste do Nilo, Encefalite de St. Louis, entre outros [14].

4.1.1. Serotipos e genótipos do DENV

Com base em testes de neutralização, os DENV são classificados em quatro serotipos imunologicamente distintos: DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4. Em cada serotipo existem vírus com genótipos diferentes. Embora epidemiologicamente semelhantes, os quatro serotipos são geneticamente e antígenicamente distintos. A infecção com um serotipo leva a protecção permanente contra uma reinfecção homóloga e apenas parcial contra uma infecção heteróloga [15, 16].

Análises filogenéticas com base na sequência de 240 nucleotídeos correspondentes à região de junção das proteínas E e NS1 de diferentes cepas de DENV-1 e DENV-2, têm indicado a existência de cinco genótipos para cada um destes serotipos [17].

Para DENV-1 estes são: genótipo I, representado por cepas do Sudeste da Ásia, China e África Oriental; genótipo II com cepas de Taiwan e Tailândia; genótipo III da Malásia; genótipo IV representado por cepas da Austrália e a Oeste das ilhas do Pacífico; e genótipo V representado pelas cepas colectadas nas Américas, cepas da África ocidental e algumas cepas da Ásia [3, 17].

DENV-2 inclui cinco genótipos *major*: Dois ramos de genótipo Asiático, o genótipo Asiático I (cepas da Malásia e Tailândia) e Asiático II (cepas do Vietname, China, Taiwan, Sri Lanka e Filipinas); Genótipo Cosmopolita (cepas da Austrália, África oriental e ocidental, Ilhas do Pacífico e da Índia, e Índia continental); Genótipo americano (cepas da América latina, e cepas mais antigas colectadas no Caribe, ilhas do Pacífico e Índia); Genótipos do Oeste da Ásia/América (cepas da Tailândia do Vietname e cepas colhidas das Américas nos últimos 20 anos); Genótipo Silvestre do oeste da África e sudeste da Ásia [3, 17].

Vários estudos têm mostrado a existência de quatro genótipos de DENV-3: Genótipo I, Filipinas, Indonésia e Malásia; Genótipo II, Tailândia, Vietname e Bangladesh; Genótipo III, Sri Lanka, Índia, África e Samoa; e genótipo IV, Porto Rico, Américas Latina e Central e Taiti. [3, 16].

Os quatro genótipos *major* correspondentes ao DENV-4 são: Genótipo I com cepas da Tailândia, Filipinas, Sri Lanka e Japão; Genótipo II representado por cepas da Indonésia, Malásia, Taiti, Caribe e Américas; Genótipo III com cepas da Tailândia (distintas das outras tailandesas); e genótipo IV com cepas silvestres da Malásia [3, 16].

Esta classificação foi confirmada por outros estudos analisando a sequência completa do gene da proteína E e a região não codificadora 3' (RNC3') [16].

O papel das variações genéticas combinadas com a evolução epidemiológica viral, indicou que, genótipos específicos pertencentes a certos serotipos estariam associados a maior ou menos severidade da doença causada pelo vírus do Dengue [18].

A variação genética entre genótipos pode ser responsável pelas diferenças na infecção celular, principalmente em macrófagos, sugerindo que certas cepas possuem mais virulência que outras e assim, apresentem uma alta taxa de replicação viral resultando em aumento da severidade da doença [19].

Estudos mostraram que infecções primárias causadas por DENV-1, apresentaram uma taxa de morbidade alta e uma taxa de mortalidade baixa. É importante salientar que a infecção pelo DENV-1 causa diátese hemorrágica. Assim, quando indivíduos com úlcera péptica pré-existentes são infectados pelo DENV-1 podem sofrer hemorragias gastrointestinais severas pela indução de distúrbios hemostáticos [20].

A infecção pelo DENV-2 apresenta a maior variabilidade na patogenicidade. Alguns genótipos do DENV-2 parecem produzir pouca ou nenhuma doença, como é o caso do genótipo americano, e outros podem apresentar a doença grave como a FHD, relacionados aos dois ramos dos genótipos Asiáticos [3, 20].

As infecções causadas pelos genótipos do DENV-3 são similares ao DENV-1 e as infecções causadas pelo DENV-4 são semelhantes ao DENV-2. Em ambos, a resposta mais severa aparece aquando de uma segunda infecção [20].

4.2. Vector

Os quatro serotipos do vírus do Dengue têm uma história natural semelhante, incluindo os humanos como principal hospedeiro primário, e o *Aedes* do subgénero *Stegomyia* (principalmente *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* e o *Ae. polynesiensis*) como o vector primário [21].

O *Aedes (Stegomyia) aegypti (Linnaeus)* é o vector mais disseminado a nível mundial.

Nos últimos 25 anos, ocorreu um aumento da distribuição da epidemia causado pelo *Ae. Aegypti* [22]. A sua distribuição parece ser influenciada pelo clima, com uma preferência por *habitats* humanos, usando-os como sítio para descanso e desova artificial [23, 24].

Em Portugal, foi relatado a presença do mosquito *Ae. aegypti* na região Autónoma da Madeira entre 2004-2005, não tendo sido encontrado em anteriores estudos decorridos entre

1977-1979. Pesquisas realizadas em 2005 levaram a sua identificação pela Unidade de Entomologia Médica do Instituto de Higiene e Medicina Tropical. Em 2006, foram colectados mosquitos *Aedes aegypti* em seis divisões administrativas da cidade do Funchal. Campanhas para o controlo do vector foram efectuadas, contudo, ainda há descrições da ocorrência de *Ae. aegypti* nesta região [25].

Nos estudos realizados no passado foram encontrados a presença de *Ae. aegypti* em Portugal continental até o ano de 1956, sem registos posteriores. A sua presença esporádica tem sido documentada em vários países europeus nomeadamente Inglaterra, França, Itália, Malta, Croácia, Ucrânia, Rússia e Turquia [25].

O *Ae. aegypti* é um mosquito diurno com preferência pelas primeiras horas da manhã e ao entardecer, quando a temperatura e humidade exercem maior influencia relativamente a luz solar. As fêmeas põem ovos preferencialmente em água limpa e em lugares artificiais, incluindo tanques de águas, vasos de flores, pneus velhos, baldes e outros recipientes encontrados tipicamente ao redor ou dentro das habitações. Os ovos são postos na superfície da água ou próximo da superfície, e uma vez em fase embrionária podem resistir a desidratação por um ano. O transporte entre os continentes é muito facilitado [22].

As fases do ciclo de vida do *Ae. aegypti* são divididas em: ovo, larva (quatro estágios larvais), pupa e por fim a fase terrestre que corresponde ao mosquito adulto (Figura 4). A duração do ciclo de vida a partir da oviposição até alcançar a fase adulta é de aproximadamente de 10 dias [24].

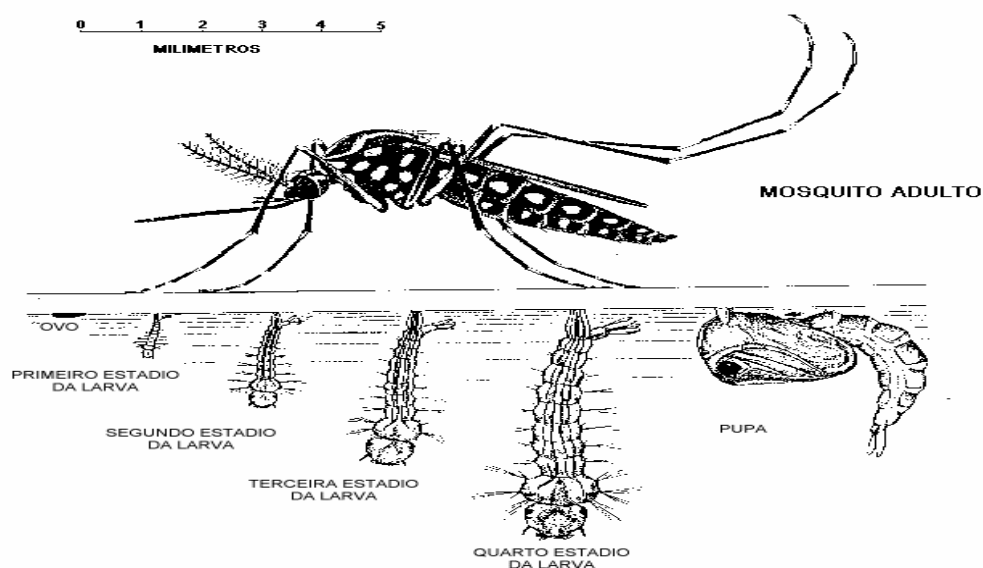


Figura 4. Ciclo evolutivo do *Ae. aegypti*.

O *Ae. aegypti* (Figura 5) tem uma coloração castanha escura, e o tórax possui tegumento coberto por escamas castanhas escuras e outras branco-prateadas. O abdómen é escuro, mas

pode possuir manchas branco-prateadas formando anéis, e as pernas traseiras possuem faixas brancas dando a ilusão de se tratar de listras [24].



Figura 5. Fêmea adulta do *Ae. Aegypti*. Adaptado de: Bulugahapitiya, U., et al., *Dengue fever in travellers: A challenge for European physicians*.

Uma vez que o vector *Ae. aegypti* não existia na Ásia e na Oceânia na época do estabelecimento do comércio marítimo, é provável que o *Ae. albopictus* tenha sido o vector original para o Dengue nesses locais. A associação do *Ae. aegypti* como vector, pode ter ocorrido apenas durante os últimos séculos com o avanço do comércio marítimo, disseminando as larvas do mosquito para os trópicos [3, 26].

O *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse) (Figura 6) referido como “Mosquito Tigre”, pode albergar os quatro serotipos do vírus do Dengue, entre outros vírus. Adapta-se melhor em zonas rurais e à volta das cidades, cuja vegetação propicia o descanso e facilita a deposição dos ovos. O *Ae. albopictus* alimenta-se de sangue humano, bem como sangue de outros animais, o que o torna uma zoonose importante [27, 28].



Figura 6. *Aedes albopictus*. Adaptado de: European Centre for Disease Prevention and Control.

Originalmente o *Ae. albopictus* era restrito ao sudeste asiático e ilhas do pacífico. Porém, nas últimas décadas espalhou-se para outras áreas, nomeadamente o continente Europeu, Médio Oriente e Américas. A introdução do vector nesses continentes está associada ao transporte de ovos em estado de latência nos pneus. O mosquito vector foi introduzido na Europa em 1970 e está bem estabelecido em 12 países, contudo tem sido encontrado no norte da Europa (Figura 7), nomeadamente na Eslovénia, Bélgica, França, Suíça, Espanha e principalmente na Itália (Génova) onde se tornou endémico [7, 29, 30].

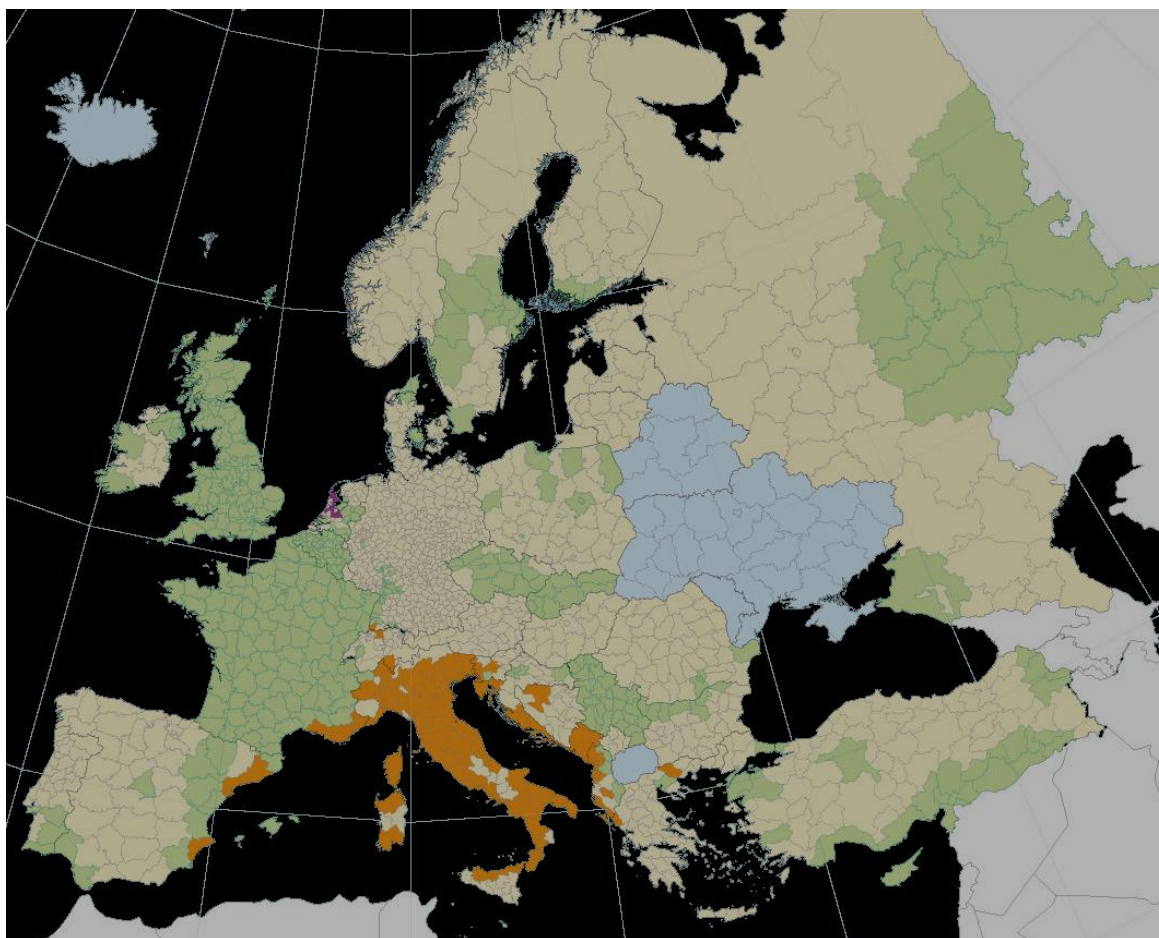


Figura 7. Distribuição do *ae. albopictus* na europa em 2009. Legendas: laranja- população do mosquito em expansão, roxo- população de mosquitos observada dentro das habitações, verde- não detectada nos últimos 5 anos, amarelo claro- não encontrados recentemente na fauna dos mosquitos, azul- sem informação nos estudos de mosquitos, cinzento claro- não incluído no estudo. Adaptado de: European Centre for Disease Prevention and Control.

A capacidade vectorial engloba factores ambientais, ecológicos, comportamentais e moleculares, subjacente ao papel do insecto na transmissão dos patógenos. A competência vectorial é um subcomponente da capacidade vectorial e é definida como capacidade

intrínseca do vector em se tornar infectado, permitir a replicação viral e posteriormente transmitir o patógeno a um hospedeiro susceptível.

A capacidade vectorial entre as duas espécies é diferente, sendo que o *Ae. albopictus* é um vector do Dengue menos eficiente do que o *Ae. aegypti*. A explicação está na diferença em relação ao comportamento alimentar e de oviposição. O *Ae. aegypti* é mais adaptado ao meio urbano, alimentando-se somente de sangue humano, o que potencializa o contacto com os humanos tornando-se mais eficiente [27].

Ao comparar a competência vectorial de ambos os vectores, o *Ae. albopictus* é mais susceptível à infecção do intestino médio que o *Ae. aegypti*. Porém, a taxa de disseminação do vírus para outros tecidos do mosquito é menor no *Ae. albopictus*. Consequentemente, a difusão do vírus no vector *Ae. albopictus* é menor comparando com o *Ae. Aegypti*, o que o torna um vector mais eficiente para causar epidemias do Dengue [27].

4.2.1. Alterações climáticas e impacto sobre o vector

Num mundo onde o clima não é constante, há necessidade de compreender os principais impactos da alteração climática a médio e longo prazo sobre as doenças causadas por vectores, sendo fundamental para o desenvolvimento de medidas que permitam a diminuição do impacto negativo destas alterações sobre a população mundial.

A mudança constante no clima global tem o potencial para alterar a exposição das populações às doenças transmitidas por vectores, ao modificarem o funcionamento de muitos ecossistemas, das suas espécies e ainda alterar a distribuição geográfica dos vectores, condições que podem ser favoráveis para o desenvolvimento de doenças. Um aumento da temperatura global irá resultar em expansão dos níveis de temperaturas medianas para áreas com maiores altitude e latitude. Grandes efeitos serão vistos com o aquecimento sobre a sobrevivência, comportamento e transmissão de doenças, principalmente em zonas de clima temperado o que aumentará a receptividade à introdução ou reintrodução dos vectores [31, 32].

O potencial aumento destas doenças está relacionado com a sensibilidade que os seus sistemas biológicos têm às variáveis climáticas (por exemplo: temperatura, precipitação e humidade), e o efeito directo que o clima possui sobre a distribuição geográfica, transmissão vectorial, aumento da extensão do período de época de transmissão e na interacção dos vectores com os humanos [33].

A maioria das doenças transmitidas por vectores exhibe um padrão de distribuição sazonal, o que sugere que são sensíveis à variação do tempo.

A pluviosidade actua principalmente ao nível dos locais de armazenamento das larvas (também conhecido como criadouros) dos vectores e dos *habitats* dos hospedeiros

vertebrados, sendo que na sequência de episódios de pluviosidade intensa, o aumento de águas superficiais pode proporcionar novos locais de criadouro para os vectores e, ao mesmo tempo, aumentar a densidade de vegetação permitindo assim a expansão da população de hospedeiros vertebrados [33].

No caso de cheias, estas podem, por um lado, eliminar os *habitats* e destruir a fase larval dos vectores, e por outro lado intensificar o contacto mais próximo entre o hospedeiro vertebrado e o Homem. Em situações de pluviosidade fraca, também pode ocorrer o aumento de locais de criadouros dos vectores devido à lentificação do fluxo dos rios. Em condições relativamente húmidas os *habitats* tornam-se mais favoráveis, contribuindo para o aumento da distribuição geográfica e da abundância sazonal dos vectores [33, 34].

O aumento da temperatura é um factor crítico que actua sobre a população vectorial, a nível individual (curto prazo), e a nível genético (longo prazo). Exerce influência sobre a capacidade e a distribuição do vector, na medida em que acelera a sua taxa metabólica, aumenta a taxa de crescimento e a frequência de refeições sanguíneas. No entanto, pode também afectar a eficiência pelo qual o vector transmite o agente patogénico, influenciando o período de incubação do agente patogénico no vector e a extensão da época de transmissão [33, 35].

O aquecimento tem sido observado em todos os continentes, com a maior mudança a ocorrer no hemisfério norte. A temperatura mínima tem aumentado mais rapidamente que a temperatura máxima, resultando no estreitamento da amplitude térmica diurna na maioria das regiões do mundo. A intensificação do “efeito estufa” contribui para o aquecimento global, sendo projectadas várias alterações no sistema climático global [35].

Para o ano de 2100, projecta-se um aumento da temperatura média global entre 1,4°C e 5,8°C relativamente à média de 1961 e 1990, aumento este que será mais acentuado nas regiões continentais do que nos oceanos, perturbando o actual regime de chuvas que lhe estão associadas [33].

Incluído no cenário climático previsto para o Sul da Europa, as projecções para Portugal indicam que, até ao final do século XXI, haja um aumento da temperatura máxima no Verão, no continente, entre 3°C na zona costeira e 7°C no interior, acompanhados por um incremento da frequência e intensidade de ondas de calor. Todos os índices climáticos relacionados com temperatura exibem também alterações do cenário climático. Os aumentos são grandes no número de dias quentes (máxima superior a 35°C) e de noites tropicais (mínimas superiores a 20°C), enquanto são esperadas reduções em índices relacionados com tempo frio (por ex., dias de geada ou dias com temperaturas mínimas inferiores a 0°C), porém com um aumento da precipitação no inverno [33, 36].

A maior preocupação devido a alteração climática para a Europa está focada na potencial reintrodução da malária na Europa de leste e na introdução do DENV no sul da Europa, nomeadamente em Portugal. O vector do Dengue é capaz de se adaptar aos ambientes urbanos, assim, com o aumento populacional registados nas últimas décadas e devido a alta concentração populacional sem a infra-estrutura necessária para a recolha e distribuição de

água, ocorre um aumento dos depósitos que servem para a reprodução do *Aedes aegypti*. Como tal, as alterações climáticas, incluindo o aumento da temperatura, podem acelerar a transmissão do Dengue, mesmo durante períodos de baixa precipitação, pois os recipientes que armazenam água servem de criadouro para as larvas do vector. Este processo pode ainda alargar a época de transmissão do vírus ao aumentar o tempo de desenvolvimento, sobrevivência e reprodução em locais de clima temperado, intensificar a actividade vectorial, bem como alterar a frequência da deposição dos ovos e a adaptação do vector a novos ambientes [31-34].

4.3. Ciclo de vida do vírus

A infecção pelo vírus do Dengue não tem um efeito patogénico directo no vector mosquito. Após a ingestão de sangue pela fêmea (hematófaga) do *Ae. aegypti* contendo o vírus, obtido a partir de um hospedeiro vertebrado virémico (fase de viremia 4-12 dias), ocorre uma infecção das células epiteliais do intestino do mosquito, que propaga-se através da lâmina basal do intestino para a circulação e infecta as glândulas salivares do vector mosquito. O período de incubação intrínseca dentro do mosquito tem duração de 8-12 dias após o qual o mosquito pode infectar. A vida média do mosquito *Aedes aegypti* é de 45 dias e, nesse período, um único mosquito pode contaminar até 300 pessoas [21].

Finalmente, ao picar o hospedeiro (figura 8) a fêmea do mosquito regurgita a saliva, na qual encontram-se substâncias anticoagulantes evitando a coagulação durante a alimentação, e por conseguinte o vírus é introduzido dentro da corrente sanguínea da vítima. Quando o homem é contaminado pela picada do mosquito, o vírus fica incubado em seu organismo de 2 a 15 dias (com médias de 5 a 7 dias), apenas após esse período é que surgirão os primeiros sintomas da doença. O período em que o mosquito pode ser contaminado ao picar um humano infectado vai desde um dia antes de aparecer a febre no homem até seis dias depois da manifestação desta. Fora deste período o mosquito pode picar o homem, mas não haverá contaminação. O aparelho genital do mosquito também fica parasitado transmitindo o vírus para os ovos do mosquito aquando da deposição dos ovos. Uma vez que o mosquito é contaminado fica capacitado a transmitir o vírus por toda a vida [21, 37].

Mosquito alimenta-se do homem que está em fase de viremia 4-12 dias.



Período de incubação no mosquito 8-12 dias



Mosquito infectado, inocula vírus no homem (período de incubação de 5-7 dias).

Figura 8. Ciclo da transmissão do Vírus do Dengue.

A partir do momento que o vector fêmea injecta o vírus na corrente sanguínea do hospedeiro humano, ocorre a introdução do vírus em células localizadas na epiderme e derme, por endocitose mediada por clatrina, via interacção entre glicoproteína de superfície viral e receptores específicos de superfície celular. Estudos recentes demonstram que as células dendríticas (CD) imaturas e as células de Langerhans, as quais normalmente residem na epiderme, apresentam moléculas de superfície celular que são reconhecidas pelo vírus do Dengue, tal como, a molécula *C-type lectin ICAM3-grabbing non-integrin* (DC-SING), e constituem alvos potências para a infecção inicial do vírus no hospedeiro humano. Em seguida, as células infectadas migram para os linfonodos, onde os monócitos e macrófagos são recrutados, tornando-se assim alvos da infecção. Consequentemente, a infecção é ampliada e o vírus é disseminado através do sistema linfático. Como resultado da viremia primária, várias células da linhagem mononuclear, incluindo monócitos derivados do sangue, DC mielóide, e macrófagos do baço e do fígado serão infectados [38].

Estudos usando imunofluorescência e imunohistoquímica (IHC) revelaram a presença de antígenos virais em vários tecidos, incluindo fígado, baço, linfonodos, timo, pulmão, rim e

medula óssea, mas principalmente em células mononucleares fagocíticas do sangue periférico e leucócitos [39, 40].

O primeiro passo no processo de infecção viral é a ligação a um receptor na superfície celular (figura 9). O vírus aborda a célula ao ligar-se a receptores de superfície, como o sulfato de heparina, CD209 ou DC-SIGN (*Intercellular adhesion molecule-3 grabbing non-integrin*), e o receptor para a porção constante dos anticorpos (Fc) de imunoglobulina, entre outros. Esta etapa é mediada pela proteína do envelope E (identificada como uma proteína de ligação para o DENV) que permite a penetração por endocitose na célula hospedeira [9, 11, 13].

As membranas celulares e virais fundem-se, e uma vez dentro da vesícula endocítica, ocorre uma redução do pH (acidificação) do endossoma, fazendo com que a proteína do envelope viral sofra uma mudança conformacional irreversível e a partir de um dímero forme um trímero. Esta mudança facilita a libertação do ARN viral no citoplasma das células infectadas, onde ocorre a tradução e replicação do ARN viral [8, 13, 21].

O ARN do vírus do Dengue é traduzido em associação com membranas do retículo endoplasmático rugoso (RER). Como ocorre com outros vírus ARN de polaridade positiva, o genoma do vírus actua como ARN mensageiro (ARNm) e utiliza factores, ainda desconhecidos, da célula hospedeira para traduzir a poliproteína viral. Após o início da tradução do genoma viral ocorre a troca para a síntese de um genoma de sentido negativo (3'-5') intermediário, o qual irá servir como molde para a síntese de múltiplas cópias do ARN viral de sentido positivo (5'-3') [8, 21].

Ciclos sucessivos de tradução produzem múltiplas cópias das 3 proteínas estruturais e das 7 não-estruturais, as quais juntamente com o ARN viral irão participar da formação, maturação e secreção da partícula viral, que ocorre no complexo de Golgi. As partículas virais imaturas são então clivadas por protéases do tipo furina (celulares e virais), resultando na formação de partículas virais maduras, as quais são infecciosas. Partículas subvirais incompletas também são clivadas pelas furinas celulares e virais. A libertação das partículas virais maduras completas ou subvirais ocorre por exocitose [8, 21].

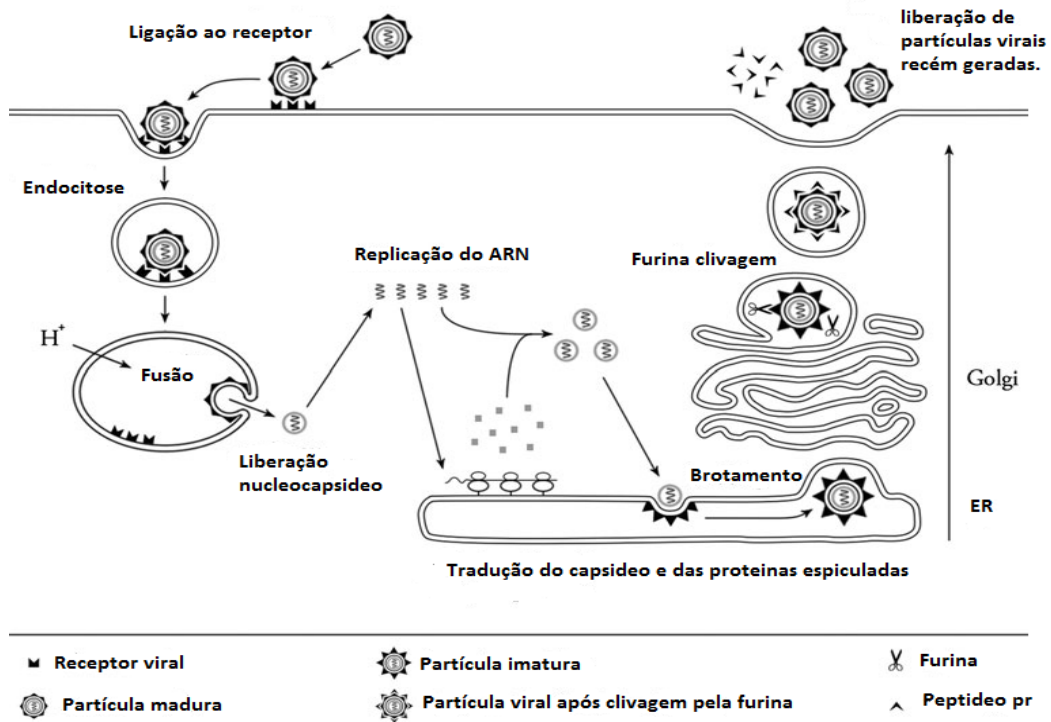


Figura 9. Ciclo do vírus do Dengue. Adaptado de: Rodenhuis-Zybert, I.A., *Dengue virus life cycle*.

5. Fisiopatologia

Apesar dos grandes avanços dos últimos anos para o entendimento da biologia do vírus do Dengue, os mecanismos pelos quais o vírus causa doença grave estão sendo esclarecidos. Uma complexa rede de interações entre factores virais e do hospedeiro acabam por desencadear as duas principais apresentações clínicas da doença, a Febre do Dengue (FD) e a Febre Hemorrágica do Dengue/Síndrome do Choque do Dengue (FHD/SCD) [8].

Como um único indivíduo pode ser infectado pelos quatro serotipos do vírus, verificou-se que esses mesmos indivíduos possuem uma maior probabilidade de desenvolver a FHD.

A literatura vigente sugere que o mecanismo que proporciona a FHD seja composto por três componentes interactivos necessários para indução imune do Dengue. O primeiro compreende os Anticorpos Potencializadores da Infecção (ADE). Um segundo componente é desregulação da imunidade mediada por células onde ocorre uma reacção cruzada na resposta da célula T ao vírus, e o terceiro componente é a activação do complemento. Estes três sistemas interagem entre si e reforçam-se mutuamente criando uma situação de potencial risco de vida durante uma segunda infecção pelo vírus do Dengue [18, 41].

A fisiopatologia primária encontrada na FHD é um aumento abrupto da permeabilidade vascular, que leva ao extravasamento do plasma para o espaço extravascular, resultando em hemoconcentração (hematócrito elevado) e diminuição da pressão sanguínea. O aumento da permeabilidade vascular é o resultado de lacunas endoteliais no leito vascular periférico [42].

Durante a fase inicial da infecção ocorre uma trombocitopenia como resultado da hipocelularidade da medula óssea, resultante da infecção directa do vírus sobre as células estaminais hematopoiéticas e células do estroma. Quando a febre se instala, ocorre a hipercelularidade da medula óssea, e o aumento da destruição imuno-mediada das plaquetas, (diminuição da contagem plaquetária no sangue periférico pela produção de anticorpos antiplaquetários) levando assim à trombocitopenia [42].

5.1. Teoria dos Anticorpos Potencializadores de Infecção

A teoria mais aceite para explicar a FHD e a SCD é a dos anticorpos potencializadores da infecção (*antibody dependent enhancement*, ADE).

De acordo com esta teoria, que inicialmente foi referida por Halstead em 1970, os pacientes que sofrem uma segunda infecção por um vírus de serotipos heterólogos apresentam uma probabilidade maior de desenvolver FHD/SCD [43]. Segundo esta hipótese (Figura 10), os anticorpos heterólogos pré-existentes reconhecem o vírus infectante, formam-se de complexos antígeno-anticorpo, os quais acabam sendo reconhecidos e internalizados por

células mononucleares, especialmente macrófagos, através de seus receptores para a porção constante dos anticorpos (Fc), sem neutralizar o vírus.

Uma vez que os anticorpos heterólogos não são neutralizados, as partículas virais acabam por replicar dentro do macrófago, o que permite um aumento do número de células infectadas, podendo levar a uma grande carga viral, particularmente no início da infecção e que conseqüentemente exacerba a infecção [42, 44, 45].

Concomitantemente, anticorpos homólogos (ou homotípicos) em níveis sub-neutralizantes também são capazes de potencializar a infecção pelo vírus do Dengue pelo mesmo mecanismo [46].

Uma das provas mais importantes a favor da teoria do ADE é o exemplo do que aconteceu em Cuba. Em 1977 ocorreu uma epidemia de Dengue causada pelo serotipo 1, que infectou 44,5% da população urbana de todos os grupos etários, causando uma forma branda da doença. Após quatro anos em 1981, foi introduzido em Cuba o serotipo 2, vindo da Ásia, causando novamente uma grande epidemia, desta vez, com casos FHD/SCD [47].

Conforme esperado, na epidemia de 1981, crianças com 1 e 2 anos de idade não apresentaram doença grave, uma vez que haviam sido concebidas após a epidemia de 1977-1978, não tendo sido infectadas com o serotipo 1 do vírus. Contudo, observou-se que outro grupo de crianças nascidas de mães que estiveram em contacto com o vírus de 1977 desenvolveram FHD/SCD, pois, possuíam os anticorpos maternos circulantes. Esta observação é consistente com a ideia que anticorpos pré-existentes podem potencializar a infecção levando ao desenvolvimento de FHD [1, 47, 48].

Porém, existe uma série de possíveis factores que contribuem para explicar que a teoria do ADE sozinha não é a única causa de FHD/SCD. A observação de casos de FHD que acontecem em infecções primárias e de que nem todas as infecções secundárias resultam em FHD sugere que outros factores contribuem para a severidade da doença. Entre eles pode-se citar características virais, resposta imunológica e características genéticas do hospedeiro [41, 47, 49].

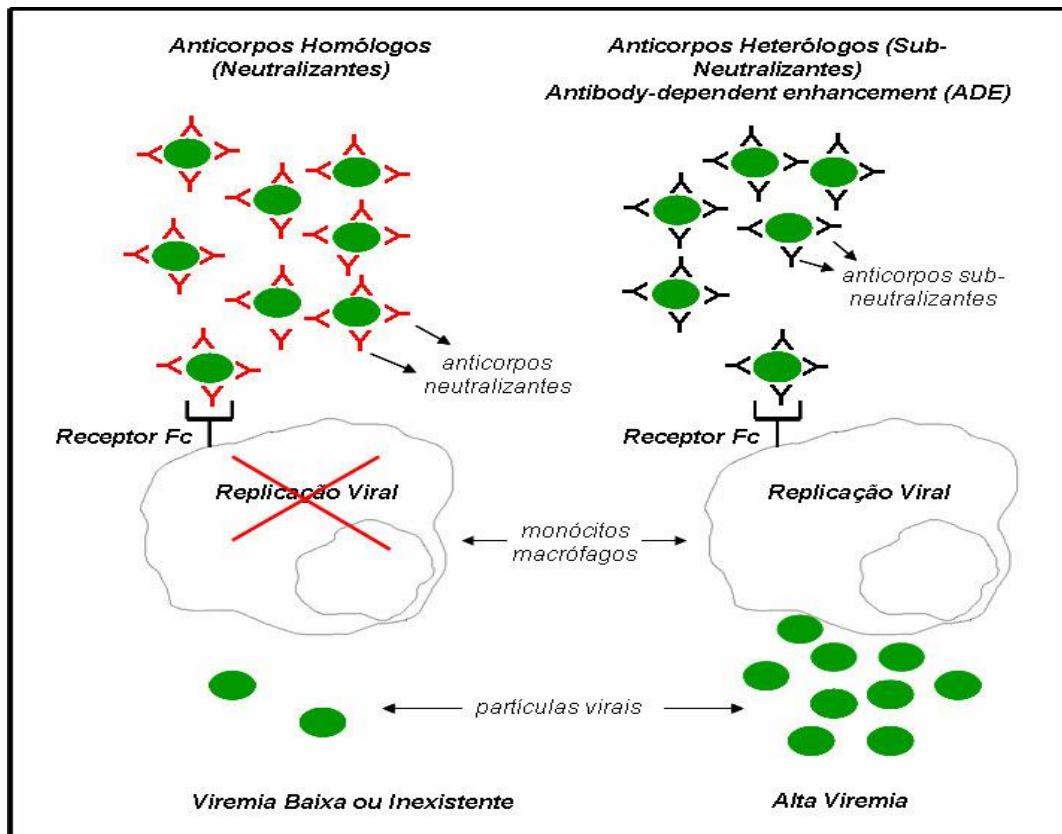


Figura 10. Representação esquemática do fenômeno dos anticorpos potencializadores de infecção sugerido por Halstead S B 1973.

5.2. Papel dos Linfócitos T na infecção pelo vírus do Dengue

A participação dos linfócitos T de memória activados em uma infecção secundária com serotipos heterólogos pode contribuir para o desenvolvimento da FHD, em um modelo conhecido como teoria do pecado original de células T (*original antigenic sin*) [38].

Durante uma infecção secundária as células T em contacto com macrófagos infectados tornam-se activadas. Os linfócitos T activados apresentam uma resposta imune inapropriada para um serotipo heterólogo, devido a expansão clonal de células T, que apresentam reacção cruzada à uma infecção prévia. Estas células possuem baixa afinidade para o serotipo do vírus causador da infecção, produção alterada de citocinas e consequentemente tornam-se ineficientes a eliminar o vírus, aumentando assim a viremia e contribuindo para o desenvolvimento da FHD.

Foi demonstrado que em muitos pacientes com infecção secundária heteróloga aguda pelo DENV, os linfócitos T CD8+ gerados ligam-se fracamente ao complexo *major* de histocompatibilidade (MHC) que apresentam epítomos do vírus causador da infecção. Ao contrário, estes linfócitos ligam-se mais fortemente aos epítomos do vírus causador da

infecção primária, além de, apresentarem um fenótipo apoptótico que parece destinar estas células a morte celular programada antes de exercerem sua função antiviral e controlarem a infecção [8, 41, 50].

Uma das consequências da infecção secundária e activação de células T é a produção de citocinas pró-inflamatórias como IFN- γ , IL1- β , IL-8 e FNT- α , e citocinas anti-inflamatórias como IL-6 e IL-10 [51].

Estudos revelaram que citocinas como FNT- α de origem macrófágica e linfocitária encontram-se em níveis séricos elevados no caso de FHD. O FNT- α estimula as células do endotélio vascular e monócitos a libertar factor de activação plaquetária (PAF) e óxido nítrico (ON) o que contribui para o aumento da permeabilidade vascular e extravasamento do plasma. Estimula ainda a trombocitopenia e a libertação de histamina pelos basófilos. O FNT- α também tem a capacidade de regular a expressão de factor tecidual em monócitos e diminui a expressão de trombosmodulina no endotélio, possui um efeito directo na produção de IL-6 e um efeito indirecto na coagulação e fibrinólise [8, 38, 44].

A IL-6 sérica elevada é observada em alguns pacientes com FHD, actua como um pirógeno endógeno aumentando a hipertermia e juntamente com outros mediadores promove inicialmente a coagulação intravascular, induzindo monócitos sanguíneos e as células endoteliais vasculares a expressarem factor tecidual, o que resulta na activação de ambas as vias de coagulação, extrínseca e intrínseca, culminando na geração de fibrina e no aumento da destruição das plaquetas o que leva a trombocitopenia [38, 49].

A IL-8, juntamente com a elastase secretada por neutrófilos activados facilita o dano endotelial, activa o complemento, coagulação e a cascata fibrinolítica. Encontra-se elevado na efusão pleural de doentes que apresentam FHD [9, 38, 48].

A IL-10 é produzida por monócitos e, está associada à diminuição dos níveis das plaquetas, à regulação da resposta inflamatória e inibe a expressão de Factor tecidual [8, 38].

Deste modo, a participação de linfócitos T, juntamente com produção de citocinas e mediadores químicos (figura 11), apresentam efeito sinérgico que acabam por aumentar a permeabilidade vascular, a indução de trombocitopenia, e a ocorrência de hemorragia o que contribui para o desenvolvimento de FHD/SCD [38].

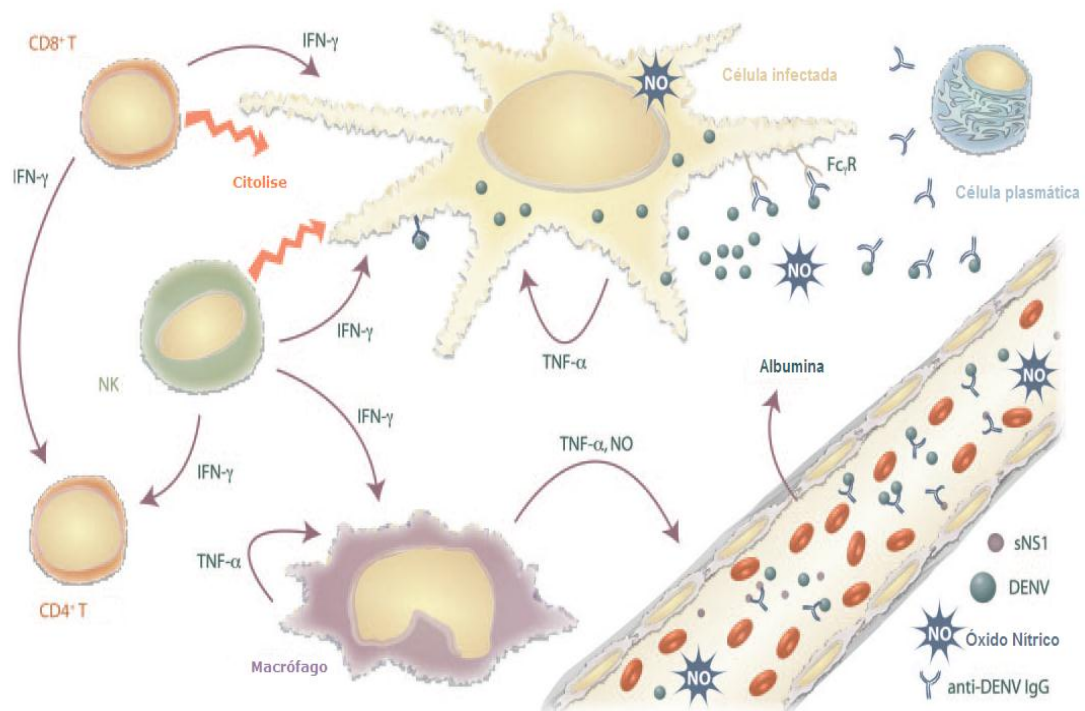


Figura 11. Patogénese da infecção por vírus do dengue. Adaptado de: Clyde, K. *Recent advances in deciphering viral and host determinants of dengue virus replication and pathogenesis*

5.3. Activação do complemento

O sistema do complemento é um dos principais componentes humorais da imunidade inata e interage juntamente com o sistema hemostático para providenciar a primeira linha de defesa contra patógenos [48].

No que respeita à DENV, os investigadores notificaram que na fase de redução da febre, quando o extravasamento do plasma pode se tornar evidente, apareceram altos níveis de produtos do complemento activados no plasma como o C3a e C5a, seguido de redução acentuada dos componentes do complemento em pacientes com SCD [38, 48].

As circulações de complexos imunes estão presentes em doentes com FHD, o que activa o complemento. Altos níveis de NS1 e a existência de anticorpos pré existentes podem também ser o desencadeador da activação do complemento [48, 49].

C3a é uma anafilotoxina produzida pela activação do complemento capaz de alterar a vasculatura, assiste ao recrutamento de monócitos, macrófagos e células dendríticas, regula a vasodilatação e aumenta a permeabilidade dos pequenos vasos sanguíneos. Nos macrófagos, eosinófilos e neutrófilos a anafilotoxina pode induzir o *stress* oxidativo, à secreção de histamina pelos basófilos e mastócitos e pode aumentar ainda o efeito de citocinas pro-inflamatórias tais como a INF- α e IL-6 [41].

C3a e C5a agem em receptores específicos para produzir resposta inflamatória local, e quando secretadas em larga escala causam uma resposta sistêmica geral, podendo levar ao colapso circulatório [38, 41].

5.4. Variabilidade genética do hospedeiro

Dados epidemiológicos sugerem que factores relacionados com o hospedeiro, como a idade, género e etnia influenciam a gravidade da doença [44].

Várias epidemias auxiliaram na investigação dos factores de risco, onde se observou um maior desenvolvimento de casos de FHD em pessoas que possuíam anticorpos pré-existentes a outros serotipos de vírus, maior incidência em pessoas mais jovens, menores de 15 anos, e em maiores de 60 anos, género (feminino), mais frequente em caucasianos e com maior ocorrência em doentes com doenças crónicas nomeadamente asma, diabetes mellitus e anemia [11, 42, 44, 47, 49].

A influência genética, nomeadamente genes dos antígenos leucocitários humanos (HLA) pode influenciar a susceptibilidade para a ocorrência de FHD [50].

6. Manifestações clínicas

O Dengue apresenta um quadro clínico variável, desde formas subclínicas, passando por formas benignas, autolimitadas a formas graves, e potencialmente fatais.

A identificação precoce dos casos de doença é de vital importância para a tomada de decisão e implementação de medidas no momento oportuno, visando a prevenção da morbidade e mortalidade. Na abordagem ao doente com suspeita de Dengue, é fundamental uma anamnese, bem como um exame físico detalhado.

A infecção com qualquer um dos quatro serotipos do vírus pode condicionar duas formas clássicas de apresentação, Dengue Clássica e Hemorrágica (associado ou não a choque séptico)[26, 52-54].

O Dengue Clássico constitui a forma mais comum de apresentação, manifestando-se por um início súbito de febre elevada (39-40°C), mialgias intensas e cefaleias frontais e retro orbitárias. Aproximadamente ao 3º dia de doença surge um exantema maculopapular evanescente no tórax, face e superfícies flexoras dos joelhos que permanecem por 2-3 dias (figura 12). A sintomatologia tem duração de 5-7 dias, seguindo um período de defervescência, o qual pode acompanhar-se por sensação de ardor e descamação palmo-plantar [8, 51]. Nesta fase, pode surgir prostração, hemorragias, sobretudo petéquias, púrpuras, gengivorragias e epistáxis, seguindo-se o estado de convalescença que pode ter a duração de algumas semanas e que é caracterizado por marcada astenia [1, 9, 52, 55].



Figura 12. Exantema máculo-papular causado pelo vírus do Dengue com zonas de pele integra. Adaptado de Bulugahapitiya, U., *Dengue fever in travellers: A challenge for European physicians*.

No Dengue Hemorrágico, a evolução do quadro após a defervescência é mais grave, manifestando-se como sépses grave, com coagulação intravascular disseminada e aumento da permeabilidade vascular, o que leva a hemorragias e poliserosite (derrame pleural/pericárdio e ascite). Esta forma pode evoluir para um quadro de choque séptico com mortalidade significativa.[54, 56]

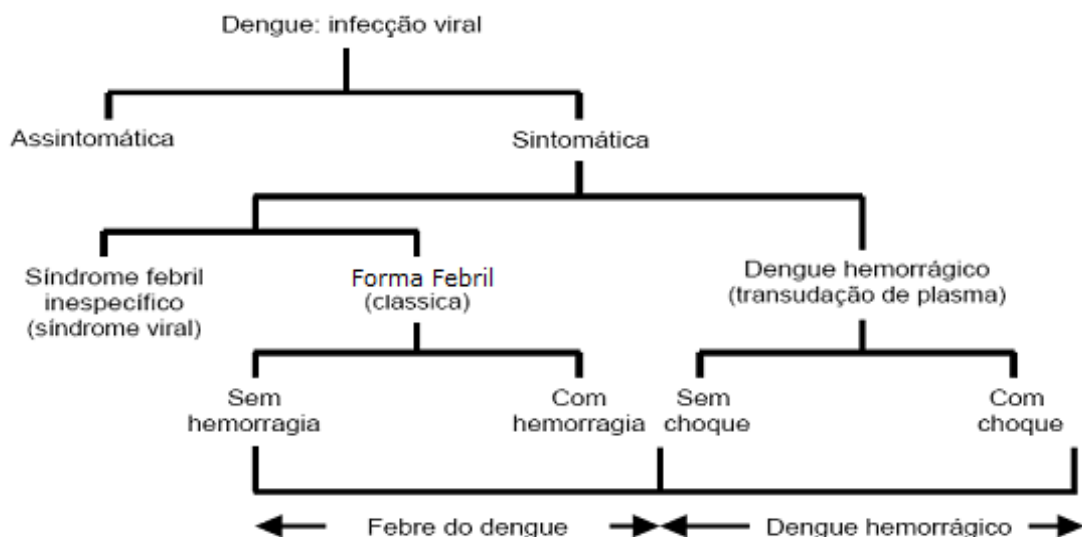


Figura 13. Manifestações da infecção por vírus do Dengue (OMS), adaptado de: WHO, Dengue Haemorrhagic Fever, Diagnosis, treatment, prevention and control, Second Edition, Genève, 1997

A nível laboratorial, no Dengue Clássico, é frequente detectar-se linfocitose, trombocitopenia ligeira e elevação discretas das provas hepáticas. No Dengue Hemorrágico as alterações relevantes são as observadas na coagulação intravascular disseminada, como trombocitopenia acentuada (inferior 100,000 plaquetas/mm³), prolongamento do tempo de coagulação, hipofibrinogenemia e aumento dos produtos de degradação da fibrina [42, 49, 57].

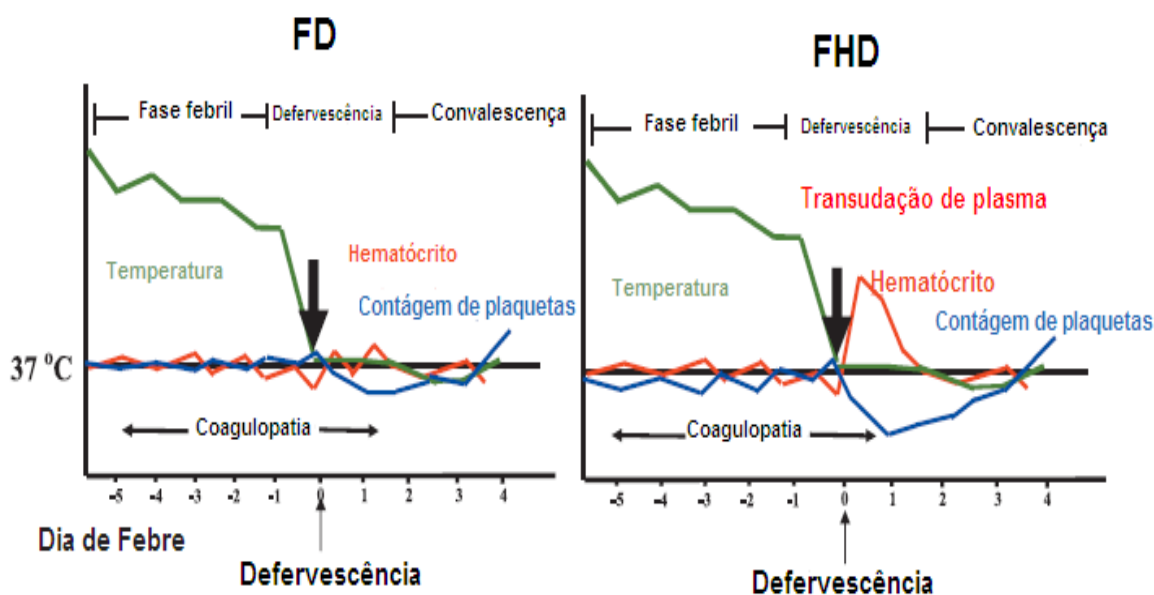


Figura 14. Curso clínico do Febre do Dengue e Febre hemorrágica do Dengue. Adaptado de: Srikiatkachorn, A., *Plasma leakage in dengue haemorrhagic fever*.

O Dengue Hemorrágico pode manifestar-se por vários graus de classificação, consoante a sintomatologia (figura 15).

FD/FHD	Grau	Clínica	Exames Laboratoriais
FD		Febre com 2 ou mais dos seguintes sintomas: cefaleias, dor retro orbitaria, mialgia e artralgia.	Ocasionalmente Leucopenia, trombocitopenia, sem evidência de extravasamento plasmático.
FHD	I	Febre com sintomas acima mais “prova do torniquete positiva”.	Trombocitopenia <100,000, Hematócrito superior à 20% do valor normal.
FHD	II	Sintomas acima mais hemorragia espontânea.	Trombocitopenia <100,000, Hematócrito superior à 20% do valor normal.
FHD	III	Falência circulatória com pulso rápido e fraco, hipotensão, agitação e pele fria e viscosa.	Trombocitopenia <100,000, Hematócrito superior à 20% do valor normal.
FHD	IV	Choque profundo, com pressão e pulso não detectáveis.	Trombocitopenia <100,000, Hematócrito superior à 20% do valor normal.

Figura 15. Graus de gravidade do Dengue hemorrágico. Adaptado de: WHO, *Dengue Haemorrhagic Fever, Diagnosis, treatment, prevention and control*, Second Edition, Genève, 1997

6.1. Atendimento ao doente com manifestações de Dengue

Suspeita-se que um doente está infectado pelo vírus quando apresenta doença febril aguda com duração de sete dias, acompanhado de sintomas inespecíficos (febre, cefaleias, dor retro orbitaria, mialgia e artralgia), e por ter estado, nos últimos 15 dias, em área endêmica [52, 54].

A anamnese deve incluir um questionário sobre padrão de viagem, origem geográfica do doente e pesquisa sobre quais os agentes patológicos provenientes dessas regiões [1, 52].

No exame físico torna-se indispensável a inspecção à procura de manifestações hemorrágicas na pele, mucosas e escleróticas, bem como avaliar o estado de hidratação, verificar a pressão arterial, pulso, enchimento capilar, frequência respiratória, temperatura e peso [52].

No tórax os aspectos pertinentes a serem pesquisados são: sinais de desconforto respiratório e de derrame pleural e pericárdico. No exame abdominal deve-se pesquisar a presença de hepatomegalia, dor e ascite [52].

Um dos principais exames a ser realizado durante a avaliação é a “prova do laço ou do torniquete”, esta reflecte a fragilidade capilar, mostra-se positiva em quase todos os casos de FHD. A prova é executada ao se desenhar um quadrado de 2,5cm no antebraço, calcula-se um valor médio entre pressão arterial sistólica e diastólica, insufla-se o manguito até ao valor médio, mantendo-o por 5 minutos. A prova será positiva se houver 20 ou mais petéquias no quadrado [57].

6.2. Diagnóstico Laboratorial

Dois padrões de respostas serológicas podem ser observados em doentes com infecção pelo vírus do Dengue, dependendo do estado imunológico, resposta de anticorpo primária e secundária. A resposta de anticorpos primária é visto em indivíduos que não são imunes ao *Flavivirus*, já a resposta secundária é observada em indivíduos que já tiveram uma infecção prévia por *Flavivirus* [58].

Quando uma pessoa infectada com o vírus do Dengue apresenta febre, a infecção está amplamente disseminada (Figura 16). O vírus é encontrado no plasma, no sangue e em alguns tecidos, especialmente naqueles do sistema imunitário, aproximadamente 2 dias antes do início da doença até 5-7 dias depois, período correspondente à fase febril [49, 59, 60].

Durante a fase inicial da doença quando o doente procura o médico (primeiros dias de febre e mal estar), o diagnóstico só é possível por isolamento do vírus, genoma viral ou a detecção do antígeno. No final da fase aguda da infecção geralmente no período da defervescência, a serologia é o método de escolha para o diagnóstico [1, 60, 61].

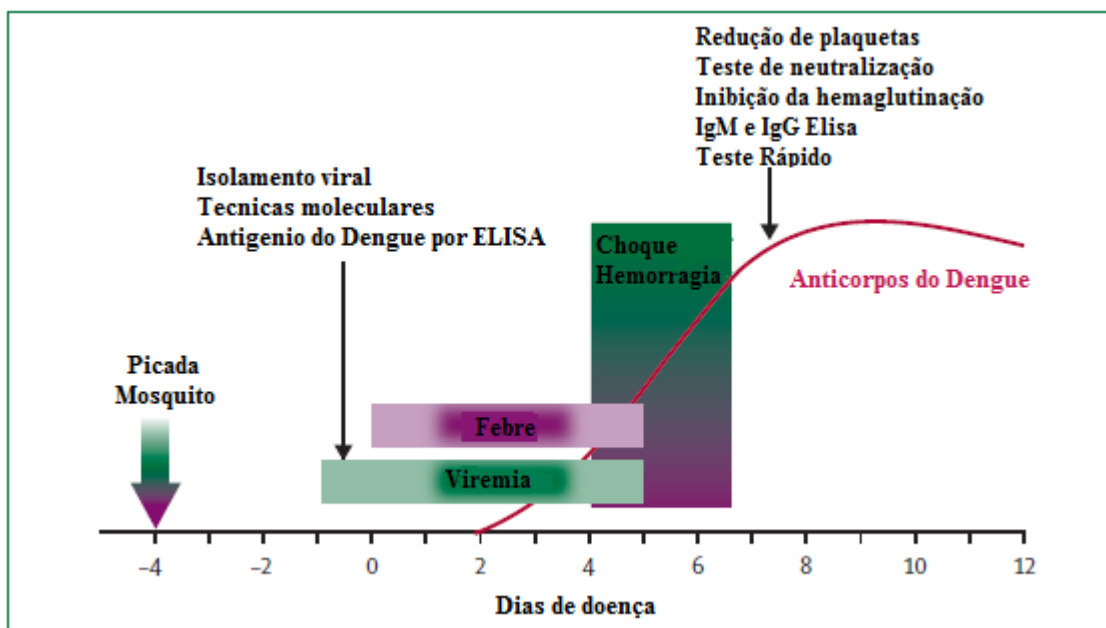


Figura 16. Curso da doença do Dengue e métodos de diagnóstico. Adaptado de Halstead 2007.

6.2.1. Isolamento viral

A amostra sanguínea para o isolamento do vírus necessita de ser recolhida nos primeiros 4-5 dias de doença. O isolamento do vírus através da inoculação em culturas de células ou inoculação em mosquitos, seguida da detecção de antígenos específicos, através de imunofluorescência indirecta é considerado a técnica *standard*, apresentando alta sensibilidade. No entanto, é uma técnica que exige conhecimentos técnicos, é demorada (necessita de 1-2 semanas) e relativamente cara [58, 61].

6.2.2. Diagnóstico molecular/Detecção do Genoma

A transcrição reversa seguida de reacção em cadeia de polimerase (RT-PCR), PCR em tempo real, ou a amplificação isotérmica do Ácido nucleico (AIAN), são amplamente utilizadas para a detecção dos genes virais e diferenciação dos serotipos em amostras de soro durante a fase aguda da doença, que coincide com o início da viremia [49, 58, 62].

Estes testes possuem um alto grau de especificidade e sensibilidade, podendo detectar o ARN viral dentro de 24-48 horas. Porém requer equipamentos e reagentes que possuem um custo elevado, deve ser realizado por técnicos experientes e é necessário haver controlo de qualidade a fim de evitar contaminação [58, 61].

6.2.3. Testes serológicos

Estes são os mais usados para diagnóstico de infecção por Dengue, por serem relativamente baratos e de fácil execução em comparação com outros métodos de diagnóstico [56].

Remetem a detecção de anticorpos IgM, que surgem em regra nos primeiros dez dias de doença e persistem aproximadamente durante dois meses.

A confirmação de infecção por anticorpo IgG, necessita da comparação entre soro na fase aguda e na fase da convalescença, com subida do título entre ambos. Anticorpos IgG contra o Dengue são produzidos a partir do 4º dia após o início dos sintomas, elevam-se gradualmente, atingindo altos níveis em duas semanas e mantêm-se detectáveis por vários anos, conferindo imunidade contra o tipo infectante para toda a vida [44, 49, 62].

O teste mais amplamente utilizado é o MAC-Elisa. Possui uma sensibilidade de 90-97%, em amostras colectadas após o 5º dia de febre. Possibilita, a distinção entre infecção primária e secundária na fase aguda, onde o diagnóstico serológico é feito pela técnica imunoenzimática com captura de anticorpo IgM [49, 61, 62].

Resultados falso positivos podem ocorrer em lugares onde circulam vários patógenos como a malária, leptospirose, doentes que já foram infectados pelo vírus do Dengue e onde existam múltiplos *Flavivirus* [56, 61].

Hoje em dia encontram-se disponíveis testes rápidos que são úteis para realizar triagem da infecção pelo vírus do Dengue. Usam o princípio da imunocromatografia sendo que muitos destes testes podem detectar anticorpos IgM e IgG e antigénios NS1. São testes úteis para triagem hospitalar, por serem rápidos, podendo posteriormente ocorrer a confirmação do genoma viral. Apresentam algumas limitações com reacções cruzadas e não conseguem diferenciar os serotipos virais [62-64].

6.3. Diagnóstico etiológico e procedimentos em Portugal segundo a Direcção Geral de Saúde

Em Portugal, o INSA (Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge) é o laboratório de referência para realizar o diagnóstico laboratorial do Dengue [54].

O diagnóstico etiológico é feito a partir de demonstração laboratorial de infecção viral pelos seguintes métodos:

- ❖ Serologia - Os métodos utilizados são imunofluorescência no Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (INSA) e imunocromatografia (Instituto de Medicina Tropical).

- ❖ PCR - Detecção do vírus no sangue (e no liquor se houver sinais e sintomas de afecção do SNC) efectua-se no INSA, mas não é um exame de 1ª linha.[54].

6.4. Diagnóstico diferencial

Considerando-se que o Dengue pode ser confundido com outras doenças, especialmente em países não endémicos, e que possui um amplo espectro clínico, há a necessidade de pensar em possíveis diagnósticos diferenciais tais como: doenças inespecíficas (influenza, enterovirose, e síndromas gripais); doenças exantemáticas (sarampo, rubéola, parvovirose, eritema infeccioso, mononucleose infecciosa, exantema súbito, e citomegalovirose); arboviroses (febre-amarela, encefalite japonesa, encefalite de St. Louis, e febre do Nilo); febres hemorrágicas (ebola, hanta vírus, arenavirus, e marburg) e outras causas de febre tais como malária, leptospirose, febre tifóide e riquetsiose [1, 52].

Pode ainda ser considerado no diagnóstico diferencial a meningococemia, doenças imunológicas nomeadamente púrpura de *Henoch-Schonlein* e farmacodermias [1, 52].

7. Tratamento

A valorização de cada caso deve ser dinâmica, pois o quadro clínico do doente pode mudar rapidamente e necessitar de outras medidas terapêuticas.

Segundo a Organização Mundial de Saúde, dado a inespecificidade quanto à evolução terapêutica, foi estandardizado os níveis de actuação segundo grupos de A-D [1].

Se o doente não apresenta sinais de alarme ou manifestações hemorrágicas, pode ser tratado no ambulatório com um tratamento sintomático e de suporte, visto não existir um tratamento antivírico disponível. As recomendações baseiam-se em estimular a ingestão oral de líquidos para hidratação oral, como água, ou sumos de fruta e efectuar o uso de paracetamol como antipirético. Os salicilatos não devem ser administrados, pois podem causar sangramentos e os anti-inflamatórios não esteróides (ibuprofeno, diclofenaco, nimesulida) e fármacos com potencial hemorrágico devem ser evitados, pois aumentam o risco de evolução para formas graves da doença [1, 52].

Quando ocorre a forma mais grave de Dengue Hemorrágico, é mandatário a hospitalização por necessidade de terapêutica médica e de suporte de órgãos [1].

O prognóstico é variável e depende da forma de apresentação da doença e do correcto tratamento. A forma Clássica da doença, tem geralmente um bom prognóstico, podendo ser a mortalidade elevada nas formas hemorrágicas.

No caso de sobrevivência a recuperação faz-se sem sequelas.

8. Estratégias de Controlo e vigilância do Dengue

Devido à preocupação crescente relativamente à expansão geográfica do Dengue, existe a necessidade de aferir métodos de controlo do vector, tendo como base a vigilância epidemiológica, fundamental para a prevenção de epidemias.

8.1. Controlo do *Aedes aegypti*

As estratégias de controlo têm como metas evitar epidemia e morte por Dengue.

Assim, identificam-se as áreas com maior risco tendo como objectivo a erradicação do vector.

Destinada a travar esta tendência do crescimento epidemiológico do vector, foi promulgada em 1995 pela Organização Mundial de Saúde (OMS), a estratégia global para prevenção e controlo do Dengue, que compreende cinco elementos *major*: controle integrado selectivo do vector, vigilância epidemiológica activa baseada num sistema abrangente de informação em saúde, preparação para emergências, capacitação e investigação sobre controlo de vectores [56, 65].

Desde então, muito tem sido feito a nível mundial na tentativa de criar estratégias adequadas direccionadas a cada país, a fim de minimizar a expansão do vector que causa a doença.

A selecção do método de controlo deve considerar o ecossistema local, recursos disponíveis para implementação do programa, o contexto cultural da região e a viabilidade para a aplicação da estratégia em tempo útil [1].

Dada a natureza doméstica do *Ae. Aegypti* (uso de uma vasta gama de *habitats* tanto naturais quanto artificiais), torna-o sensível às iniciativas de controlo. Essas medidas passam pela gestão ambiental e foca a eliminação das larvas e dos locais de oviposição, com a aplicação de larvicidas, uso de agentes biológicos e ao nível pessoal com o uso de protectores contra o mosquito [1, 22, 59].

8.1.1. Gestão Ambiental

O objectivo da gestão ambiental é realizar acções, a fim de, eliminar os criadouros do vector [66]. Este é o método mais efectivo para o controlo do vector e inclui o planeamento, a organização de actividades de monitorização para a modificação ou a manipulação de

factores ambientais, pretendendo assim prevenir e minimizar a propagação do vector, evitando o contacto entre homem e o vírus [56, 59].

São definidas pela Organização Mundial de Saúde três tipos de gestão do ambiente:

- ❖ Modificação do ambiente: transformações físicas com criação de infra-estruturas de longa duração para reduzir o *habitat* do vector, como a instalação de uma fonte confiável de água limpa e encanada para a comunidade, evitando assim a criação de poços, captação de água da chuva e outros sistemas tradicionais de armazenamento de água que servirão para oviposição [1, 56, 66].
- ❖ Manipulação ambiental: mudanças no *habitat* do vector, a fim de evitar a oviposição, envolvendo a manipulação dos recipientes que possam guardar e manter a água parada (vasos de flores, refrigeradores e sargetas), tais como a frequência de limpeza e esvaziamento, uso de telas, tampas removíveis, remoção e reciclagem de resíduos não biodegradáveis, como pneus que podem guardar água da chuva, remoção de plantas que podem armazenar água [1, 56, 67].
- ❖ Mudanças nas habitações e comportamentos humanos: como a instalação de redes contra os mosquitos nas janelas, portas e em possíveis entrada para o mosquito, assim como o uso de roupas que limitem a exposição da pele, uso de repelentes e insecticida em *sprays* dentro das casas principalmente nas horas de maior exposição ao vector [1, 56, 59].

8.1.2. Controlo Químico

A aplicação de produtos químicos apresenta grande importância no controlo do *Ae. aegypti* como igualmente na transmissão do Dengue. A implementação de insecticidas deve ser restrito a situações específicas, e deve ser utilizado em associação ao uso preliminar da gestão ambiental. Este manejo é fundamental para evitar a resistência do mosquito aos produtos químicos bem como evitar o impacto ambiental.

O controlo químico apresenta-se dividido estrategicamente em três modalidades:

- ❖ Tratamento focal: Auxílio na eliminação das formas imaturas do *Ae. aegypti*, por meio de aplicação de larvicidas nos recipientes de uso doméstico que não podem ser destruídos, eliminados, ou tratados por outras formas. Usado também para o tratamento da parte interna de recipientes que contêm ovos deste vector. São usados larvicidas de baixa toxicidade e deve evitar-se o uso no interior de depósitos de água para consumo humano, o qual somente é recomendado em situações epidémicas. Os insecticidas aprovados pela OMS que podem ser usados em recipientes com água para consumo são o temephos 1%, *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* - Bti (1g para 50 litros de água) e methoprene (1mg por litro) [66, 67].

- ❖ Tratamento perifocal: tem efeito tanto sobre as larvas quanto sobre o mosquito adulto. É a aplicação (por aspersão) de insecticida de acção residual sobre as superfícies internas e externas de recipientes e sobre a porção de superfície vertical imediata a esses recipientes. Condiciona a eclosão do insecto e seu pouso nas imediações do foco. Este método é apropriado apenas para as colecções de água não potável (como em grandes pilhas de pneus descartados) [66, 67].
- ❖ Pulverização: Esse método é destinado principalmente para a diminuição da densidade do mosquito adulto. São aplicadas pulverizações em todos os tipos de imóveis (residências, casas comerciais, escolas e serviços de saúde), praças, jardins e terrenos abandonados. Essa técnica é utilizada para o controlo do vector apenas em situações de emergência para suprimir uma epidemia, pois há controvérsias sobre sua eficácia e por não se conhecer qual o impacto a longo prazo para o ecossistema [59, 68].

8.1.3. Controlo Biológico

Trata-se da introdução de organismos vivos que atacam, parasitam ou competem com a larva ou a forma adulta do *Ae. aegypti* ou *Ae. albopictus* e que conseqüentemente reduzem o número do vector [59].

Os organismos mais utilizados são o peixe larvívoros, os copépodes (grupo de crustáceos), e o *Bacillus thuringiensis* (H-14). Estes métodos podem ser aplicados em tanques de armazenamento de água potável, sem ser prejudicial para o consumo humano [22, 59].

Embora o controle biológico evite a contaminação química do ambiente, esse método pode apresentar limitações operacionais, tais como as despesas e tarefas de criação de organismos em grande escala, dificuldade em aplicá-las e sua utilidade limitada em ambientes aquáticos onde a poluição, temperatura, e pH possam matar esses organismos [22, 56].

8.2. Vigilância do Dengue

A vigilância do dengue compreende três componentes *major*, vigilância epidemiológica (doença), do vector, e controlo do risco ambiental e social.

O principal objectivo da vigilância epidemiológica de uma doença é a detecção precoce de casos para indicar as medidas de controlo capazes de impedir novas ocorrências. Tem como meta detectar e prever uma possível epidemia.

Engloba a recolha contínua e sistemática, a notificação de casos confirmados de Dengue, acompanhamento das tendências na distribuição, disseminação e gravidade dos casos através da confirmação laboratorial, avaliação da eficácia dos programas de prevenção e controlo,

interpretação e divulgação de dados que reflectem o estado de saúde actual de uma comunidade [1, 66, 67].

O acompanhamento da incidência e prevalência do Dengue ao longo do tempo, estabelece uma base de dados do número de casos diagnosticados, de modo que um aumento inesperado dos mesmos ou da gravidade, consistirá em um alerta e serão desencadeadas medidas de intervenção e prevenção, possibilitando assim o uso de recursos humanos e logísticos de forma eficaz para o diagnóstico e tratamento, bem como actividades de educação para a comunidade, fundamentais para a redução da transmissão da doença [1, 66].

A vigilância entomológica é utilizada para determinar mudanças na distribuição geográfica, densidade do vector identificando áreas de alta infestação, avaliação dos programas de controlo, conhecimento da área preferível do mosquito para a oviposição e medição relativa da população vectorial durante um período de tempo [59].

Vários índices têm sido descritos para a monitorização do *Ae. aegypti*. As metodologias mais usadas são relativas aos estadios larvais do vector. Para este efeito, podem ser usados os índices relativos às moradias (percentagem de casas infestadas com larvas ou pulpas), índice relativo aos contentores (percentagem de recipientes com água que alberga larvas ou pulpas), índice de Breteau (relação entre a quantidade de contentores que alberguem as larvas ou pulpa por 100 casas infestadas) e o índice de armadilhas de oviposição colocadas nas casas e que servem para detectar novas infestações ou reinfestações (quantidade de armadilhas que contenham larvas). Os dois primeiros índices não levam em conta respectivamente a quantidade de recipientes que contém as larvas e a quantidade de casas infestadas ou a quantidade de larvas existentes em cada recipiente [1, 59, 66].

Estes índices são importantes para conhecimento com posterior eliminação do habitat do vector e fornecimento de informações para formulação de acções educativas para comunidade, tentando assim a diminuição da quantidade de *habitats* que possam albergar as larvas e pulpas [1, 59].

Outra metodologia existente é referente à abundância dos mosquitos adultos a qual fornece dados acerca da população sazonal, índice de mosquitos em determinado tempo, assim como a avaliação de uso de insecticidas. Estes resultados são menos reprodutíveis pois são muito trabalhosos e dependem da pessoa que recolha os dados. Geralmente são expressos pela contagem de picada por pessoa por hora, sendo que a densidade é definida como o número de mosquito por casa ou a quantidade de mosquitos colectada (através de aspiradores ou rede de mão) por período de tempo [1, 59].

A monitorização dos riscos ambientais e sociais, têm em consideração a distribuição e densidade populacional humana, condições das moradias, nível de educação e nível socioeconómico, a fim de avaliar a vulnerabilidade de uma comunidade a uma epidemia de dengue. Este tipo de monitorização tem como base a investigação sobre a qualidade dos serviços de abastecimento de água, bem como do conhecimento das estratégias usadas pela população para o armazenamento da água, e a forma de eliminação dos resíduos sólidos. Este tipo de informação ajuda a criação do perfil ecológico que podem ser o alvo de campanhas

para a educação da comunidade como também de campanhas de intervenção específicas para a redução da infestação e da melhoria da qualidade de vida da comunidade [1, 56].

A luta contra as doenças não requer somente recursos financeiros, tecnologia apropriada e compromisso político, mas também linhas de estratégias operacionais de responsabilidade e sistemas de gestão adaptativa capazes de aprender e corrigir erros. Há muitos aspectos problemáticos existente nas campanhas que cada País efectua para o controlo do Dengue, e entre as principais dificuldades está o grande obstáculo para a implementação de programas, dificuldade para as visitas domiciliárias em comunidades com mais de 50 000 habitações, falta de pessoas capacitadas para a realização das campanhas, assim como falta de uma comunicação eficaz entre os agentes promotores de saúde e a população [69].

9. Dengue em viajantes internacionais

Nas recentes décadas, têm surgido um aumento dramático da incidência e distribuição do Dengue a nível mundial. Como consequência da globalização juntamente com a expansão do turismo e com a maior facilidade de movimentação entre os Continentes. Assim, o conhecimento sobre as características dos viajantes são de grande importância podendo reflectir o impacto global da doença.

Segundo a Organização Mundial do Turismo (OMT), em 2008 o número de turistas internacionais atingiu 922 milhões de pessoas, sendo que em 2020 deverá atingir 1,6 bilhões de turistas. Estes sofrem risco de saúde em lugares onde o alojamento é de má qualidade, com condições inadequadas de higiene e saneamento, onde os serviços médicos são praticamente inexistentes e onde não haja água potável disponível [70].

O viajante pode ser visto como uma unidade biológica interactiva, onde este capta, processa, transporta e liberta o material genético do patógeno em diferentes regiões [71].

Devido ao rápido transporte intercontinental, é provável que viajantes que tenham adquirido a doença (por apresentar um período curto de incubação), estejam na fase de viremia quando regressam aos seus países e conseqüentemente, podem disseminar e introduzir a infecção em regiões onde vectores competentes estejam presentes, incluindo áreas do mediterrâneo e sul da Europa [71, 72].

Os viajantes podem ainda introduzir novos serotipos do DENV onde esteja a circular um serotipo menos agressivo, o que pode causar surtos de FHD na comunidade que visitaram [73]. Além disso os viajantes podem ser vistos como uma população sentinela, onde fornecem informações úteis sobre os riscos de viajar para determinadas áreas geográficas e as diferenças existentes entre os viajantes e a população residente quanto ao risco de infecção e características das manifestações das doenças, o que pode permitir um maior esclarecimento para os viajantes sobre a preparação necessária e educação acerca da área que irão visitar [71, 72].

Viagens feitas para países tropicais acarretam um risco de morbilidades de aproximadamente 20-70%, e mesmo assim cerca de 50 milhões de pessoas viajam de países industrializados para os trópicos anualmente. Os europeus representam a maioria dos viajantes internacionais, sendo a Alemanha, Reino Unido, França e Itália os principais países de origem [74, 75].

A segunda causa mais comum de doenças febris em viajantes que retornam à área de origem é causada pelo vírus do Dengue, sendo responsável por 13 % das doenças febris. As características dos viajantes que adquirem o vírus do Dengue são: idade aproximadamente 38 anos (12-73 anos), ligeiramente mais frequentes em homens que em mulheres sendo que a duração média da estadia para adquirir a infecção diminuiu de 38 dias em 1999 para 21 dias em 2008 [76, 77].

A rede europeia de vigilância de doenças infecciosas importadas (The European Network on Imported Infectious Disease Surveillance) detecta o potencial de doenças infecciosas emergentes para a Europa. Esta notificou uma ampliação do número de casos de Dengue em viajantes que retornaram para Europa. Ocorreu um aumento de casos notificados de 64 em 1999 para 224 em 2002, sendo que em 2008 foram relatados 116 casos.

Em 2008, 43% dos casos de Dengue foram adquiridos pelos viajantes que retornaram de países do Sudeste da Ásia sendo que os meses de maior contaminação foram os meses de Abril até agosto; 14% voltaram da América Latina com maior contaminação em Março; 12% do continente indiano apresentando um pico de contaminação nos meses de Setembro a Dezembro; 11% das Caraíbas com um índice de maior contaminação nos meses de Agosto a Dezembro; e 4% retornaram da África [76-78].

Esta distribuição reflecte dois aspectos diferentes, nomeadamente a actividade do Dengue a nível mundial e a popularidade dos países como destino turístico. Apesar da Tailândia, Vietnam e Indonésia serem lugares endémicos para o Dengue, acabam por ser destinos populares para os turistas europeus, por exemplo a Tailândia é responsável por quase 30% de todas as viagens associadas a infecções pelo vírus do Dengue [73, 78].

Vários estudos demonstraram que a infecção pelo vírus do Dengue, é uma ameaça real não se limitando apenas a pessoas que viajam por muito tempo para países do sudeste da Ásia. Geralmente os viajantes apresentam uma evolução clínica favorável, podendo ser assintomática. Porém, com a expansão global do vírus e o aumento das viagens para áreas endémicas, intensificam a possibilidade de infecções sequenciais por vários serotipos e por conseguinte aumentam o risco de desenvolverem FHD/SCD [26, 76].

Existe uma subnotificação dos casos de Dengue em viajantes que retornam para a Europa, ou porque os viajantes apresentam a doença no curso da viagem (período de incubação 5-7 dias mais período da doença 4-6 dias), porque os doentes não procuram cuidados médicos, ou porque os médicos não conseguem estabelecer um diagnóstico correcto e consequentemente não reportam os casos para o sistema de saúde público [26, 76].

Todos os indivíduos que estejam a organizar uma viagem para áreas que possuem doenças transmitidas por vectores, devem fazer uma consulta do viajante pelo menos 4-8 semanas antes da viagem, necessitam ser aconselhados sobre o risco potencial para sua saúde, adoptar medidas de protecção como uso de repelente ou vacinas quando existentes, e devem ainda ser aconselhados a viajar em épocas de menor transmissão do vírus a fim de evitar a contaminação pelo vector. Além disso, os médicos devem estar preparados para diagnosticar e gerir os casos de infecção pelo dengue assim como relatar os casos suspeitos e confirmados. Com o devido planeamento de medidas preventivas adequadas, os viajantes podem reduzir substancialmente o risco de adquirirem uma doença [26, 70, 72].

10. Exemplo de um caso clínico

M.F, doente do sexo feminino, actualmente com 68 anos de idade, residente no Brasil (estado de São Paulo), dirigiu-se ao Serviço de Urgência, em 1-2-2010 no quarto dia de doença, com queixas de febre e mialgias generalizadas.

Iniciou subitamente um quadro de febre, variando entre 38,5 °C - 40 °C (temperatura axilar), sem cedência apesar da toma de paracetamol de 4/4 horas. Apresentava concomitantemente cefaleia intensa difusa, dor retro orbitária, artralguas e anorexia. Era evidente um ligeiro grau de prostração. Negava outros sintomas, doenças prévias ou viagens para outras áreas. Refere existir quadros semelhantes no bairro onde mora.

Foi medicada preventivamente com paracetamol e soro para hidratação oral.

A quando do exame físico efectuou-se prova do laço que demonstrou ser positiva, sem demais alterações.

Foi requisitado como exame complementar de diagnóstico hemograma cujo resultado revelou:

Hemograma	Valores encontrados	Valores de referência
Hemácias milhares/mm ³	4.29	4-5
Hemoglobina g/dl	13.4	11,5-16
Hematócrito %	39.3	36-47
Leucócitos mm ³	5200	4.000-11.000
Plaquetas mil/mm ³	18	140-450
Velocidade de Hemossedimentação 1ª hora	54	Mulheres 20 mm

Teve alta para o ambulatório, com orientação para efectuar hidratação oral e paracetamol em S.O.S., bem como, efectuar reavaliação em meio hospitalar após 24 horas.

Foi programada serologia para o dia 08/02/2010, pelo método de Elisa. O resultado foi IgM 3,1508 com valores de referência - reagente superior à 1,1 positiva.

Trata-se de uma doente com epidemiologia susceptível para a doença, sem comorbilidades, com trombocitopenia grave, em que a prova do laço foi determinante para o diagnóstico, apresentando uma evolução favorável com a terapêutica de suporte.

11. Conclusão

A presente revisão procurou compilar informação existente para o melhor entendimento sobre a doença causada pelo vírus do Dengue.

De acordo com os dados revistos neste trabalho, chegou-se a conclusão que:

A doença causada pelo vírus do Dengue apresenta um crescimento dramático nas últimas duas décadas, tornando-se um patógeno de grande importância para os humanos e um problema para a saúde pública a nível mundial.

Nos últimos anos, um progresso significativo foi feito com a melhor caracterização da estrutura das partículas virais, do seu ciclo de vida e da patogénese.

No entanto, apesar da descoberta de que factores virais e do hospedeiro podem predispor ou proteger o desenvolvimento da doença, e do envolvimento de elementos multifactoriais com interacção de três componentes do sistema imunológico, torna-se difícil a explicação completa da patogénese do vírus, principalmente, pela falta de investigação sobre estas interacções mútuas e pela falta de um modelo animal adequado.

Os vectores que transmitem a doença estão amplamente distribuídos pelo mundo, necessitam de um ecossistema específico para sua sobrevivência, sendo este influenciado por inúmeros factores como a alteração climática e aumento do aquecimento global, aumento da densidade populacional e exportações de mercadorias que podem conter ovos.

Portanto, estima-se que o risco de doenças transmitidas por vectores venha a aumentar, pois esses factores podem alterar a distribuição e sobrevivência do vector ao criarem ambientes favoráveis para o seu desenvolvimento. No caso da Europa já existem condições para o desenvolvimento da doença, o que é possível pela existência do *Aedes albopictus*. Se as devidas medidas de controlo não forem efectuadas poderá ocorrer a disseminação desta espécie, como a possível reintrodução do vector *Aedes aegypti*.

Muitas estratégias para o controle do *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* foram criadas. Porém, as campanhas efectuadas para o controle do vector são ineficazes, operam em áreas geográficas com comunidades grandes, recursos inadequados tanto financeiros como humanos, e nem sempre a mensagem consegue atingir a população de forma correcta.

Assim conclui-se que a globalização causa uma propagação mais rápida de doenças, como consequência do aumento do número de viagens, alterações climatéricas e propagação dos vectores para áreas que antes não existiam.

Torna-se essencial para os países que não são endémicos, um bom entendimento das doenças transmitidas por vectores, com o objectivo de realizar o correcto reconhecimento, diagnóstico, tratamento e prevenção da doença. Com a finalidade de diminuir o impacto na saúde pública mundial e reduzir a disseminação deste tipo de doença, que causam um aumento dos custos da saúde, e acarreta uma morbidade e mortalidade tão elevada como é o caso do vírus do Dengue.

12. Perspectivas futuras - Vacina

A importância do desenvolvimento de uma vacina capaz de proteger a população mundial é fundamental. Com o fracasso das campanhas de controlo de vectores e com o crescente aumento de casos no mundo, é essencial o desenvolvimento de uma vacina segura e acessível à população.

Durante décadas os cientistas tentaram desenvolver uma vacina capaz de proporcionar protecção imunitária contra os quatro serotipos.

Porém, existem vários problemas para a sua produção, nomeadamente a necessidade de imunização contra os quatro serotipos, alta eficiência para evitar o mecanismo fisiopatológico que desencadeia o Dengue Hemorrágico, a falta de modelos animais para testar a efectividade das vacinas (pois apesar de poderem ser infectados a manifestação clínica é diferente das dos humanos), e a existência de lacunas sobre o conhecimento da estrutura viral e indução de resposta imune [49, 56].

A vacina ideal deveria cumprir as seguintes exigências como: promover a imunização de longa duração contra qualquer serotipo do vírus, não causar o fenómeno do ADE, apresentar baixa toxicidade e baixo custo [56].

A primeira vacina desenvolvida contra o DENV foi testada em 1929, usando o vírus inactivo. Porém, não se obtiveram os resultados desejados. A partir de então, vários Institutos de investigação têm pesquisado possíveis métodos para a produção de vacina.

As estratégias actuais classificam as técnicas de produção de vacinas como modelo clássico, onde podem usar o vírus vivo atenuado, partículas virais inactivadas e vacinas contendo subunidades (proteínas ou peptídeos). Modelo da tecnologia recombinante com produção de vacinas quiméricas, com inserção de genes de um serotipo do vírus em um serotipo atenuado, ou através da introdução de genes do vírus modificados geneticamente em vectores capazes de expressar proteínas ou peptídeos. Vacinas de ADN e ainda através de técnicas contendo vacinas mistas (associação de vírus vivo com proteínas ou partes do genoma viral) [9, 18, 51].

Apesar de existirem diversas vacinas em teste, em diferentes estádios de desenvolvimento, ainda não foram realizados estudos suficientes sobre a eficácia e segurança destas vacinas em seres humanos. Estima-se que nenhuma vacina estará disponível nos próximos 10 anos para a prevenção do Dengue.

Assim sendo, até que exista o desenvolvimento definitivo da vacina, a prevenção deverá ser realizada através do controlo da doença, evitando a proliferação do vector e esclarecendo a população sobre as formas de combate à propagação dos mosquitos. Será necessário ainda, a intervenção por parte do governo em oferecer serviços essenciais de água, esgoto e recolha de lixo à população [56].

Referência

1. World Health Organization. *Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control : new edition*. Geneva: World Health Organization; 2009.
2. Gubler DJ. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clinical microbiology reviews*. 1998;11(3):480 - 96.
3. Weaver SC, Vasilakis N. Molecular evolution of dengue viruses: contributions of phylogenetics to understanding the history and epidemiology of the preeminent arboviral disease. *Infection, Genetics and Evolution*. 2009;9(4):523-40.
4. Kautner I, Robinson MJ, Kuhnle U. Dengue virus infection: epidemiology, pathogenesis, clinical presentation, diagnosis, and prevention. *The Journal of pediatrics*. 1997;131(4):516 -24.
5. Gubler DJ. Epidemic dengue/dengue hemorrhagic fever as a public health, social and economic problem in the 21st century. *TRENDS in Microbiology*. 2002;10(2):100-3.
6. Guzman A, Istúriz RE. Update on the global spread of dengue. *International journal of antimicrobial agents*. 2010:1-3.
7. La Ruche G, Souarès Y, Armengaud A, Peloux-Petiot F, Delaunay P, Desprès P, et al. First two autochthonous dengue virus infections in metropolitan France, September 2010. *Euro Surveill*. 2010;15(39):1-5.
8. Clyde K, Kyle JL, Harris E. Recent advances in deciphering viral and host determinants of dengue virus replication and pathogenesis. *Journal of virology*. 2006;80(23):11418 - 31.
9. Faheem M, Raheel U, Riaz MN, Kanwal N, Javed F, Zaidi NSS, et al. A molecular evaluation of dengue virus pathogenesis and its latest vaccine strategies. *Molecular Biology Reports*. 2010:1-10.
10. Kuhn RJ, Zhang W, Rossmann MG, Pletnev SV, Corver J, Lenches E, et al. Structure of Dengue Virus:: Implications for Flavivirus Organization, Maturation, and Fusion. *Cell*. 2002;108(5):717-25.
11. Rodenhuis-Zybert IA, Wilschut J, Smit JM. Dengue virus life cycle: viral and host factors modulating infectivity. *Cellular and molecular life sciences*. 2010:2773-86.
12. Welsch S, Miller S, Romero-Brey I, Merz A, Bleck CKE, Walther P, et al. Composition and three-dimensional architecture of the dengue virus replication and assembly sites. *Cell Host & Microbe*. 2009;5(4):365-75.
13. Melino S, Paci M. Progress for dengue virus diseases Towards the NS2B-S3pro inhibition for a therapeutic-based Approach. *FEBS Journal*. 2007;274(12):2986-3002.
14. May FJ, Lobigs M, Lee E, Gendle DJ, Mackenzie JS, Broom AK, et al. Biological, antigenic and phylogenetic characterization of the flavivirus Alfuy. *Journal of general virology*. 2006;87(2):329 - 37.
15. Wikramaratna PS, Simmons CP, Gupta S, Recker M, Schneider BS. The Effects of Tertiary and Quaternary Infections on the Epidemiology of Dengue. *PloS one*. 2010;5(8):12347.
16. Wang E, Ni H, Xu R, Barrett ADT, Watowich SJ, Gubler DJ, et al. Evolutionary relationships of endemic/epidemic and sylvatic dengue viruses. *Journal of virology*. 2000;74(7):3227 - 34.
17. Rico-Hesse R. Molecular evolution and distribution of dengue viruses type 1 and 2 in nature. *Virology*. 1990;174(2):479-93.
18. Hesse RR. Dengue virus evolution and virulence models. *Clinical Infectious Diseases*. 2007;44(11):1462 - 6.

19. Vaughn DW, Green S, Kalayanarooj S, Innis BL, Nimmannitya S, Suntayakorn S, et al. Dengue viremia titer, antibody response pattern, and virus serotype correlate with disease severity. *Journal of Infectious Diseases*. 2000;181(1):2 - 9.
20. Halstead SB. Antibodies determine virulence in dengue. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2009;1171:E48-E56.
21. McBride WJH, Bielefeldt-Ohmann H. Dengue viral infections; pathogenesis and epidemiology. *Microbes and Infection*. 2000;2(9):1041-50.
22. Jansen CC, Beebe NW. The dengue vector *Aedes aegypti*: what comes next. *Microbes and Infection*. 2010;12(4):272-9.
23. Severson DW, Knudson DL, Soares MB, Loftus BJ. *Aedes aegypti* genomics. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 2004;34(7):715-21.
24. Clemons A, Haugen M, Flannery E, Tomchaney M, Kast K, Jacowski C, et al. *Aedes aegypti*: an emerging model for vector mosquito development. *Cold Spring Harbor protocols*. 2010;2010:1 -17.
25. Almeida A, Gonçalves Y, Novo M, Sousa C, Melim M, Grácio A. Vector monitoring of *Aedes aegypti* in the Autonomous Region of Madeira, Portugal. *Euro Surveill*. 2007;12(46).
26. Bulughapitiya U, Siyambalapitiya S, Seneviratne SL, Fernando DJS. Dengue fever in travellers: A challenge for European physicians. *European Journal of Internal Medicine*. 2007;18(3):185-92.
27. Lambrechts L, Scott TW, Gubler DJ. Consequences of the expanding global distribution of *Aedes albopictus* for dengue virus transmission. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010;4(5):646.
28. Control ECfDPa. *Aedes albopictus* distribution maps. . Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control; 2009.
29. Gratz N. Critical review of the vector status of *Aedes albopictus*. *Medical and Veterinary Entomology*. 2004;18(3):215-27.
30. Reiter P. Yellow fever and dengue: a threat to Europe. *Euro Surveill*. 2010;15(10):1-7.
31. Tabachnick W. Challenges in predicting climate and environmental effects on vector-borne disease epistystems in a changing world. *The Journal of Experimental Biology*. 2010;213(6):946 - 54.
32. Sutherst RW. Global change and human vulnerability to vector-borne diseases. *Clinical Microbiology Reviews*. 2004;17(1):136 - 73.
33. Abrantes P, Silveira H. Alterações climáticas na Europa: efeito nas doenças parasitárias humanas. *Rev Port Sau Pub* v. 2009;27(2):71 - 86.
34. Patz JA, McGeehin MA, Bernard SM, Ebi KL, Epstein PR, Grambsch A, et al. The potential health impacts of climate variability and change for the United States: executive summary of the report of the health sector of the US National Assessment. *Environmental Health Perspectives*. 2000;108(4):367 - 76.
35. Kovats R, Campbell-Lendrum D, McMichel A, Woodward A, Cox JSH. Early effects of climate change: do they include changes in vector-borne disease? *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences*. 2001;356(1411):1057 - 68.
36. CLIMÁTICAS CPAA. *Adaptação às Alterações Climáticas em Portugal Proposta de Estratégia Nacional Versão para Consulta Pública. COMISSÃO PARA AS ALTERAÇÕES CLIMÁTICAS 2009*. p. 1 - 41.
37. MURRAY PR. *Microbiologia Médica*. In: ELSEVIER, editor. *Microbiologia Médica*. 5ª edição ed2006. p. 625-30.
38. Martina BEE, Koraka P, Osterhaus ADME. Dengue virus pathogenesis: an integrated view. *Clinical Microbiology Reviews*. 2009;22(4):564.

39. Jessie K, Fong MY, Devi S, Lam SK, Wong KT. Localization of dengue virus in naturally infected human tissues, by immunohistochemistry and in situ hybridization. *Journal of Infectious Diseases*. 2004;189(8):1411 - 8.
40. de Araújo JMG, Schatzmayr HG, de Filippis AMB, dos Santos FB, Cardoso MA, Britto C, et al. A retrospective survey of dengue virus infection in fatal cases from an epidemic in Brazil. *Journal of Virological Methods*. 2009;155(1):34-8.
41. Nielsen DG. The relationship of interacting immunological components in dengue pathogenesis. *Virology Journal*. 2009;6(1):1 - 7.
42. Teo D, Ng L, Lam S. Is dengue a threat to the blood supply? *Transfusion Medicine*. 2009;19(2):66-77.
43. Halstead SB. Observations related to pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. VI. Hypotheses and discussion. *The Yale journal of biology and medicine*. 1970;42(5):350 - 62.
44. Figueiredo LTM. Patogenia das infecções pelos vírus do dengue. *Medicina, Ribeirão Preto*. 1999;32(1):15-20.
45. Vaughn DW, Green S, Kalayanarooj S, Innis BL, Nimmannitya S, Suntayakorn S, et al. Dengue in the early febrile phase: viremia and antibody responses. *Journal of Infectious Diseases*. 1997;176(2):322 - 30.
46. Halstead S, O'rourke E. Dengue viruses and mononuclear phagocytes. I. Infection enhancement by non-neutralizing antibody. *The Journal of Experimental Medicine*. 1977;146(1):201 - 17.
47. Kouri GP, Guzmán MG, Bravo JR, Triana C. Dengue haemorrhagic fever/dengue shock syndrome: lessons from the Cuban epidemic, 1981. *Bulletin of the World Health Organization*. 1989;67(4):375 - 80.
48. Kurane I. Dengue hemorrhagic fever with special emphasis on immunopathogenesis. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*. 2007;30(5-6):329-40.
49. Guzman MG, Kouri G. Dengue: an update. *The Lancet Infectious Diseases*. 2002;2(1):33-42.
50. Chaturvedi UC, Nagar R, Shrivastava R. Dengue and dengue haemorrhagic fever: implications of host genetics. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 2006;47(2):155-66.
51. Stephenson JR. Understanding dengue pathogenesis: implications for vaccine design. *Bulletin of the World Health Organization*. 2005;83(4):308-14.
52. SAÚDE MD. Dengue diagnóstico e manejo clínico. In: Saúde SdVe, editor. 3ª edição ed. Brasília2007.
53. Esler D. Dengue: Clinical and public health ramifications. *Australian family physician*. 2009;38(11):876-9.
54. George FHM. Abordagem Clínica para casos de dengue. In: saúde D-Gd, editor. Lisboa: Mionistério da saúde; 2008.
55. Srikiatkachorn A. Plasma leakage in dengue haemorrhagic fever. *Thromb Haemost*. 2009;102:1042-9.
56. Guzman MG, Halstead SB, Artsob H, Buchy P, Farrar J, Gubler DJ, et al. Dengue: a continuing global threat. *Nature Reviews Microbiology*. 2010;8:7-16.
57. Kalayanarooj S, Vaughn D, Nimmannitya S, Green S, Suntayakorn S, Kunentrasai N, et al. Early clinical and laboratory indicators of acute dengue illness. *Journal of Infectious Diseases*. 1997;176(2):313 - 21.
58. Shu PY, Huang JH. Current advances in dengue diagnosis. *Clinical and Vaccine Immunology*. 2004;11(4):642 - 50.
59. World Health Organization. Dengue haemorrhagic fever : diagnosis, treatment, prevention and control. 2nd ed. Geneva: World Health Organization; 1997.

60. Halstead SB. Dengue. *The Lancet*. 2007;370(9599):1644-52.
61. Guzman MG, Kouri G. Dengue diagnosis, advances and challenges. *International journal of infectious diseases*. 2004;8(2):69-80.
62. Pediatric Dengue Vaccine Initiative., UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases. *Dengue diagnostics : proceedings of a joint TDR/WHO and PDVI workshop : 4-6 October 2004, Geneva, Switzerland*. Geneva: World Health Organization; 2005.
63. Shu PY, Chen LK, Chang SF, Yueh YY, Chow L, Chien LJ, et al. 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. *Clinical and Vaccine Immunology*. 2003;10(4):622 - 30.
64. De Paula SO, Fonseca BAL. Dengue: a review of the laboratory tests a clinician must know to achieve a correct diagnosis. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2004;8(6):390-8.
65. Horstick O, Runge-Ranzinger S, Nathan MB, Kroeger A. Dengue vector-control services: how do they work? A systematic literature review and country case studies. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 2010;104(6):379-86.
66. Salud OPdl. *Plan Continental de ampliación e intensificación del combate a Aedes aegypti1*. Rev Panam Salud Publica 1998. p. 125.
67. da Glória Teixeira M, Barreto ML, Guerra Z. *Epidemiologia e medidas de prevenção do dengue. Informe Epidemiológico do SUS*. 1999;8(4):5-33.
68. Esu E, Lenhart A, Smith L, Horstick O. Effectiveness of peridomestic space spraying with insecticide on dengue transmission; systematic review. *Tropical Medicine & International Health*. 2010;15(5):619-31.
69. World Health Organization. *Strategy Development and Monitoring for Parasitic Diseases and Vector Control Team. Global strategic framework for integrated vector management*. Geneva: World Health Organization; 2004.
70. World Health Organization. *International travel and health : situation as on 1 January 2010*. Geneva: World Health Organization; 2010.
71. Wilson ME. The traveller and emerging infections: sentinel, courier, transmitter. *Journal of applied microbiology*. 2003;94:1-11.
72. Gautret P, Simon F, Hervius Askling H, Bouchaud O, Leparç-Goffart I, Ninove L. Dengue type 3 virus infections in European travellers returning from the Comoros and Zanzibar, February-April 2010. *Euro Surveill*. 2010;15(15):15.
73. Wichmann O, Jelinek T. Dengue in travelers: a review. *Journal of travel medicine*. 2004;11(3):161-70.
74. Stienlauf S, Segal G, Sidi Y, Schwartz E. Epidemiology of travel related hospitalization. *Journal of travel medicine*. 2005;12(3):136-41.
75. Gautret P, Schlagenhauf P, Gaudart J, Castelli F, Brouqui P, Von Sonnenburg F, et al. Multicenter EuroTravNet/GeoSentinel study of travel-related infectious diseases in Europe. *Emerging Infectious Diseases*. 2009;15(11):1783.
76. Wichmann O, Muhlberger N, Jelinek T. Dengue-the underestimated risk in travellers. *Dengue Bulletin*. 2003;27:126-37.
77. Schwartz E, Weld LH, Wilder-Smith A, Von Sonnenburg F, Keystone JS, Kain KC, et al. Seasonality, annual trends, and characteristics of dengue among ill returned travelers, 1997-2006. *Emerging Infectious Diseases*. 2008;14(7):1081.

78. Jelinek T. Trends in the epidemiology of dengue fever and their relevance for importation to Europe. *Euro Surveill.* 2009;14(25):25.