

Perfil hematológico e bioquímico de pacientes diagnosticados com dengue no município de Ipiranga-PR.

Daiane Maria Penteado Della Bianca

1. INTRODUÇÃO

1.1 O VETOR E O VÍRUS

A dengue é uma doença infecciosa febril aguda, causada por um arbovírus, da família *Flaviridae*, cujo transmissor é o mosquito *Aedes aegypti* (SOBRE, 2016). Esse inseto é um mosquito doméstico, antropofílico, com atividade hematofágica diurna e utiliza-se preferencialmente de depósitos artificiais de água limpa para colocar os seus ovos. Estes têm uma alta capacidade de resistir à dessecação, mantendo-se viáveis na ausência de água por até 450 dias (TAUIL, 2002).

O *Aedes aegypti* adquire o vírus ao picar uma pessoa infectada nos primeiros 5 dias após o aparecimento dos sintomas, que constitui a fase aguda da doença. O vírus passa do trato intestinal do mosquito para suas glândulas salivares depois de um período de incubação, que pode levar 10 dias e é mais rápido quanto maior for a temperatura ambiente (GUZMAN et al, 2010).

Existem 4 tipos de vírus: DEN-1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4 (AZIN, 2010). O vírus é formado por uma partícula esférica de 40 a 50 nm de diâmetro, revestido por um envelope lipopolissarídico. Possui material genético constituído de RNA que codifica três proteínas estruturais: as glicoproteínas que formam o capsídeo (C), a membrana (M) e o envelope (E). Além disso, há outras proteínas não estruturais como NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4B e NS5. A proteína NS1 tem sido utilizada como um marcador de infecção aguda em testes rápidos imunocromatográficos, o que agilizou consideravelmente o tempo de diagnóstico da doença (GUZMAN, 2010).

1.2 SINTOMAS:

O vírus da dengue produz uma síndrome que pode ser de leve a intensa conforme a idade ou condição imunológica do paciente. Pode ser de curso benigno como dengue clássica (DC) ou grave como dengue hemorrágica (DH). O dengue

clássico é usualmente benigno. Inicia-se, após um período de incubação de 2 a 7 dias, com febre alta, podendo apresentar cefaleia, prostração, mialgia, dor retro-orbital, náusea, vômito, dor abdominal, exantema máculo-papular (TURCO, 2002). Não é possível prever se o paciente evoluirá para um quadro clínico benigno após essa fase ou se desenvolverá a DH (GUZMAN, 2010).

Depois da fase febril, podem ocorrer sintomas como sangramentos, trombocitopenia (inferior a 100.000 plaquetas/mm³), ascite, efusão pleural, hematócrito superior a 40%, que constituem os sinais de alarme, bem como dor abdominal aguda, sonolência, vômito persistente e temperaturas inferiores a 36°C. Esses sintomas podem indicar extravasamento de plasma e iminência de choque. Neste ponto, os pacientes devem receber hidratação com ringer-lactato para evitar uma instabilidade hemodinâmica (GUZMAN, 2010).

Alguns autores sugerem que a incidência de dengue hemorrágica aumenta em uma população quanto esta já foi exposta a um subtipo do vírus da dengue. A exposição sequencial a um segundo subtipo pode favorecer o desenvolvimento da DH. Para outros, a DH depende da maior virulência de determinadas cepas do vírus (TURCO, 2002). A chance de complicações é maior em pacientes com asma, diabetes e outras doenças crônicas (GUZMAN et al, 2010).

Na DH, os sintomas iniciais são semelhantes aos do DC, porém há um agravamento do quadro no terceiro ou quarto dias de evolução, com aparecimento de manifestações hemorrágicas e colapso circulatório. A fragilidade capilar é evidenciada pela positividade da prova do laço. Outras manifestações hemorrágicas incluem petéquias, equimoses, epistaxe, gengivorragia, hemorragia em diversos órgãos (gastrointestinal, intracraniana, etc.) e hemorragia espontânea pelos locais de punção venosa. Nos casos graves de FHD, o choque geralmente ocorre entre o 3º e 7º dias de doença, geralmente precedido por dor abdominal. O choque é decorrente do aumento de permeabilidade vascular, seguida de hemoconcentração e falência circulatória. É de curta duração e pode levar a óbito em 12 a 24 horas ou à recuperação rápida, após terapia antichoque apropriada. Caracteriza-se por pulso rápido e fraco, com diminuição da pressão de pulso e arterial, extremidades frias, pele pegajosa e agitação. Alguns pacientes podem ainda apresentar manifestações neurológicas, como convulsões e irritabilidade (ASPECTOS, 2016).

A Organização Mundial da Saúde definiu um critério de classificação das formas de DH, em 4 categorias, de acordo com o grau de gravidade, conforme quadro 1.

GRAU I	Febre acompanhada de sintomas inespecíficos, em que a única manifestação hemorrágica é a prova do laço positiva.
GRAU II	Além das manifestações constantes do Grau I, somam-se hemorragias espontâneas (sangramentos de pele, petéquias, epistaxe, gengivorragia e outras);
GRAU III	Colapso circulatório com pulso fraco e rápido, diminuição da pressão arterial ou hipotensão, pele pegajosa e fria e inquietação;
GRAU IV	Choque profundo, com pressão arterial e pulso imperceptíveis (síndrome do choque da dengue).

Quadro 1 – Critérios de classificação da DH conforme Organização Mundial da Saúde. Fonte (ASPECTOS, 2016)

1.3 FISIOPATOLOGIA DA DOENÇA:

Na pele, o vírus da dengue infecta as células dendríticas que migram para os linfonodos e apresentam os antígenos virais para os linfócitos T, iniciando assim a resposta imune. O vírus também é capaz de se replicar no tecido hepático e em macrófagos dos linfonodos, fígado e baço, bem como em monócitos do sangue periférico (GUZMAN et al, 2010).

Estudos *in vitro* demonstraram que a infecção dos monócitos e das células dendríticas resulta em um aumento da replicação do vírus como resultado da supressão do sistema interferon. Consequentemente o número aumentado de células infectadas apresentando alvos para as células T CD4+ e CD8+, resultam em liberação de uma grande quantidade de interleucinas, interferon e TNF (fator de necrose tumoral), que isoladamente ou combinados, podem contribuir para o dano endotelial e hemostasia alterada

Durante a DH, o sistema complemento pode ser ativado pelo antígeno NS1 e os níveis de citocinas C3a e C5a pode ser relacionado à severidade da infecção, bem como a concentração plasmática do antígeno (GUZMAN et al, 2010).

A resposta imune à infecção pelo dengue consiste na produção de anticorpos direcionados primariamente contra as proteínas do envelope do vírus. Essa resposta varia se é a primeira ou a segunda infecção do indivíduo. Uma resposta primária é vista em indivíduos que não são imunes a algum subtipo do vírus e uma resposta secundária ocorre nos paciente que já tiveram dengue (GUZMAN et al, 2010).

Uma infecção primária é caracterizada por uma resposta lenta e pequena titulação de anticorpos. As imunoglobulinas M (IgM) são as primeiras a aparecer, após o início da febre, do 3 ao 5 dia em 50% dos pacientes e a partir do 6º dia em 93 a 99% dos pacientes. Essas IgM permanecem no sangue por até 15 dias e depois de 60 dias desaparecem completamente. Imunoglobulinas do tipo IgG são detectadas em baixa titulações a partir do 7º dia da doença e sua concentração no sangue aumenta progressivamente. Numa infecção secundária, essas IgG's também reagem com o vírus mesmo na fase aguda da doença e a quantidade de IgM formada é consideravelmente menor, podendo resultar até mesmo em testes falso negativos para IgM. Como essas IgGs permanecerão por toda a vida, o diagnóstico a partir da segunda infecção é mais difícil (GUZMAN et al, 2010).

Essa capacidade do vírus em ativar ou não o sistema complemento pode ser a diferença entre o desenvolvimento da DC ou da DH. Outra hipótese sobre a fisiopatogenia do vírus da dengue é que a resposta secundária do linfócito T ao vírus é enfraquecida e a estimulação da célula T de memória produz linfócitos CD4+ e CD8+ com menor capacidade destruidora mas não altera a capacidade dessas células em liberar citocinas inflamatórias, o que contribuí para a severidade da infecção (GUZMAN et al, 2010)

1.5 ACHADOS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS:

A confirmação laboratorial das infecções pelo vírus da dengue é realizada através de exames específicos, como isolamento viral ou métodos sorológicos, que demonstram a presença de anticorpos da classe IgM, em única amostra de soro, ou o aumento do título de anticorpos IgG (conversão sorológica) (ASPECTOS, 2016)

O isolamento viral é considerado o método padrão e para isso deve-se ser realizado em amostras colhidas até o 5 dia do início dos sintomas, durante o período de viremia. O isolamento é feito através de técnicos de inoculação em culturas de células de *Aedes albopictus* e confirmadas por imunofluorescência direto com conjugado anti-flavivírus. O subtipo viral é determinado por imunofluorescência direta com anticorpos monoclonais de tipos específicos (AZIN, 2008).

Já as técnicas sorológicas consistem baseiam-se na detecção de anticorpos IgM específicos aos quatro sorotipos do vírus da dengue como a técnica de ELISA de captura de IgM (Mac-Elisa). Outras técnicas consistem na detecção de antígenos virais e/ou ácido nucléico viral, reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa

(RT-PCR), imunofluorescência, imunohistoquímica, hibridização *in situ* ou diagnóstico histopatológico (AZIN, 2008).

1.5.1 Hemograma:

O hemograma de um paciente com dengue tem como característica principal a leucopenia, que pode chegar a menos de 2000 leucócitos por mm³. Existem relatos de discreta leucocitose no início da doença. No início da doença o hemograma pode apresentar-se com discreta neutrofilia, seguida de linfocitose com presença de linfócitos atípicos (AZIN, 2008).

O hematócrito do paciente pode aumentar em até 20% no caso de complicações e é um parâmetro importante a ser monitorado. Ocorre também, com frequência, a trombocitopenia com contagens inferiores a 100.000/mm³ (AZIN, 2008)

2. MÉTODOS:

Para este estudo foram considerados os pacientes com diagnóstico de dengue que compareceram ao laboratório de Análises Clínicas Della Bianca, na cidade de Ipiranga-PR. As amostras dos pacientes foram colhidas e os exames foram realizados conforme pedido médico. Em alguns paciente foi realizado o teste rápido para detecção de anticorpos IgM/IgG ou detecção do antígeno NS1. Todos os pacientes com suspeita tiveram amostras encaminhadas através do setor de epidemiologia do município ao Laboratório Central do Estado (LACEN-PR) para confirmação do diagnóstico.

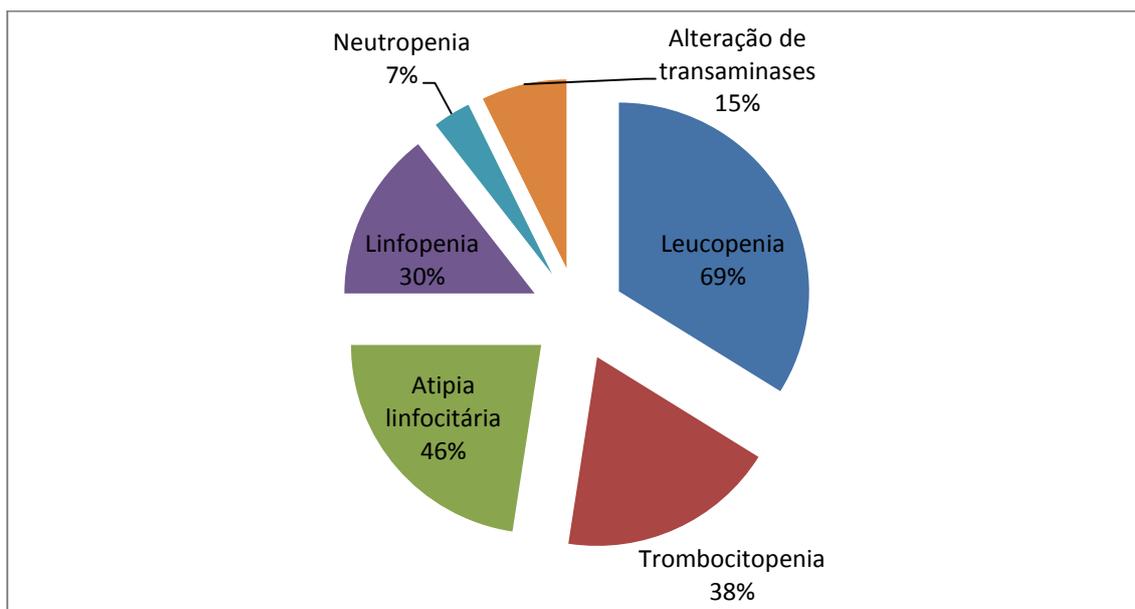
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Foram estudados 61 pacientes sem distinção de sexo ou faixa etária, durante os meses de março a maio de 2016. Todos eles tiveram diagnóstico de dengue, inicialmente no teste rápido imunocromatográfico com pesquisa de anticorpos IgG ou IgM ou pesquisa de antígeno NS1, com confirmação posterior pelo Laboratório Central do Estado do PR – LACEN-PR.

Foram excluídos os pacientes que apesar de apresentarem sintomas e alterações hematológicas compatíveis com dengue, não tiveram confirmação sorológica pelo teste rápido ou pela metodologia realizada no laboratório de referência (LACEN-PR).

Não houve uma padronização do dia do curso da doença em que o sangue foi coletado, uma vez que os dados foram obtidos no momento em que os pacientes procuraram atendimento nos postos de saúde ou no hospital do município. Entretanto, dois pacientes foram voluntários na pesquisa, e houveram coletas diárias por quinze dias desde o primeiro dia dos sintomas até o final do curso da doença, após quinze dias.

Gráfico 1 – Alterações hematológicas encontradas nos pacientes.



Fonte: o autor (2016)

O valor de referência considerado para este trabalho está colocado no quadro 2.

Quadro 2 – Valores de referência considerados para o estudo

Leucócitos	4300 – 10000 /mm ³
Plaquetas	135 – 450000/ mm ³
Linfócitos Atípicos	Até 2%
Neutrófilos	1075 – 7300 /mm ³
Linfócitos	860 – 5200 /mm ³
AST	20 – 40 mg/dL
ALT	20 – 40 mg/dL

No gráfico podemos observar que 69% dos pacientes apresentaram leucopenia e 38% apresentaram trombocitopenia em algum período do curso da doença. É sabido que doenças virais podem induzir uma leucopenia (ABCMED, 2014). As citocinas produzidas e liberadas por macrófagos, como a interleucina-2, e seu receptor solúvel CD4, a interleucina-1-beta, bem como o interferon-gama e interferon-alfa, o fator de ativação plaquetária desempenham papel importante na defesa contra infecções virais, inibindo a replicação viral direta ou indiretamente e a fase de viremia da dengue e são responsáveis pela leucopenia e trombocitopenia (AZIN, 2008).

Dados semelhantes foram encontrados por Oliveira e colaboradores (2009), que estudou 543 pacientes, com ocorrência de em leucopenia em 67,8% dos pacientes. Ayyub e colaboradores também evidenciaram a ocorrência de 79,5% de plaquetopenia e de 48,73% de leucopenia¹. Ao contrário, diferem daqueles encontrados em 2008 no Pará, no qual a presença de leucopenia foi de 25,2%, de plaquetopenia foi de 24,3% e de ambos foi de 13,3%³.

Apesar de haverem relatos na literatura de leucocitose no início da doença, nenhum caso de leucocitose foi observado nos pacientes estudados.

Para os dois pacientes que foram voluntários para as coletas diárias, os resultados seguem no quadro 3:

Quadro 3 – Hemograma com as intercorrências diária dos pacientes que foram voluntários na pesquisa

1° dia	Hemograma com contagem normal de leucócitos e sem alterações significativas.
2° dia	Hemograma com contagem de leucócitos diminuída em relação ao primeiro dia, mas ainda dentro dos valores normais de referência. Inicia-se um quadro de neutrofilia relativa e o número de bastonetes aumenta.
3°, 4°, 5° e 6° dia	Hemograma com contagem de leucócitos diminuída em relação ao segundo dia já apresentando leucopenia. Presença de linfócitos atípicos chegando a 10% dos linfócitos. Neutrofilia relativa aumenta e o número de bastonetes aumenta significativamente. Neutrófilos apresentam-se hipossegmentados. Alguns pacientes apresentaram metamielócitos. Houve um aumento de 10% no hematócrito de um dos pacientes.
7° e 8° dia	Aumenta a contagem relativa dos linfócitos. Os linfócitos atípicos permanecem em torno de 10%. Neutrófilos começam a apresentar núcleos mais segmentados. Bastonetes ainda continuam aumentados.
9° dia	Pacientes não apresentaram mais leucopenia. Neutrófilos estão com

	segmentação normal. Ainda há presença de bastonetes, mas dentro dos valores de referência absolutos. Presença de linfócitos atípicos diminui para 8% aproximadamente. Hematócrito normal.
10° e 11° dia	Leucograma com valores absolutos normais. Ainda há presença de linfócitos atípicos, neutrófilos normais, bastonetes em torno de 1%.
12 a 15° dia	Hemograma com características normais. Presença ainda de 3% de linfócitos atípicos.
16°	Hemograma com características normais. Presença de 1% de linfócitos atípicos, considerado normal.

Fonte: o autor

Os linfócitos atípicos foram observados em 46% dos pacientes. A morfologia predominantemente observada foi de linfócitos com citoplasma variando de basófilico a normal com contorno irregular, podendo apresentar vacúolos, núcleo condensado mas algumas células apresentavam cromatina mais frouxa. A contagem relativa variou entre 3 a 25% dos leucócitos totais. Os achados de Oliveira e colaboradores corroboram com essa pesquisa, pois 66,9% dos pacientes estudados por estes pesquisadores apresentaram linfócitos atípicos e a porcentagem de linfócitos no sangue periférico variou de 1% a 35%.

Uma grande quantidade de pacientes (30%) apresentaram linfopenia. Em alguns casos de viremia aguda, os linfócitos podem sofrer destruição acelerada pelo aumento da captura pelo baço ou linfonodos (MANUAL MERCK, 2016).

Oliveira e colaboradores encontraram linfopenia em 67,8%. Conforme estudo de Liu e colaboradores, a maioria dos pacientes com linfopenia apresenta redução no número de linfócitos T, principalmente CD4, sabendo-se que 80% dos linfócitos circulantes são linfócitos T e destes, 2/3 são linfócitos CD4.

6. REFERÊNCIAS:

SOBRE a dengue. Disponível em: <http://www.dengue.org.br/dengue.html>. Acesso em: 16 mai 2016.

ESTUTI, Anderson Corrêa . **Distúrbios hematológicos causados por dengue.** Disponível em:

http://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/revista_virtual/hematologia/rabdistorbiosdengue.pdf. Acesso em 16 de maio de 2016.

AZIN, F. R. F. G. **Dinamica do perfil hematológico e Bioquímico dos pacientes com dengue internado no hospital São José de doenças infecciosas em Fortaleza** – Ceará no período de janeiro a maio de 2008. 2010. 100 fls. Dissertação (Mestrado em Patologia) – Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará. Fortaleza.

GUZMAN, Maria G.; Halstead, SCOTT B.; ARTSOB, Harvey, BUCHY, Philippe. FARRAR, Jeremy, GUBLER, Duane J.; HUNSPERGER, Elizabeth, KROEGER, Axel; MARGOLIS, Harold. S.; MARTINEZ, Eric. NATHAN, Michael B.; PELEGRINO, Jose Luis; SIMMONS, Cameron; YOKSAN, Sutee; PEELING, Rosanna W. **Dengue: a continuing global threat**. 2010. Disponível em: www.nature.com/reviews/micro. Acesso em: 17 maio 2016.

TAUIL, Pedro Luiz. **Aspectos críticos do controle do dengue no Brasil**. Rio de Janeiro: Cad. Saúde Pública, nº18 (3):867-871, mai-jun, 2002.

TURCO, Edlaine Aparecida Moreale. **Aspectos epidemiológicos, clínicos e diagnóstico laboratorial do dengue hemorrágico e síndrome do choque do dengue**. São José do Rio Preto: Academia de Ciência e Tecnologia, 2002. 82 f. Monografia – Especialização em Análises Clínicas – Academia de Ciência e Tecnologia, 2002.

ASPECTOS Clínicos e Laboratoriais. Disponível em: <http://www.dengue.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=12>. Acesso em: 27 maio 2016.

ABCMED, 2014. **Entendendo a leucopenia e suas causas**. Disponível em: <http://www.abc.med.br/p/sinais.-sintomas-e-doencas/546247/entendendo-a-leucopenia-e-suas-causas.htm>. Acesso em: 6 jun. 2016.

MANUAL MERCK. **Leucopenia e linfopenia**. Disponível em: http://www.msdlatinamerica.com/profissionais_da_saude/manual_merck/secao_11/secao_11_135.html. Acesso em: 6 jun. 2016.

OLIVEIRA, Éveny Cristine Luna de et al . **Alterações hematológicas em pacientes com dengue.** Rev. Soc. Bras. Med. Trop., Uberaba , v. 42, n. 6, p. 682-685, Dec. 2009 . Available from<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S00376822009000600014&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 07 Jun. 2016.

AYYUB M, KHAZINDAR AM, LUBBAD EH, BARLAS S, ALFI AY, AL-UKAYLI S. **Characteristics of dengue fever in a large public hospital, Jeddah, Saudi Arabia.** Journal Ayub Medical College 18:9-13, 2006.

BARROS LPS, IGAWA SES, JOCUNDO AY, BRITO JÚNIOR LC. **Análise crítica dos achados hematológicos e sorológicos de pacientes com suspeita de dengue.** Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia 30:363-366, 2008.

LIU CC, HUANG KJ, LIN YS, YEH TM, LIU HS, LEI HY. Transient CD4/CD8 ratio inversion and aberrant immune activation during dengue virus infection. Journal of Medical Virology 68:241-252, 2002.