



**FUNDAÇÃO EDSON QUEIROZ  
UNIVERSIDADE DE FORTALEZA - UNIFOR  
VICE-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO – VRPG  
MESTRADO EM CIÊNCIAS MÉDICAS**

**ANÁLISE DA SÍNDROME FEBRIL INDIFERENCIADA  
EM PACIENTES PEDIÁTRICOS COM SUSPEITA  
CLÍNICA DE DENGUE EM FORTALEZA-CEARÁ**

**SÔNIA MARIA CAVALCANTE DA ROCHA**

**FORTALEZA  
2016**

**SÔNIA MARIA CAVALCANTE DA ROCHA**

**ANÁLISE DA SÍNDROME FEBRIL INDIFERENCIADA  
EM PACIENTES PEDIÁTRICOS COM SUSPEITA  
CLÍNICA DE DENGUE EM FORTALEZA-CEARÁ**

Dissertação submetida à Coordenação do  
Curso de Pós-Graduação em Ciências Médicas  
da Universidade de Fortaleza, como requisito  
para obtenção do título de Mestre em Ciências  
Médicas.

Orientadora: Profa. Dra Danielle Malta Lima

FORTALEZA

2016

Ficha catalográfica da obra elaborada pelo autor através do programa de geração automática da Biblioteca Central da Universidade de Fortaleza

---

ROCHA, SONIA MARIA CAVALCANTE .

ANÁLISE DA SÍNDROME FEBRIL INDIFERENCIADA EM PACIENTES PEDIÁTRICOS COM SUSPEITA CLÍNICA DE DENGUE EM FORTALEZA-CEARÁ: Dissertação para obtenção do título de Mestre em Ciências Médicas-UNIFOR-2016 / SONIA MARIA CAVALCANTE ROCHA. - 2010. - 106 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade de Fortaleza. Programa de Mestrado em Ciências Médicas, Fortaleza, 2010.

Orientação: DANIELLE MALTA LIMA.

Coorientação: OLÍVIA ANDRÉA ALENCAR BESSA.

1. DENGUE. 2. LEPTOSPIROSE. 3. LEISHMANIOSE. 4. SÍNDROME FEBRIL AGUDA. 5. CRIANÇA. I. LIMA, DANIELLE MALTA. II. BESSA, OLÍVIA ANDRÉA ALENCAR. III. Título.

---

SÔNIA MARIA CAVALCANTE DA ROCHA

ANÁLISE DA SÍNDROME FEBRIL INDIFERENCIADA EM PACIENTES  
PEDIÁTRICOS COM SUSPEITA CLÍNICA DE DENGUE EM FORTALEZA-  
CEARÁ

Área de Concentração: Ciências Médica

Linha de Pesquisa: Biologia Celular e Molecular do desenvolvimento

BANCA EXAMINADORA

---

Profª. Dra. Danielle Malta Lima (Orientadora)  
Universidade de Fortaleza- UNIFOR

---

Prof. Dra Maria Jânia Teixeira  
Universidade Federal do Ceará- UFC

---

Prof. Dra Olívia Andréa Alencar Costa Bessa  
Universidade de Fortaleza- UNIFOR

---

Prof. Dr. Jeová Keny Baima Colares  
Universidade de Fortaleza- UNIFOR

Aprovada em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pelo dom da vida e pelas bênçãos que recebo a cada momento. Obrigada por transformar meu lamento em alegria, meu desânimo em otimismo, minha incerteza em fé e especialmente meus sonhos em realidade.

À minha orientadora, Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Danielle Malta Lima, que me acolheu e incentivou durante toda essa jornada, contribuindo significativamente para minha formação científica. Obrigada pela paciência, compreensão, ensinamentos e afetuosidade até mesmo nos momentos mais sérios. Levarei suas orientações pelo resto da vida.

Aos meus pais e irmãos, pelo apoio e compreensão, que apesar da distância, sei que posso contar em qualquer circunstância. Obrigada pela presença de vocês na minha vida e por todo o carinho e atenção.

Ao meu marido Eliéser e às minhas filhas, Thaís e Camila, pelo incentivo, paciência e companheirismo. Vocês me dão coragem para enfrentar os desafios, assim como a segurança e a certeza de que não estou sozinha nessa caminhada.

Aos colegas do Laboratório de Pesquisa em Bioagentes Patogênicos da Unifor e ao de Análises clínicas dos Hospitais Albert Sabin e Centro de Assistência Lúcia de Fátima, em especial ao Raull, Daniela, Vanda e Anquises, pois sem eles esse projeto não teria saído do papel.

Às residentes Milka e Cinara e ao graduando Lucas pela ajuda no recrutamento dos participantes do estudo.

Aos membros da banca pelo interesse e disponibilidade.

A todas as outras pessoas que porventura não foram citadas, mas que de alguma forma participaram, contribuindo direta ou indiretamente do desenvolvimento deste trabalho, meus agradecimentos.

Ao CNPQ pelo apoio financeiro na realização desse trabalho.

*“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”*

Arthur Schopenhauer

## RESUMO

**Objetivo:** Avaliar, a partir de um grupo de crianças notificadas com suspeita clínica de dengue, se há uma superestimação desse diagnóstico, em relação à outras patologias febris agudas, principalmente a leptospirose, quando o mesmo é baseado somente nos critérios clínicos-epidemiológicos e testes laboratoriais inespecíficos.

**Metodologia:** estudo observacional, transversal descritivo e analítico, a partir da busca ativa de pacientes com quadro febril agudo até dez dias de evolução. Os participantes foram recrutados na emergência e na enfermaria de dois hospitais pediátricos situados no município de Fortaleza (CE), no período de setembro/2015 a março/2016. Os dados clínicos e epidemiológicos foram colhidos através de questionários e, os laboratoriais foram avaliados para dengue através dos testes imunocromatográficos, sorológicos, e moleculares, sendo as amostras negativas investigadas para *Leptospira sp* e *Leishmania sp* através de métodos moleculares. As análises dos dados foram realizadas pelo teste paramétrico Análise de Variância (ANOVA) associado ao teste *Post Hoc* de Tukey. E as variáveis categóricas foram avaliadas pelo teste Qui-Quadrado ou o Teste exato de Fisher. O nível de significância utilizado foi de 95%. O valor de p bilateral menor que 0,05 ( $p < 0,05$ ) foi considerado estatisticamente significativo.

**Resultados:** a amostra total foi de 99 indivíduos, com 86 participantes validados. Obteve-se 45% de casos confirmados para dengue, 5% foram resultados positivos para leptospirose, 1% para leishmania e 49% apresentaram resultados negativos para esses agentes, sendo este grupo denominado como dengue-símile. A análise comparativa evidenciou grande similaridade entre os subgrupos em relação as variáveis analisadas. A faixa etária predominante foi de indivíduos entre três e dez anos de idade. Não houve diferenças significativas de gênero. E, durante a análise das manifestações clínicas constatou-se que na infância foi comum a presença de sintomas gastrointestinais e respiratórios, sendo náuseas, vômitos e rinorréia, os mais frequentes.

**Conclusão:** Apesar da dengue ser um importante diagnóstico de síndrome febril aguda é frequente ocorrer uma maior valorização desta, em detrimento à outras patologias similares, como a leptospirose. Portanto, é de suma importância o diagnóstico laboratorial específico, principalmente na infância, em virtude da inespecificidade do quadro clínico, pois embora haja similaridade clínica-epidemiológica entre as doenças, são tratadas de modos distintos.

**Palavras-chave:** Dengue, leptospirose, síndrome febril aguda, criança.

## ABSTRACT

**Objective:** To evaluate, from a group of children with suspected dengue fever, an overestimation of this diagnosis, in relation to other acute febrile diseases, mainly leptospirosis, when it is based only on non-specific clinical-epidemiological and laboratory criteria.

**Methodology:** observational, descriptive and analytical cross - sectional study, from the active search of patients with acute febrile illness up to ten days of evolution. Participants were recruited in the Emergency and Infirmary of two pediatric hospitals located in the municipality of Fortaleza (CE), from September / 2015 to March / 2016. Clinical and epidemiological data were collected through questionnaires and the laboratories were evaluated for dengue through immunochromatographic and serological tests, and the negative samples were investigated for *Leptospira sp* and *Leishmania sp* by molecular methods. Data analyzes were performed using the parametric analysis of variance (ANOVA) associated with the Tukey Post Hoc. And the categorical variables were evaluated by Chi-Square test or Fisher's exact test. The level of significance was 95%. The bilateral p-value less than 0.05 ( $p < 0.05$ ) was considered statistically significant.

**Results:** the total sample was 99 individuals, with 86 participants validated. 45% of cases were confirmed for dengue, 5% were positive for leptospirosis, 1% for visceral leishmaniasis and 49% presented negative results for these agents, being this group denominated as dengue-like. The comparative analysis showed a great similarity between the subgroups in relation to the analyzed variables. The predominant age group was individuals between three and ten years old. There were no significant gender differences. And, during the analysis of the clinical manifestations, it was observed that in childhood the presence of gastrointestinal and respiratory symptoms is common, being nausea, vomiting and rhinorrhea, the most frequent ones.

**Conclusion:** Although dengue is an important diagnosis of acute febrile syndrome, it is frequently more prevalent, in detriment to other similar pathologies, such as leptospirosis. Therefore, it is of paramount importance the specific laboratory diagnosis, especially in childhood, due to the lack of specificity of the clinical picture, because although there are clinical-epidemiological similarities among the diseases, they are treated in different ways.

**Key words:** Dengue, leptospirosis, acute febrile syndrome, child.

## LISTA DE ABREVIATURAS

ALT	- Alanina aminotransferase
AST	- Aspartato aminotransferase
CAC	- Centro de Assistência à Criança Lúcia de Fátima S.A
CEVEPI	- Célula de Vigilância Epidemiológica
CIEVS	- Centro de Informações Estratégicas em Vigilância em Saúde no Estado do Ceará
DNA	- Ácido desoxirribonucléico
DENV-1	- Vírus dengue 1
DENV-2	- Vírus dengue 2
DENV-3	- Vírus dengue 3
DENV-4	- Vírus dengue 4
ECLIA	- Eletroquimioluminescência
ELISA	- Ensaio de imunoabsorção enzimática
HI	- Inibição da Hemaglutinação
HIAS	- Hospital Infantil Albert Sabin
IgG	- Imunoglobulina G
IgM	- Imunoglobulina M
LV	- Leishmaniose Visceral
MAC-Elisa	- ELISA para detecção de anticorpos IgM
MAT	- Microaglutinação
MS	- Ministério da Saúde
NS1	- Proteína não estrutural 1 do vírus dengue
OPS	- Organização Pan-Americana da Saúde
PCR	- Reação em cadeia da Polimerase
RNA	- Ácido Ribonucléico
RT-PCR	- Reverse transcriptase – polymerase chain reaction (Reação em Cadeia da Polimerase precedida de Transcrição reversa)
SESA	- Secretária da Saúde do Estado do Ceará
SMS	- Secretaria Municipal de Saúde de Fortaleza
SUS	- Sistema Único de Saúde
WHO/OMS	- Organização Mundial de Saúde

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Distribuição de países ou áreas de risco de transmissão de dengue no mundo.....	18
Figura 2: Casos notificados de dengue na cidade de Fortaleza no ano de 2015.....	20
Figura 3: Casos de dengue em Fortaleza estratificados por mês e sorotipo no ano de 2015.	20
Figura 4: Organização estrutural do vírus dengue.....	21
Figura 5: Ciclo de transmissão da dengue no vetor e no ser humano .....	22
Figura 6: Esquema de classificação da dengue, segundo as manifestações clínicas .....	23
Figura 7: Gráfico representativo do método de escolha diagnóstica para dengue em relação ao tempo .....	24
Figura 8: Comparação entre os métodos diretos e indiretos para o diagnóstico das infecções por DENV considerando a disponibilidade e a especificidade.....	25
Figura 9: Distribuição da incidência anual de casos de leptospirose no mundo .....	26
Figura 10: Incidência dos casos confirmados de leptospirose no Ceará por faixa etária. No período de 2009 a 2014.....	28
Figura 11: Ciclo de transmissão da <i>Leptospira sp.</i> .....	30
Figura 12: Distribuição de leishmaniose visceral no mundo em 2012 .....	33
Figura 13: Proporção de casos de leishmaniose visceral segundo faixa etária.....	34
Figura 14: Ciclo de transmissão da <i>Leishmania sp.</i> .....	36
Figura 15: Fluxograma de investigação para pacientes com hipótese diagnóstica de dengue .....	44

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Oligonucleotídeos utilizados nas reações RT-PCR- Dengue.....	46
Tabela 2- Oligonucleotídeos utilizados nas reações de PCR- <i>Leptospirase sp</i> .....	46
Tabela 3- Oligonucleotídeos utilizados nas reações de PCR- <i>Leishmania sp</i> .....	47
Tabela 4- Classificação do grupo conforme a época da doença em que os exames foram colhidos (<5 ou >5 dias) .....	50
Tabela 5- Descrição da análise da frequência de faixa etária dos pacientes estratificados por doença.....	51
Tabela 6- Distribuição de manifestações clínicas gerais presentes nos pacientes estratificados por diagnóstico da doença.....	52
Tabela 7- Distribuição de manifestações clínicas graves presentes nos pacientes estratificados por diagnóstico de doença.....	52
Tabela 8- Distribuição de manifestações clínicas respiratórias presentes nos pacientes estratificados por diagnóstico de doença.....	54
Tabela 9- Distribuição de manifestações clínicas gastrointestinais presentes nos pacientes estratificados por diagnóstico de doença.....	54
Tabela 10-Descrição dos resultados de hemograma de pacientes com dengue, leptospirase e dengue-símile.....	55
Tabela 11- Distribuição de manifestações gerais por diferentes faixas etárias dos participantes com dengue.....	57
Tabela 12- Distribuição de manifestações graves por diferentes faixas etárias dos pacientes com dengue.....	58
Tabela 13- Distribuição de manifestações respiratórias por diferentes faixas etárias dos participantes com dengue.....	58
Tabela 14- Distribuição de manifestações gastrointestinais por diferentes faixas etárias dos participantes com dengue.....	59
Tabela 15 - Distribuição de exames hematológicos e bioquímicos de participantes com dengue estratificados por faixa etária.....	60
Tabela 16- Distribuição de manifestações gerais por diferentes faixas etárias dos participantes com leptospirase.....	62

Tabela 17- Distribuição de manifestações respiratórias por diferentes faixas etárias dos participantes com leptospirose.....	63
Tabela 18- Distribuição de manifestações gastrointestinais por diferentes faixas etárias dos participantes com leptospirose.....	63
Tabela 19- Distribuição de exames hematológicos e bioquímicos dos participantes com leptospirose estratificados por faixa etária.....	63

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1- Representação gráfica da população durante as etapas do estudo.....	49
Gráfico 2- Descrição da classificação das doenças diagnosticadas, conforme frequência.....	50
Gráfico 3 - Distribuição dos pacientes, segundo o gênero, estratificados por doença...50	
Gráfico 4- Apresentação das manifestações clínicas mais frequentes da população estudada.....	51
Gráfico 5- Apresentação de participantes com dengue por gênero.....	56
Gráfico 6- Distribuição de participantes com dengue por faixa etária.....	56
Gráfico 7- Comparação do gênero por diferentes faixas etárias dos participantes com dengue.....	56
Gráfico 8- Distribuição de testes de infecção primária para dengue.....	60
Gráfico 9- Distribuição de testes de infecção secundária para dengue Elisa-IgG.....	60
Gráfico 10- Distribuição de sobreposição de testes de infecção primária e secundária para dengue.....	61
Gráfico 11- Distribuição de participantes com leptospirose por gênero.....	61
Gráfico 12- Distribuição de participantes com leptospirose por faixa etária.....	62
Gráfico 13- Distribuição de participantes com dengue-símile por gênero.....	64
Gráfico 14- Distribuição de participantes com dengue-símile por faixa etária.....	64

# SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
1.1 Revisão Bibliográfica .....	17
1.1.1.Dengue .....	17
1.1.1.1 . Epidemiologia.....	17
1.1.1.2. Agente etiológico, vetor e modo de transmissão.....	20
1.1.1.3 Aspectos clínicos e laboratoriais .....	22
1.1.2. LEPTOSPIROSE.....	26
1.1.2.1 Epidemiologia.....	26
1.1.2.2. Agente etiológico, vetor, reservatório e modo de transmissão.....	29
1.1.2.3. Aspectos clínicos e laboratoriais .....	31
1.1.3- LEISHMANIOSE .....	33
1.1.3.1 Epidemiologia.....	33
1.1.3.2. Agente etiológico, vetor, reservatório e modo de transmissão.....	34
1.1.3.3 Aspectos clínicos e laboratoriais .....	36
2 JUSTIFICATIVA.....	39
3 OBJETIVOS.....	40
3.1.Objetivo Geral.....	40
3.2.Objetivos Específicos .....	40
4 METODOLOGIA .....	41
4.1 Delineamento do estudo .....	41
4.2 População do estudo .....	41
4.3. Definição do caso confirmado de dengue .....	41
4.4. Área de estudo.....	42
4.5. Coleta dos dados .....	42
4.6. Processamento das amostras .....	43
4.7. Técnicas laboratoriais .....	43
4.7.1. Dengue.....	43
4.7.1.1. Teste imunocromatográfico NS1 Ag Strip.....	44
4.7.1.2. Dengue NS1 ELISA.....	45
4.7.1.3. IgM ELISA Dengue.....	45

4.7.1.4. IgG ELISA Dengue .....	45
4.7.1.5. Diagnóstico molecular .....	45
4.7.2. <i>Leptospira sp</i> .....	46
4.7.2.1. Diagnóstico molecular .....	46
4.7.3. <i>Leishmania sp</i> .....	47
4.7.3.1. Diagnóstico molecular .....	47
4.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	47
4.9. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	48
5 RESULTADOS .....	49
6 DISCUSSÃO .....	66
7 CONCLUSÕES .....	78
REFERÊNCIAS .....	79
APÊNDICE A .....	93
APÊNDICE B.....	96
APÊNDICE C.....	97
ANEXO.....	101



# 1 INTRODUÇÃO

A febre é uma das principais responsáveis pelo grande número de consultas nos Serviços de Pronto Atendimento Pediátrico. Sendo comum, aos pais recorrerem aos profissionais de saúde após o primeiro episódio febril por receio a uma doença grave, pois para os cuidadores a febre não é uma manifestação da doença, ela corresponde a própria doença (CROCETTI; MOGHBELI; SERWINT, 2001). E, devido a essa crença equivocada dos pais, em 1980, o médico Barton Schmitt criou o termo “fever phobia” fobia de febre (BETZ; GRUNFELD, 2006). Segundo Hutchinson (1907), febre se refere a uma elevação da temperatura corporal acima dos limites superiores da normalidade. Todavia, não há um consenso sobre uma temperatura ideal, visto que a idade, o gênero, a variação circadiana, os fatores climáticos, a atividade física e o local de medição da temperatura interferem no valor final, provocando pequenas variações. Vale ressaltar, que a febre dificilmente é um sinal clínico isolado, pois frequentemente está associada a outros sinais e sintomas. Além disso, a sua intensidade reflete a resposta imune do indivíduo, desmistificando o mito que febre alta é sinônimo de doença mais grave (MURAHOVSKI, 2003).

Apesar de todo o conhecimento sobre o tema é comum os profissionais de saúde se sentirem angustiados durante um atendimento de uma criança com sinais e sintomas inespecíficos. A presença de febre combinada a manifestações clínicas inespecíficas por um período superior a 24 horas e inferior a 7 dias é denominada síndrome febril aguda, e os agentes infecciosos, quer sejam virais ou bacterianos, são os principais responsáveis pelo desencadeamento do quadro clínico (KLIEGMAN; BEHRMAN; JENSON; STANTON, 2005). Entre as infecções pertencentes a esse grupo pode-se citar: rubéola, escarlatina, dengue, sarampo, exantema súbito, enterovirose, mononucleose infecciosa, parvovirose, influenza, malária, chikungunya, hepatites virais, citomegalovirose, hantavirose, febre amarela, leptospirose, riquetsioses, meningococemia, meningites, entre outras (SIMMONS, 2012).

Contudo, mesmo com a pluralidade de diagnósticos, na maioria dos atendimentos clínicos, principalmente na faixa etária pediátrica, não há solicitação de exames complementares para reconhecimento do agente etiológico, e o diagnóstico definitivo restringe-se à avaliação clínico-epidemiológica (MURAHOVSKI, 2003).

Os principais responsáveis por esse cenário são a benignidade do quadro, o caráter autolimitado das doenças em um elevado percentual de pacientes (GUNDUZ et al, 2016); a dificuldade para realização de exames laboratoriais específicos e o atraso para entrega dos resultados. Todavia, o reconhecimento do micro-organismo é relevante, pois, caso o diagnóstico não seja realizado em tempo hábil, os pacientes podem evoluir com complicações graves e, conforme progressão da doença, podem ir a óbito. Além disso, com a globalização do turismo, cresce significativamente a probabilidade de casos importados, favorecendo o surgimento de casos autóctones e conseqüentemente a propagação de novas enfermidades, ou a reintrodução de doenças consideradas controladas ou erradicadas. Exemplos recentes aconteceram no país em 2014, com surtos de sarampo (ROCHA *et al.*, 2015) e chikungunya (NUNES et al. 2015) e, no ano seguinte, 2015, foi identificado o vírus zika (CAMPOS; BANDEIRA; SARDI, 2015; ZANLUCA et al., 2015).

Vale enfatizar, que a identificação do agente causal é de suma importância, pois também possibilita a elaboração de estratégias preventivas mais efetivas, visando diminuir a morbimortalidade da população da região. Nesse contexto, em virtude da grande variabilidade de patologias, as escolhas dos objetos de investigação desse estudo se basearam nos aspectos epidemiológicos do local da pesquisa e na viabilidade de execução dos exames específicos (imunocromatográficos, enzimáticos e moleculares). Em razão disso, foram priorizadas a dengue e a leptospirose, pois se tratavam de patologias endêmicas da região, que sofriam influências climáticas e socioeconômicas semelhantes, detinham incidência e prevalência significativas no município e, segundo estudos realizados por Fontes et al. (2014), no período de 2008, 2010 e 2012, em uma população adulta, havia uma subnotificação da leptospirose frente à dengue, quando o diagnóstico se baseava somente nos critérios clínicos e epidemiológicos. Entretanto, esses autores não realizaram análises com indivíduos menores de dezoito anos.

Apesar do estudo ter seu enfoque em doenças febris agudas, durante revisão bibliográfica observou-se que a leishmaniose visceral possuía características correlatas com a dengue e a leptospirose em sua fase inicial ou oligossintomática, alta suscetibilidade na faixa pediátrica (BADARÓ et al., 1986; BADARÓ, 1988; COSTA et al., 1990), além de ser uma doença endêmica na cidade de Fortaleza. Por essa razão, ela também se tornou foco de interesse, pois havia a probabilidade de as crianças pesquisadas serem portadoras oligossintomáticas, visto que a leishmaniose visceral em

regiões endêmicas possui alta prevalência de indivíduos infectados assintomáticos (MONTEIRO, 2013).

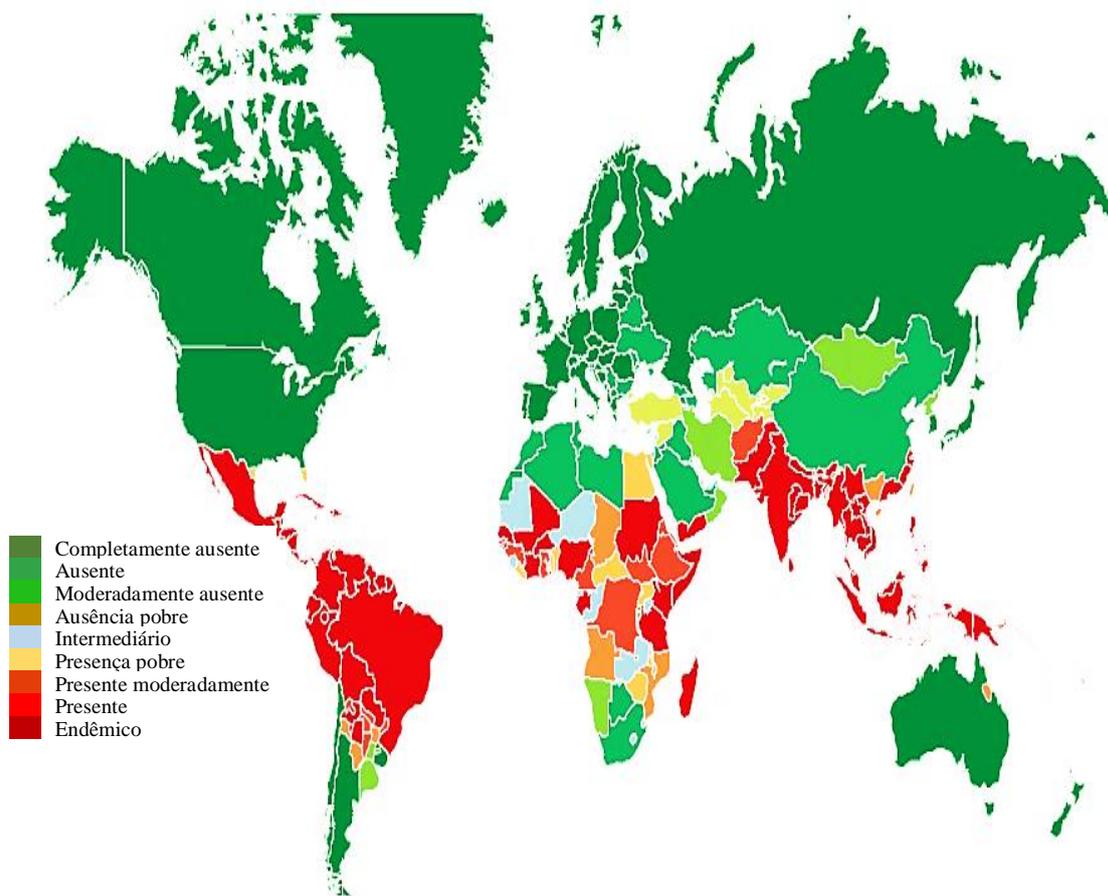
## **1.1 Revisão Bibliográfica**

### **1.1.1.Dengue**

#### **1.1.1.1 . Epidemiologia**

Dengue é uma arbovirose que possui ampla distribuição geográfica, sendo considerada um problema de saúde pública para muitos países e ocupando o posto de doença emergente e reemergente de maior crescimento na atualidade (KOURI, 2007). Atualmente estima-se que 80 milhões de pessoas se infectem anualmente em 100 países de todos os continentes, principalmente os de climas tropicais e subtropicais, sendo o Sudeste da Ásia, a América Latina e a Índia as regiões mais acometidas (WHO, 2009) (Figura 1). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a incidência de dengue aumentou em torno de trinta vezes nos últimos cinquenta anos; aproximadamente 500 mil doentes necessitam de hospitalizações, principalmente na faixa pediátrica, e cerca de 20 mil pacientes morrem em consequência de suas graves formas de manifestação (GUZMAN *et al.*, 2010). Vários fatores são apontados como responsáveis pelo surgimento e pela reemergência dessas epidemias pelo mundo, entre eles globalização; alterações climáticas, demográficas e sociais; urbanização desordenada; e saúde pública ineficaz (GUBLER, 2002).

**Figura 1-** Distribuição de áreas de risco de transmissão de dengue no mundo.



Fonte: Adaptada de WHO, 2014

No Brasil, os primeiros registros de dengue datam de 1916 na cidade de São Paulo (MEIRE apud BARRETO, 2008). Inicialmente restringiam-se a áreas isoladas, porém, ao longo dos anos, o vírus foi conquistando a atenção das autoridades públicas e, em janeiro de 1961, a doença foi incorporada à Lista de Doenças de Notificação Compulsória do país, conforme Decreto N° 49.974, pois, segundo o Ministério da Saúde, a doença preenchia os critérios estabelecidos para sua inclusão (BRASIL, 1961 apud BRASIL, 2014).

A primeira epidemia com confirmação laboratorial ocorreu em Boa Vista (Roraima) em 1982. No período, foram identificados os vírus dengue 1 (DENV-1) e dengue 4 (DENV-4). Nessa época, a epidemia foi controlada em poucos meses, principalmente em razão do combate eficaz ao *Aedes aegypti* (DONALÍSIO, 1995). Nos

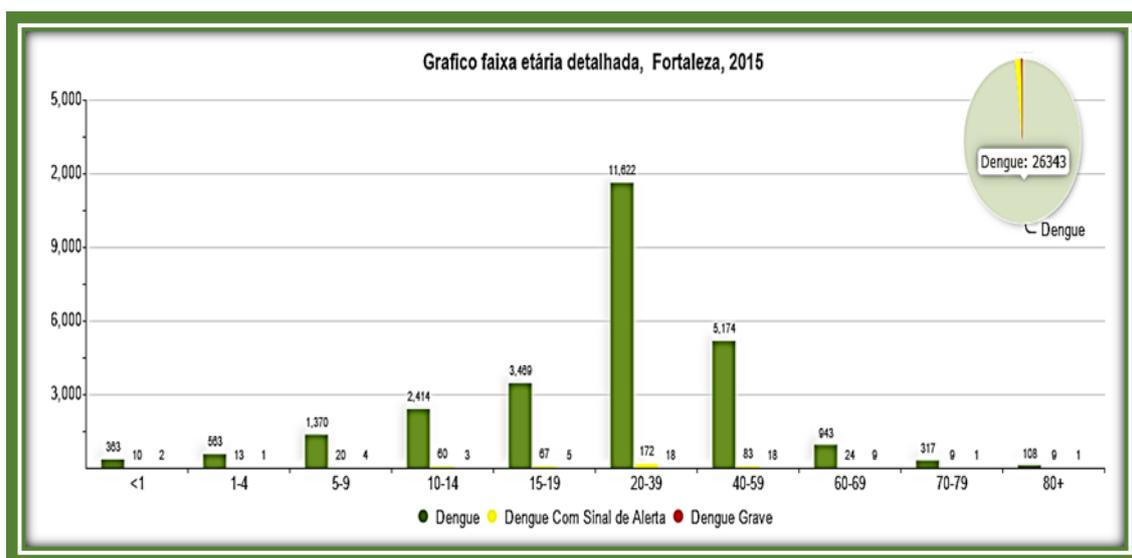
anos subsequentes, houve uma rápida dispersão do sorotipo DENV-1, provocando surtos isolados em pequenas cidades de vários estados brasileiros, como Rio de Janeiro, Minas Gerais, Bahia, Pernambuco, Alagoas e Ceará (TEIXEIRA et al., 1999).

Decorrida aproximadamente uma década da primeira epidemia, com o país vivenciando um período de baixa endemicidade da doença, os estados do Rio de Janeiro e, em menor proporção, do Ceará, de Alagoas e de Pernambuco se surpreenderam com a introdução do DENV-2, além do aumento da transmissão do DENV-1. Nessa época, observou-se uma elevação no número de pacientes com sinais de gravidade e necessidade de hospitalização (SIQUEIRA-JR. et al., 2005).

Em janeiro de 2001, na cidade de Nova Iguaçu (RJ), após intervalo de tempo similar à detecção do vírus dengue 2 (DENV-2) em relação ao DENV-1, isolou-se um novo sorotipo denominado dengue 3 (DENV-3) (NOGUEIRA et al., 2001), que desencadeou epidemias em vários estados da federação. Na década seguinte, no ano de 2010, também aproximadamente 10 anos após a identificação do último sorotipo em território nacional, constatou-se a reintrodução do DENV-4 no estado de Roraima, seguido por Amazonas, Pará e Rio de Janeiro (FIGUEIREDO *et al.*, 2012).

Atualmente os quatro sorotipos circulam no país e existem variações quanto ao aumento da incidência ao longo dos anos, sugerindo uma atividade cíclica associada a uma ineficácia da política nacional de saúde (BRASIL, 2014).

No Ceará, nos últimos 27 anos, a doença se manifestou de forma endêmica, com o registro de pelo menos seis epidemias nos anos de 1987, 1994, 2001, 2008, 2011 e 2012. Aproximadamente 47% dos municípios são considerados áreas de vulnerabilidade e alto risco (CEARÁ, 2014) Os principais sorotipos circulantes são DENV-1, DENV-2 e DENV-3. No ano de 2015, foram notificados 14.261 casos de dengue no município de Fortaleza, na faixa etária pediátrica (0-18 anos), sendo que 10.201 casos receberam o diagnóstico baseado na história clínica-epidemiológica e somente 3.972 pacientes apresentaram confirmação laboratorial. O sorotipo mais prevalente na população, nesse período, foi o DENV-1, seguido pelos DENV-4, DENV-3 e DENV-2 (FORTALEZA /SMS / SIDAM, 2016) (Figuras 2 e 3).

**Figura 2-** Casos notificados de dengue na cidade de Fortaleza, 2015.

Fonte: SMS/CIEVS, 2016

**Figura 3-** Casos de dengue estratificados em Fortaleza por mês e sorotipo no ano de 2015.

MES	SOROTIPO				TOTAL
	DENV 1	DENV 2	DENV 3	DENV 4	
JANEIRO	6	0	0	0	6
FEVEREIRO	3	0	0	0	3
MARÇO	7	0	0	0	7
ABRIL	31	0	0	0	31
MAIO	107	0	1	2	110
JUNHO	37	0	0	1	38
JULHO	11	0	1	0	12
AGOSTO	3	0	0	0	3
SETEMBRO	0	0	0	0	0
OUTUBRO	0	0	0	0	0
NOVEMBRO	0	0	0	0	0
DEZEMBRO	0	0	0	0	0
TOTAL	205	0	2	3	210

Fonte: SMS/CIEVS, 2016.

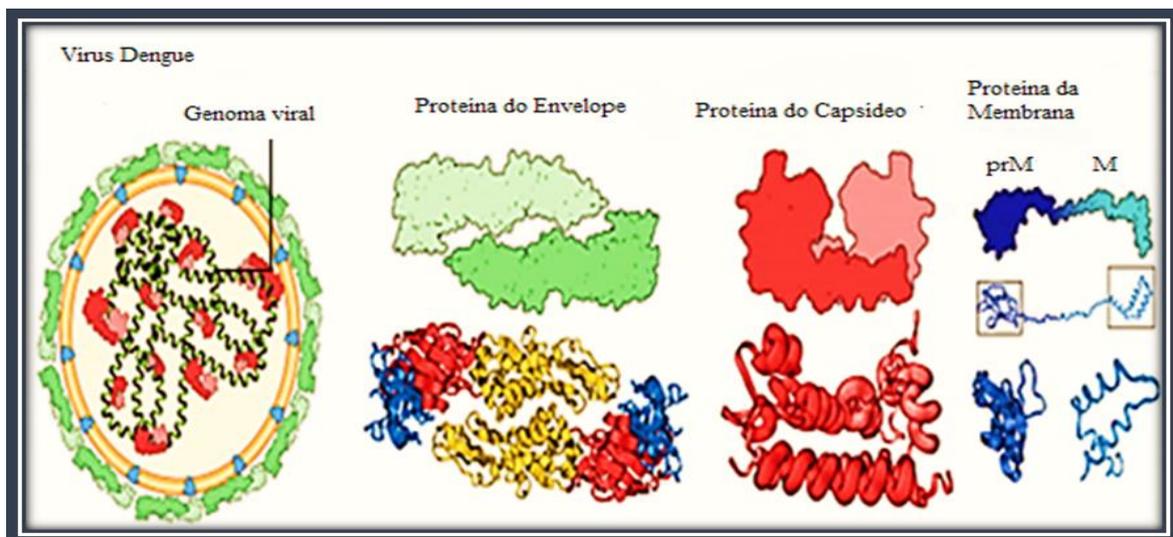
### 1.1.1.2. Agente Etiológico, Vetor e Modo de Transmissão

O vírus dengue (DENV) pertence à família Flaviviridae, ao gênero Flavivírus e possui quatro sorotipos, estreitamente relacionados, porém antígenicamente distintos (GLUBER, 1998). São vírus de genoma composto por ácido ribonucleico (RNA) que apresentam formato esférico, envelopado, medindo aproximadamente 50 nm de

diâmetro (GUZMAN et al., 2016). O genoma do vírion possui 10 genes que codificam três proteínas estruturais - C, prM e E - e sete não estruturais - NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4B, NS4A e NS5 (HENCHAL; PUTNAK, 1990).

A formação da proteína “M” a partir de um precursor (proteína pré-M) parece ser passo decisivo na morfogênese do vírus e está relacionada com o aumento da infectividade viral. A proteína “E” do envelope viral é o determinante antigênico da partícula viral (ZHANG, 2003). As proteínas não estruturais são responsáveis pela replicação dos vírus e pelo processamento da poliproteína. Em relação às proteínas não estruturais, a NS1 assumiu importante papel no diagnóstico precoce da doença, porque circula no soro dos pacientes na fase inicial do quadro clínico (YOUNG et al., 2000) (Figura 4).

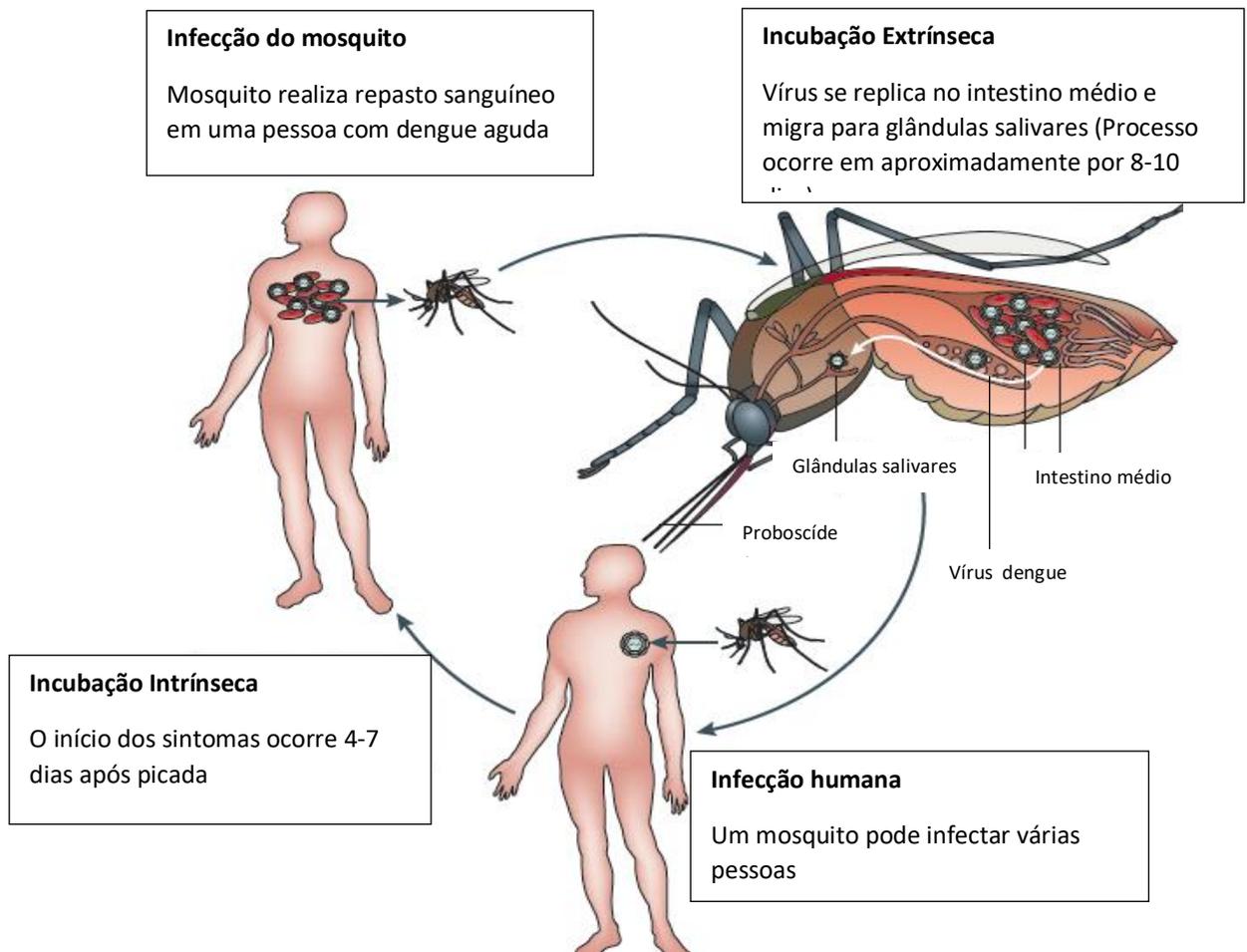
**Figura 4-** Organização estrutural do vírus dengue.



Fonte: Adaptado de Cruz-Oliveira et al, 2015.

O vírus dengue é transmitido ao homem através da picada da fêmea do mosquito vetor infectado. Ele é um dos únicos arbovírus que não necessita de um ciclo selvagem para a manutenção da transmissão epidêmica em humanos (WHITEHEAD et al., 2007) (Figura 5). As principais espécies envolvidas nessa transmissão são o *Aedes aegypti* e o *Aedes albopictus*, sendo o primeiro de maior importância epidemiológica (EFFER et al., 2005). Em raros casos de dengue, a transmissão pode ocorrer a partir de órgãos transplantados ou da transfusão de sangue de doadores infectados (JOOB, WIWANITKIT, 2014; LEVI, 2016).

**Figura 5-** Ciclo de transmissão da dengue no vetor (mosquito) e no ser humano.



Fonte: Adaptado de Guzman et al, 2016.

Várias hipóteses foram elaboradas com o intuito de esclarecer a patogênese da dengue, mas, nenhuma, isoladamente, pode explicá-la. A mais aceita postula que as formas mais graves são resultantes da interação de fatores virais (cepas de diferentes virulências); ambientais (circulação de diferentes sorotipos, alta densidade vetorial e endemicidade); e ligados ao hospedeiro (idade, sexo, estado nutricional, comorbidades) (GUZMAN; KOURI, 2002). É importante lembrar que os quatro sorotipos podem causar dengue com complicação ou fatal.

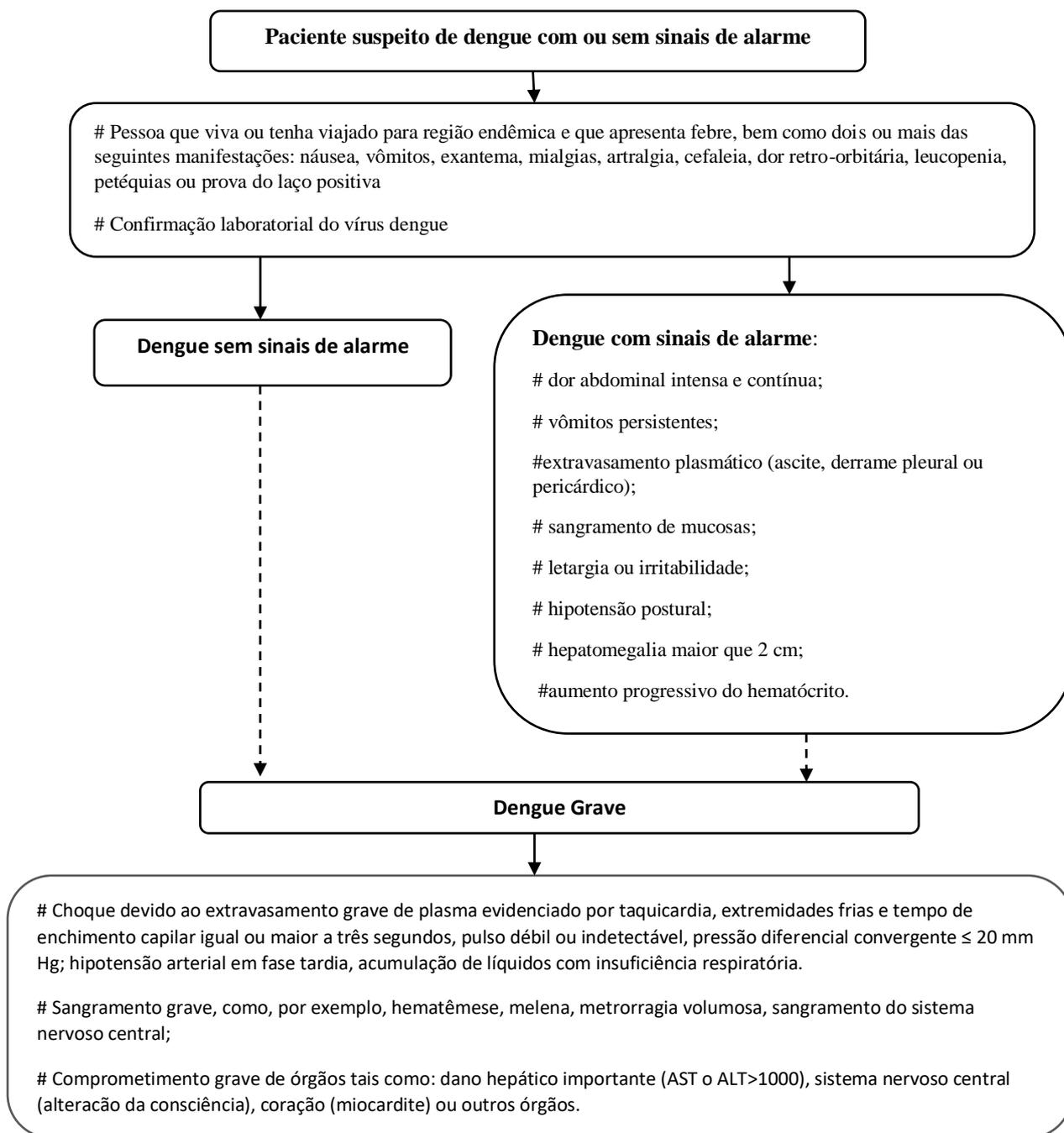
### 1.1.1.3 Aspectos clínicos e laboratoriais

Quanto ao quadro clínico, a dengue é caracterizada por um amplo espectro clínico que varia desde formas assintomáticas ou febre indiferenciada até formas mais graves que podem levar a óbito o paciente (WHITEHEAD et al., 2007). Conseqüentemente, ao

longo dos anos, várias classificações foram utilizadas para definir um paciente com dengue. Atualmente está em vigência a classificação proposta pela OMS em 2009, que se baseou na avaliação clínica e nos exames laboratoriais, dividindo os casos de dengue em duas categorias de gravidade: dengue (com ou sem sinais de alerta) e dengue grave (WHO, 2009).

A Figura 6 apresenta, esquematicamente, a classificação da dengue segundo suas manifestações clínicas.

**Figura 6-** Classificação esquemática da dengue, segundo as manifestações clínicas.



Fonte: Adaptado de WHO, 2009.

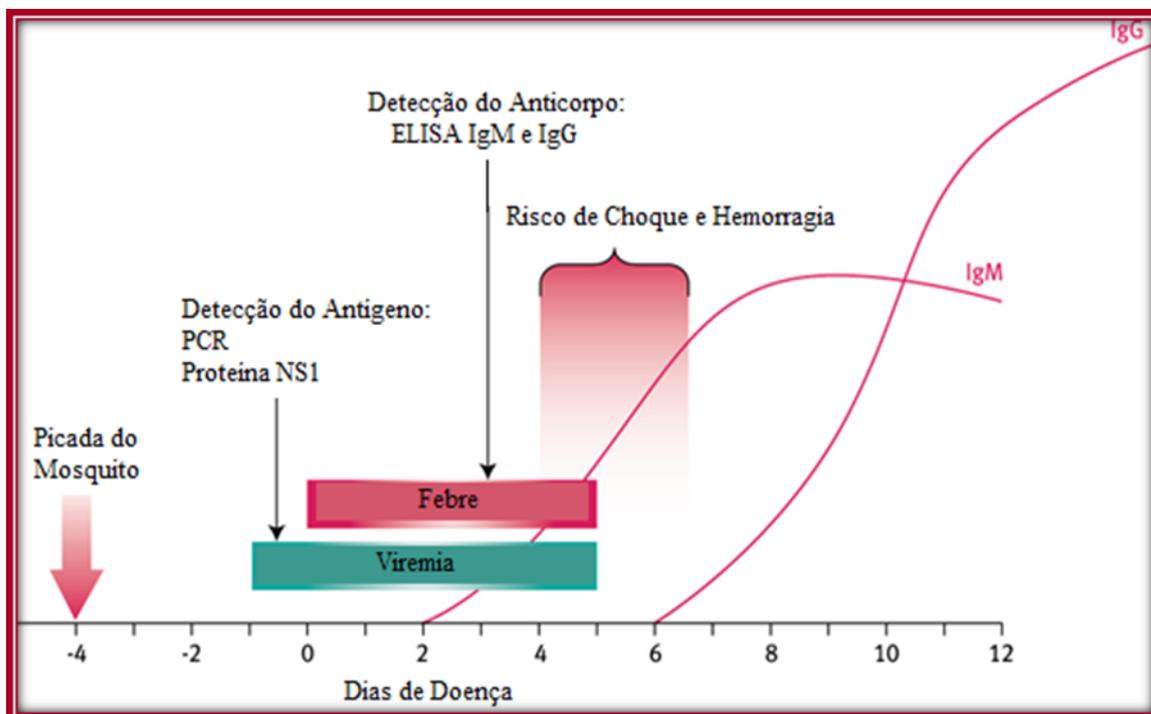
Vale ressaltar que em crianças menores de dois anos, principalmente nos menores de seis meses, o quadro clínico manifesta-se na forma de choro persistente, irritabilidade e adinamia, podendo ser confundido com inúmeras outras patologias infecciosas febris (ABE et al., 2012).

Em relação aos exames sanguíneos para paciente suspeito, eles podem ser divididos em exames específicos e não específicos:

- Inespecíficos: o hemograma (HMG) é o principal exame que se pode verificar o aumento do hematócrito (Hto), confirmando assim, a presença de hemoconcentração, tendo esses dados uma importância terapêutica e prognóstica. O leucograma pode evidenciar leucopenia com linfocitose e o número de plaquetas podem estar normal ou diminuídas. Outros exames, como eletrólitos, gasometria, coagulograma, transaminases e albumina sérica podem ser solicitados conforme a necessidade (RASHMI; HAMSAVEENA, 2015).

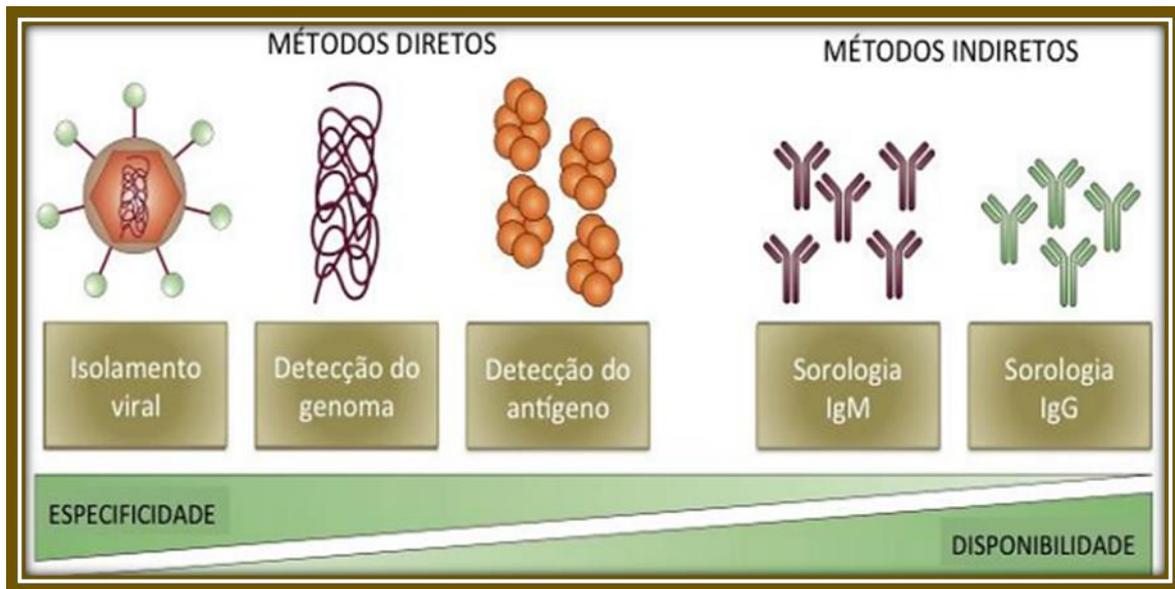
- Específicos: o método de escolha dependerá do tempo de início dos sintomas da doença, podendo ser um método direto ou indireto (Figura 7 e 8).

**Figura 7-** Representação do método de escolha diagnóstica para dengue em relação ao tempo.



Fonte: Adaptado de Queensland Health, 2011.

**Figura 8:** Comparação entre os métodos diretos e indiretos para o diagnóstico das infecções por DENV considerando a disponibilidade e a especificidade



Fonte: Adaptado de Pelling et al, 2010.

Na fase aguda, a infecção é diagnosticada através do isolamento viral em cultura de células por meio de técnicas de amplificação do RNA viral (RT-PCR) ou pelo reconhecimento de antígenos virais, como a proteína não estrutural 1 (NS1), pois não houve a conversão sorológica. Após o período de dez dias, término da fase aguda, o diagnóstico sorológico é o de eleição, pois a viremia e a antigenemia desaparecem, permitindo a detecção dos anticorpos específicos (WHO, 2009).

O isolamento viral é considerado padrão-ouro para o diagnóstico da infecção, pois se obtém o sorotipo e o genótipo do vírus. O método deve ser realizado a partir de uma amostra de sangue até cinco dias após o início dos sintomas (AHMED, 2010). A técnica de amplificação do genoma por RT-PCR (Transcrição reversa e reação em cadeia da polimerase) pode ser obtida através vários protocolos, que se modificam quanto à posição dos *primers* no genoma, ao método de extração e de detecção dos produtos, à especificidade e à sensibilidade (GUZMÁN, 2002).

O NS1 Ag é um exame que identifica a proteína não estrutural 1 presente nos vírus dengue (DENV), sendo um ótimo biomarcador sorológico para o diagnóstico (PAL et al., 2014).

O diagnóstico sorológico com a detecção dos anticorpos IgM e IgG são métodos indiretos, nos quais os anticorpos são detectados após 5 ou 6 dias e de 7 a 10 dias após o

início da sintomatologia, respectivamente. Os anticorpos IgM continuam detectáveis por aproximadamente dois meses e os anticorpos IgG se elevam na fase de convalescença, posteriormente voltam a diminuir e persistem em títulos baixos por toda a vida (GUZMÁN, 2002).

No Brasil, a grande maioria dos métodos disponibilizados pelo Sistema Único de Saúde à população são análises sorológicas que possuem baixa sensibilidade na fase de viremia (fase precoce), pois os métodos virológicos ou moleculares, mais específicos e sensíveis para esse período, são onerosos ou necessitam de laboratórios sofisticados, e técnicos especializados (GUBLER, 1998; EFFLER et al., 2000). Convém sublinhar que recentemente vem se destacando como método diagnóstico o teste imunocromatográfico NS1, pois é um teste rápido, de baixo custo, que não requer laboratórios sofisticados, e o antígeno encontra-se em grande quantidade na fase precoce, possuindo elevada sensibilidade nesse período (FRY, 2011; SILVA, 2011). Contudo, em muitas instituições médicas brasileiras, não há disponibilidade nem mesmo do teste imunocromatográfico, ficando o diagnóstico restrito aos critérios clínico-epidemiológicos, podendo acarretar uma superestimação da doença em detrimento a outras síndromes febris agudas.

Dentre as patologias que possuem grande correspondência clínico-epidemiológica com a dengue, pode-se citar a leptospirose, particularmente no seu estágio inicial, forma anictérica, e especialmente em áreas onde as duas doenças possuem elevada prevalência e o diagnóstico somente é possível após realização de exames laboratoriais (LAROCQUE et al., 2005).

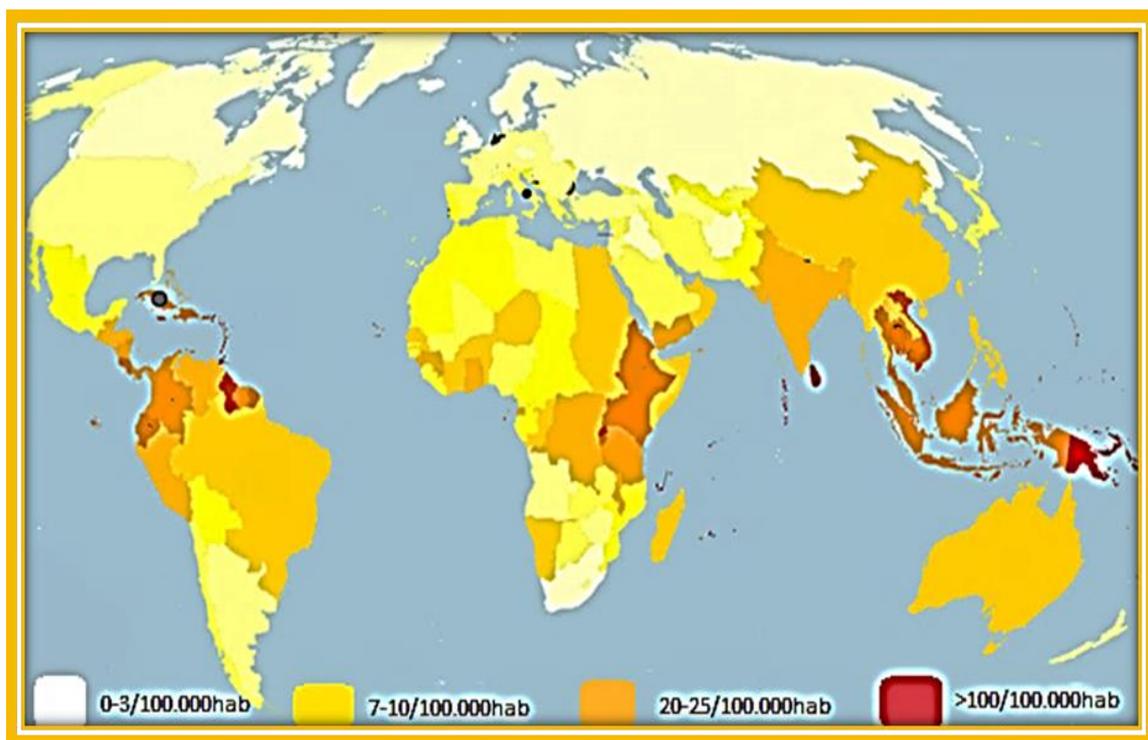
## **1.1.2. LEPTOSPIROSE**

### **1.1.2.1 Epidemiologia**

A leptospirose é uma zoonose de distribuição global que está intimamente relacionada a fatores climáticos e socioeconômicos (PAPAS, 2007). Possui elevada incidência nas regiões de clima tropical e subtropical, assim como em áreas com crescimento urbano desordenado e precárias condições de saneamento básico. Os países em desenvolvimento, especialmente os da América Latina e do Sudeste Asiático, são

considerados grupos de risco, pois possuem todos os determinantes para a manutenção e a propagação da infecção (PICARDEAU, 2013). Estima-se que ocorram mais de 853 mil casos e 48 mil óbitos a cada ano por leptospirose, e o Brasil e Nepal são os países que se destacam quanto ao percentual de registros anuais da doença (DURSKI et al, 2014). Os países desenvolvidos, antes restritos a grupos com exposições ocupacionais, como funcionários de abatedouros e de limpeza pública, mineiros, agricultores e militares (HARTSKEER, COLLARES-PEREIRA, ELLIS, 2011), vêm apresentando, nas últimas décadas, um aumento na incidência da doença (BANDARA et al., 2014). Pressupõe-se que a globalização do turismo esteja contribuindo com mudanças no perfil da leptospirose para além das regiões vulneráveis (países em desenvolvimento) (Figura 9).

**Figura 9-** Distribuição da incidência anual de leptospirose por 100.000 habitantes no mundo.



Fonte: Adaptado de Costa et al, 2015.

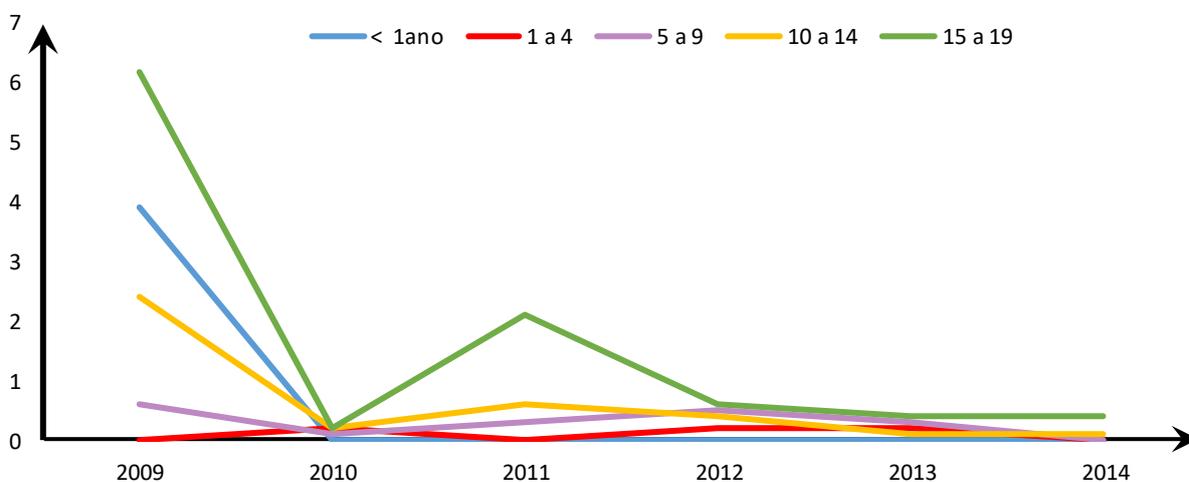
Os primeiros registros da doença no território brasileiro ocorreram no Pará em 1917 (McDOWEL, 1917) e, posteriormente em 1950, Gomes e colaboradores identificaram 45 casos de leptospirose humana com isolamento de *Leptospira icterohaemorrhagiae* em dois casos. A partir desse evento, os estudos sobre o agente

etiológico da patologia intensificaram-se no Brasil (LOMAR et al., 2005). Nos anos subsequentes, ocorreram surtos nas regiões Norte, Nordeste e Sudeste do país. No período de 2010 a 2014, ocorreram 1.694 óbitos, e 20.000 casos da doença foram confirmados. E o Sudeste e Sul foram as regiões com maior prevalência no período, seguidas do Norte, Nordeste e Centro-Oeste (BRASIL, 2016).

Atualmente a leptospirose é considerada uma doença endêmica no Brasil, com notificações durante todo o ano e possibilidades de surtos de forma sazonal, conforme o período de chuvas de cada região. As áreas de risco são as zonas urbanas com elevada densidade demográfica e baixo nível socioeconômico, pois a população fica mais exposta à contaminação, devido à falta de infraestrutura e saneamento básico e ao consequente aumento das infestações de roedores (FIGUEIREDO et al., 2001; OOTEMAN ;VAGO; KOURY , 2006).

No estado do Ceará, há casos descritos desde 1963, após um inquérito sorológico realizado por Castro e Correa no Vale do Cariri (CASTRO et al., 1963). Nos anos subsequentes, os períodos de 1995-1996, 2000-2006, 2009 e 2011 se destacaram pelo maior número de casos confirmados, sendo que em 2009 e 2011, o grupo etário de 15 a 19 anos se sobressaiu em relação ao outros, apresentando as maiores incidências no Estado, com 6,2 e 2,1/100.000 habitantes, respectivamente (CEARÁ, 2014). Desse modo, os dados refletem que a doença possui importante impacto sobre a população pediátrica (Figura 10).

**Figura 10-** Incidência dos casos confirmados de leptospirose no Ceará por faixa etária,



Fonte: SESA / COPROM / NUVEP / SINAN, 2014

no período de 2009 a 2014.

### 1.1.2.2. Agente etiológico, Vetor, Reservatório e Modo de Transmissão

As leptospiros da ordem *Spirochaetales*, família *Leptospiraceae* e gênero *Leptospira* (LEVETT, 2001) se classificam de duas formas. A primeira, fenotípica, baseia-se na relação antigênica, subdividindo o gênero em duas espécies: *Leptospira interrogans* e *Leptospira biflexa* – cepas patogênicas e saprofitas respectivamente. As cepas se diferenciam em 300 sorovares, denominação dada à unidade taxonômica básica das leptospiros (CERQUEIRA; PICARDEAU, 2009). A segunda, genotípica, mais recente e utilizada, fundamenta-se na hibridização DNA-DNA, em que os microorganismos são agrupados conforme semelhança genética (HERRMANN, et al., 1991). Conforme essa classificação, há aproximadamente 20 genomoespécies, que podem ser patogênicas ou saprófitas ou possuir patogenicidade intermediária (SMYTHE et al., 2013). Ainda que essa classificação seja a mais aceita, há a possibilidade de sorovares do mesmo sorogrupo estarem presentes em diferentes espécies (LEVETT, 2001).

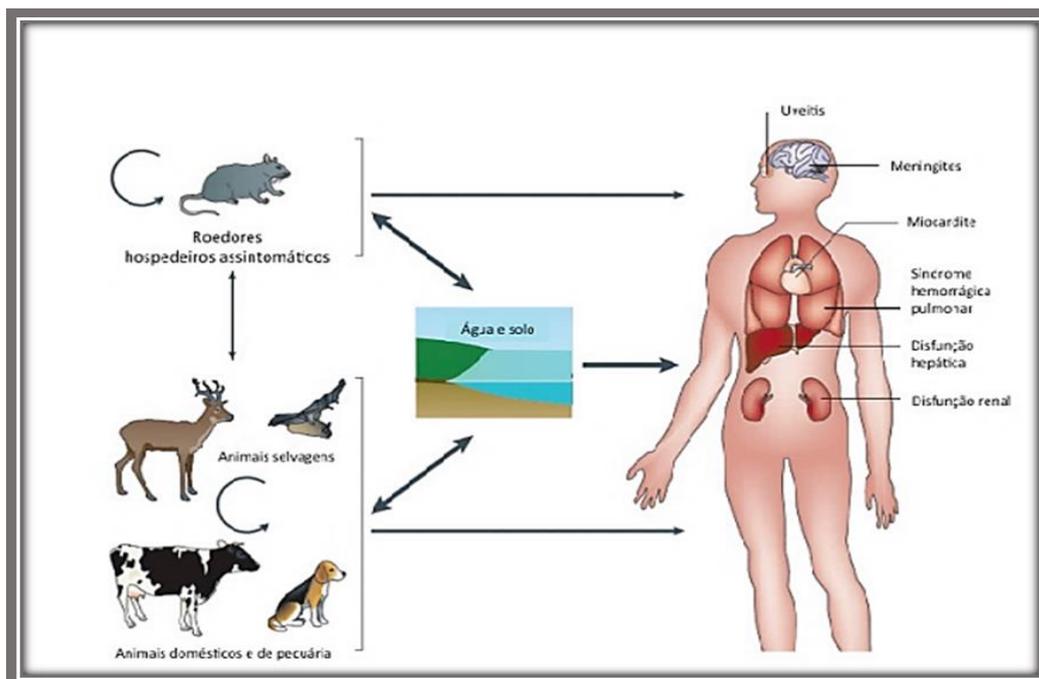
Morfologicamente as bactérias são aeróbias obrigatórias, possuem estrutura helicoidal, comprimento de 6 a 20 µm e diâmetro de extremidades encurvadas com dois flagelos subterminais (KO et al., 1999). Seu poder de virulência deve-se, em grande parte, a sua estrutura externa (membrana), formada por proteínas, lipídios e lipopolissacarídeos, que contém a maioria dos seus antígenos (FAINE et al., 1999). Devido à composição de sua membrana, apresentam similaridade tanto com bactérias gram negativas, quanto com gram positivas (LEVETT, 2001). A replicação ocorre por divisão binária nos túbulos renais dos mamíferos, de onde as leptospiros são excretadas através da urina. Quando em contato com o ambiente, sob condições favoráveis (pH neutro e ambiente úmido), podem permanecer até 180 dias; no entanto, quando o meio é inóspito, sobrevivem por apenas 30 minutos (FAINE, et al., 1999; LEVETT, 2001).

Os reservatórios incluem cães, gado, suínos e roedores, e os roedores sinantrópicos atuam como principais reservatórios da doença. Dentre eles destacam-se o rato de telhado ou rato preto (*Rattus rattus*) e o camundongo ou catita (*Mus Musculus*) (SEGURADO, 2016). É importante observar que um mesmo reservatório pode abrigar diferentes sorovares. Nesse contexto, os seres humanos são apenas hospedeiros

acidentais e terminais dentro da cadeia de transmissão (SMITH, 2011 apud MWACHUI et al., 2015).

A infecção humana por *Leptospira sp* ocorre por contato indireto através da exposição à água ou ao solo contaminados com a urina de um reservatório infectado ou por contato direto com secreções de animais infectados (KO et al., 2009) (Figura 11).

**Figura 11-** Ciclo de transmissão da *Leptospira sp*.



Fonte: Adaptado de KO et al, 2009.

Vale ressaltar que existem relatos de transmissão através de relações sexuais (HARRISON, FITZGERALD, 1988), durante a lactação (BOLIN, KOELLNER, 1988 apud HAAKE, LEVETT, 2015) e via transplacentária (SHAKED et al., 1993).

Os patógenos penetram ativamente no hospedeiro através das mucosas, da pele com escoriações ou da pele íntegra após longos períodos de exposição na água contaminada. Há disseminação, via hematogênica, para todo o organismo. Como resultado da invasão bacteriana, ocorre uma reação inflamatória no endotélio dos vasos de forma difusa, um extravasamento capilar e uma anóxia das membranas celulares e dos tecidos, provocando a degeneração das células. Presume-se que essas alterações estejam relacionadas com a virulência do microorganismos, a carga infectante da cepa e a resposta imune do hospedeiro (LOMAR, 2005; WHO, 2003).

### 1.1.2.3. Aspectos clínicos e laboratoriais

A leptospirose apresenta-se de maneira polimórfica, produzindo um amplo espectro clínico, que varia desde uma síndrome febril indiferenciada (fase precoce ou anictérica) até formas graves, com disfunção de órgãos e sistemas, que podem apresentar um desfecho letal (fase tardia) (LEVETT, 2001).

A fase anictérica representa a grande maioria dos casos, e somente de 10 a 15% evoluem para a fase tardia. As principais manifestações são febre alta, calafrios, cefaleia, mialgia, anorexia, prostração, náuseas, vômitos, diarreia, tosse, hiperemia conjuntival e exantema maculo-papular ou purpúrico. (KO et al., 1999). A fase tardia evolui com complicações, sendo a forma clássica denominada Síndrome de Weil, caracterizada pela tríade: icterícia, insuficiência renal e fenômenos hemorrágicos. Entretanto, outras manifestações clínicas graves podem vir concomitantemente, como miocardite, meningites, entre outras (LEVETT, 2001).

Vale enfatizar que um mesmo indivíduo pode apresentar a doença em mais de uma ocasião, com sintomatologia diferente da anterior, podendo ocorrer com maior ou menor gravidade. Isso acontece porque a imunidade adquirida após uma infecção é específica para um determinado sorovar (EVANGELISTA, 2010).

Conseqüentemente, devido ao amplo espectro clínico, é frequente a leptospirose ser confundida com outras patologias febris agudas, sendo necessária a realização de exames complementares para elucidação diagnóstica, visto que o tratamento medicamentoso é benéfico para o paciente e deve ser instituído o mais cedo possível (CERQUEIRA; PICARDEAU, 2009). O método de escolha para o diagnóstico, assim como na dengue, vai depender do período de evolução da doença no qual foi realizada a coleta; e as técnicas utilizadas são baseadas na visualização direta, no isolamento do parasita ou na visualização indireta (LEVETT, 2001).

As técnicas de detecção direta são a microscopia de campo escuro e a reação em cadeia da polimerase (PCR), sendo que, a principal diferença entre ambas se refere a elevada sensibilidade e especificidade do método de PCR em relação a microscopia (WHO, 2003; HAAKE, LEVETT, 2015).

A cultura e o isolamento da *Leptospira sp* devem ser realizados na fase inicial da doença, e o material para análise pode ser sangue, líquido, bem como fragmentos de tecido do paciente infectado. Não é uma técnica vantajosa em decorrência da espera

prolongada para confirmação diagnóstica em virtude das variações de tempo para o crescimento dos diferentes sorotipos. Vale ressaltar que o uso de antibioticoterapia antes da coleta pode negativar a amostra (FAINE et al., 1999).

As técnicas de visualização indireta compreendem as técnicas de microaglutinação sorológica (MAT) e os ensaios imunoenzimáticos (ELISA) (PICARDEAU, 2013).

O MAT é o método que corresponde à detecção de anticorpos específicos por meio da técnica de aglutinação (soro do paciente com antígenos vivos) em campo escuro. Ele utiliza cepas produzidas em laboratórios dos sorogrupos mais prevalentes na região e pode ser utilizado tanto na fase aguda quanto na fase tardia. É considerado o padrão ouro pela WHO em virtude de sua elevada sensibilidade e especificidade (CHALAYON et al., 2011). As principais desvantagens da técnica são: dificuldade de execução; variação entre laboratórios, necessidade de técnicos especializados na execução e análise do teste, possibilidade de contaminação dos funcionários em decorrência da utilização de cepas vivas, risco de contaminação cruzada entre os antígenos utilizados e, às vezes, baixa sensibilidade na fase precoce da doença e nos casos crônicos, pois em ambos os títulos de anticorpos podem ser muito baixos (LEVETT, 2001).

Os ensaios imunoenzimáticos (ELISA) são técnicas sorológicas que utilizam um sorovar saprófita para a extração do antígeno, sendo a detecção de anticorpos IgM bem mais precoce que o MAT. Porém é muito sensível somente para algumas espécies, não sendo indicado para sorogrupo e sorovariedade (HAAK;, LEVETT, 2015).

Diante das técnicas descritas, observa-se que nas regiões com elevada incidência e prevalência da infecção, os métodos de diagnóstico precoce não estão disponíveis para a maioria da população, pois são métodos onerosos, devido à necessidade de laboratórios sofisticados e funcionários especializados para sua realização. Todavia, muitos pesquisadores têm se empenhado em encontrar soluções eficazes e de baixo custo a fim de melhorar o prognóstico do paciente. Um desses estudos, realizado por Nability et al (2012), evidenciou que o desempenho da técnica da Plataforma Dual Path (DPP) da leptospirose, método imunocromatográfico, era comparável ao ELISA-IgM. Conseqüentemente, constatou-se que o diagnóstico da leptospirose pode ser feito de forma rápida e eficaz, de modo a facilitar a tomada de decisões pelos profissionais de saúde.

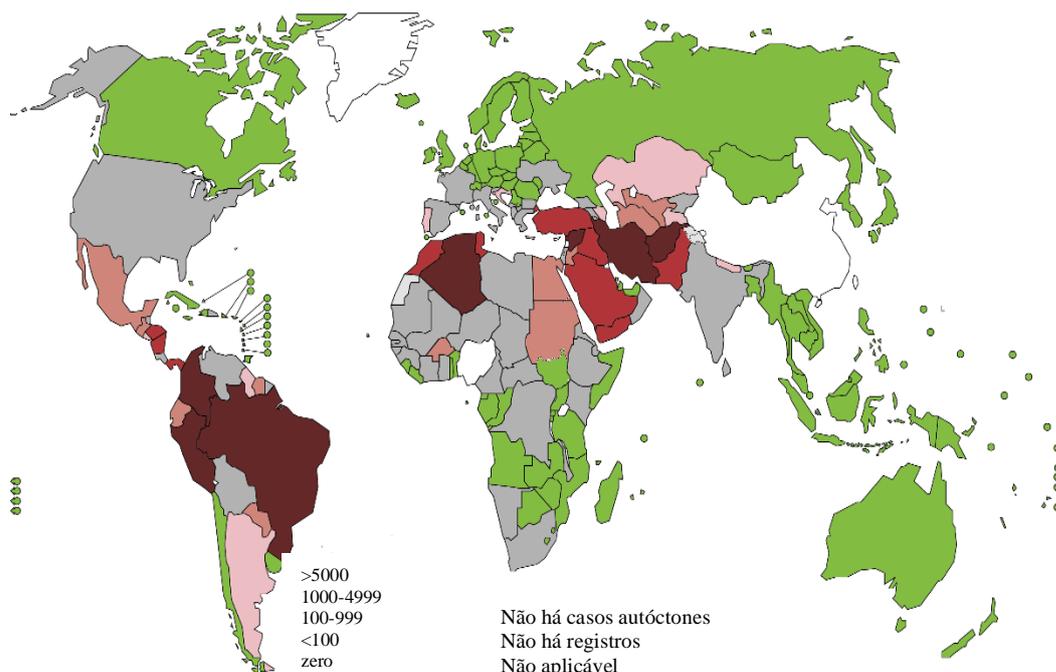
Assim como a leptospirose e a dengue, outra patologia que se beneficiaria com o diagnóstico precoce seria a leishmaniose, pois esta também é considerada um problema de saúde pública com alta endemicidade e elevadas taxas de letalidade, principalmente em países em desenvolvimento.

### 1.1.3- LEISHMANIOSE

#### 1.1.3.1 Epidemiologia

As leishmanioses possuem ampla distribuição geográfica, ocorrendo de forma endêmica nas regiões tropicais e subtropicais. Segundo dados da WHO (2014), a doença está presente em 98 países dos cinco continentes, com aproximadamente 1,3 milhões de casos novos por ano. As infecções ocorrem principalmente em países em desenvolvimento, sendo considerada uma patologia de países pobres, que os fatores determinantes da pobreza (favelização, desigualdades sociais, desnutrição infantil) favorecem a perpetuação das moléstias (RAMOS, 2013). Dentre os países acometidos pela leishmaniose visceral, destacam-se Bangladesh, Brasil, Índia, Nepal, Sudão e Venezuela (WHO, 2014) (Figura 12).

**Figura 12-** Distribuição de casos novos de leishmaniose visceral no Mundo, segundo WHO, 2013

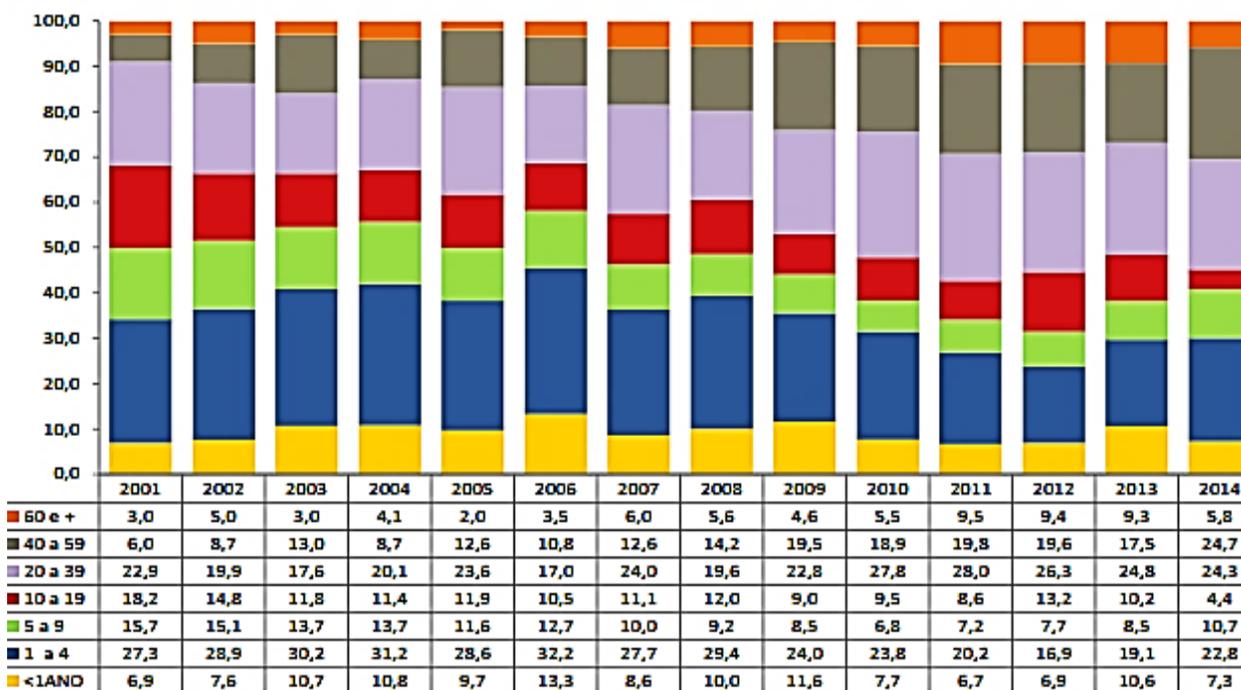


Fonte: Adaptado de WHO, 2013

No Brasil, a leishmaniose visceral também é considerada uma doença endêmica, sendo um importante problema de saúde pública. A média de registros no período de 2004 a 2014 foi de aproximadamente 3.540 casos, segundo os dados do Ministério da Saúde (BRASIL, 2014).

O Ceará possui alta prevalência da infecção e no período de 2001 a 2012, foram confirmados 6.016 casos no estado, e os municípios com maior número de casos confirmados foram Fortaleza e Sobral. No ano de 2013, foram notificados 188 casos em 53 municípios, sendo 48,3% registrados no município de Fortaleza; os demais ocorreram em outros 13 municípios (CEARÁ, 2014). Há registro da doença em todas as faixas etárias, sendo predominantemente a faixa pediátrica a mais acometida. No período de 2001 a 2014 pode-se confirmar essa citação, exceto no intervalo de 2009 a 2013, predominando o grupo etário de 20-39 anos (CEARÁ, 2014) (Figura 13).

**Figura 13-** Proporção de casos de Leishmaniose visceral segundo faixa etária. Ceará, 2001 a 2014.



Fonte: SESA/ COPROM/ NUVEP.

### 1.1.3.2. Agente etiológico, Vetor, Reservatório e Modo de Transmissão

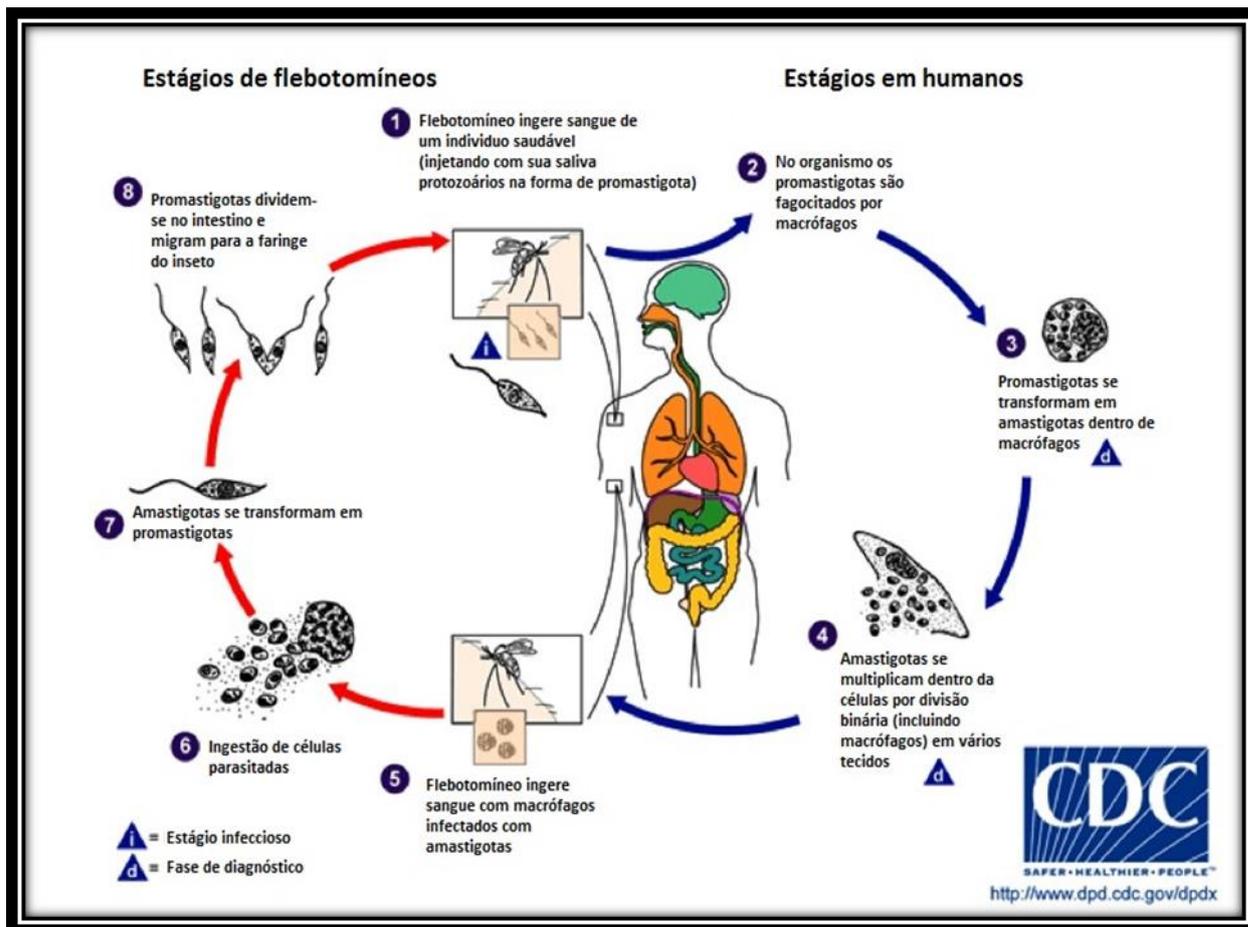
Os agentes causadores da leishmaniose são protozoários intracelulares obrigatórios que pertence à ordem Kinetoplastida, Trypanosomatidae (GRIMALDI; TESH, 1993) e correspondem a um grupo de microrganismos biologicamente distinto (SIMPSON, 1987). O gênero é subdividido em dois subgêneros: *Leishmania* e *Viannia* (PACE, 2014). Morfologicamente, as *Leishmanias sp* podem se apresentar nas formas evolutivas amastigotas ou promastigotas. A forma amastigota é ovalada ou arredondada, com cerca de 2 µm de diâmetro, anaeróbica e parasita intracelular exclusiva do hospedeiro vertebrado, sendo responsável pela infecção das células do sistema fagocítico mononuclear. A forma promastigota é longilínea, flagelada e com cerca de 14 a 20µm de comprimento e 2 a 3µm de diâmetro, aeróbica e habita o trato intestinal do inseto vetor (HOMMEL, 1999).

O vetor responsável pela propagação dos parasitas da espécie *Leishmania* é a fêmea hematófaga do flebotomíneo do gênero *Phlebotomus* (Velho Mundo) e *Lutzomyia* (Novo Mundo). No Brasil, a espécie mais comum é a *Lutzomyia longipalpis* e, em menor proporção, a *Lutzomyia cruzi*, com relatos de transmissão em Mato Grosso do Sul (OLIVEIRA *et al.*, 2008). Atualmente os vetores são encontrados tanto em ambientes silvestres quanto em peridomicílios e domicílios. Embora estejam presentes durante todo o ano, possuem predileção pelo período das chuvas (SHERLOCK, 1996).

Os principais reservatórios do gênero são canídeos, sejam eles domésticos (*Canis familiaris*) ou silvestres, como raposas (*Cerdocyon thous*) e marsupiais (*Didelphis albiventris*) (SHERLOCK, 1984; TRAVI *et al.*, 1994).

A infecção se inicia no vetor, quando a fêmea do *L. longipalpis* ingere as formas amastigotas durante o repasto sanguíneo nos mamíferos infectados. Em seguida, no intestino médio, ocorre a replicação por divisão binária e a diferenciação das amastigotas em promastigotas. Após três dias de intensa replicação binária, ocorre a degeneração da matriz peritrófica e a liberação das formas promastigotas, que seguem para a porção anterior do tubo digestivo do inseto, onde se replicam e se diferenciam em formas infectantes denominadas promastigotas metacíclicas. Devido ao aumento do número de parasitas no esôfago e na faringe, há uma obstrução mecânica que dificulta a ingestão de sangue pelo vetor; conseqüentemente, o inseto realiza um número maior de repastos sanguíneos, assim, nesse momento, há o relaxamento dos músculos de sucção do inseto, permitindo a ingestão de sangue e promovendo a liberação das formas promastigotas para o novo hospedeiro (MCGWIRE; SATOSKAR, 2014) (Figura 14).

Figura 14- Ciclo da *Leishmania sp.*



Fonte: Adaptado de Centers for Disease Control and Prevention-CDC, 2015.

### 1.1.3.3 Aspectos Clínicos e Laboratoriais

As manifestações clínicas das leishmanioses variam conforme a interação entre espécie do parasita e a imunidade do hospedeiro (PACE, 2014). Baseada nesse prisma, a WHO (2014) postulou quatro formas clínicas para as leishmanioses: cutânea, mucosa difusa e visceral e neste estudo, será dada ênfase à forma visceral.

A leishmaniose visceral (LV), também conhecida como Calazar, resulta da infecção dos fagócitos dentro do sistema reticuloendotelial. Trata-se de uma infecção sistêmica causada principalmente por *Leishmania donovani* (regiões da Índia, Paquistão, China e África) e *Leishmania infantum* (sinônimo de *Leishmania chagasi* na

América do Sul), assim como *Leishmania tropica* no Oriente Médio e *Leishmania amazonensis* na América do Sul, eventualmente (NOZZI, et al.,2014).

A LV pode ser assintomática, subclínica ou sintomática. O período de incubação é variável após a exposição. As manifestações subclínicas são caracterizadas por adinamia, febre baixa, tosse intermitente, diarreia e hepatoesplenomegalia discreta (BADARO et al., 1986). Na forma sintomática, o quadro se apresenta com persistência da febre, prostração, hepatoesplenomegalia de moderada a importante, palidez cutâneo-mucosa significativa, perda de peso e possibilidade de fenômenos hemorrágicos e infecções secundárias que podem levar a disfunções de múltiplos órgãos e sistemas e ao óbito do paciente (WHO, 2014).

O diagnóstico pode ser realizado através de técnicas parasitológicas, sorológicas, imunocromatográficas e moleculares (ELMAHALLAWY et al., 2014), como segue:

- Os métodos parasitológicos compreendem a visualização direta e o isolamento em meio de cultura *in vitro*. O primeiro ocorre através da identificação do parasita na sua forma amastigota por gota espessa, após punção da medula, do baço ou de linfonodos do paciente infectado, com uma sensibilidade de 90 a 95%, “*mas, o encontro de parasitas no material examinado depende do número de campos observados (200 campos devem ser examinados antes de se considerar uma lâmina como negativa)*” (BRASIL, 2010). O segundo, o isolamento, utiliza meio especial, contendo ágar-base e sangue de coelho, carneiro ou humano denominado NNN (Novy, MacNeal e Nicolle) para ocorrer a diferenciação das formas amastigotas em promastigotas (ELMAHALLAWY et al., 2014). Possui sensibilidade em torno de 90 a 95% quando se utiliza o aspirado esplênico e especificidade de aproximadamente 100%. (GONTIJO; MELO, 2004).
- Os testes sorológicos são a imunofluorescência indireta, em que a sensibilidade e a especificidade são de 85-90%; a imunoaglutinação direta (DAT), que utiliza células inteiras de *Leishmania* que reagem com anticorpos específicos, sendo a especificidade em torno de 71% e sensibilidade, 97% (CHAPPUIS et al., 2003); a reação intradérmica de Montenegro, técnica muito utilizada para avaliação de cura da doença (MARZOCHI et al., 1995,) que utiliza um extrato antigênico de *Leishmania* que somente se torna reagente após a cura clínica do paciente, variando de um período de seis meses a três anos; e a reação imunoenzimática (ELISA)

possui sensibilidade e especificidade aproximada de 89% e 98% respectivamente (LEMOS et al, 2003).

- A imunocromatografia utiliza a proteína recombinante rK39, derivada de um antígeno específico produzido pela *Leishmania donovani*. Trata-se de teste rápido, fácil, com boa sensibilidade (92%) e especificidade (81%) (MAIA et al., 2012).
- Os métodos moleculares apresentam algumas vantagens em relação aos outros métodos, pois, além da alta especificidade e sensibilidade para detecção do parasita em pacientes doentes, possibilita a diferenciação entre infecção assintomática em áreas endêmicas (BADARÓ et al., 1986a; GONTIJO, MELO, 2004; CUPOLILLO, 2005; ALAM et al., 2009). Dentre eles pode-se citar o PCR convencional e suas variantes (PCR multiplex, PCR-RFLP e RPAD), a eletroforese de enzimas e os anticorpos monoclonais (LIMA JUNIOR, M.S.C et al, 2009)

## **2 JUSTIFICATIVA**

A síndrome febril aguda representa uma importante causa de atendimentos hospitalares na faixa etária pediátrica.

Logo, diagnosticar as doenças mais prevalentes de uma região é uma tarefa importante e uma peça fundamental para a Saúde Pública, pois, possibilita a estruturação de programas de controle e prevenção dos serviços de vigilância epidemiológica em relação às doenças infecciosas que se apresentam como uma síndrome febril aguda indiferenciada, especialmente na fase inicial e particularmente na faixa etária pediátrica devido às grandes similaridades das manifestações clínicas com outras patologias comuns da infância. Portanto, torna-se relevante a identificação precoce dos agentes etiológicos das doenças infecciosas febris agudas a fim de se evitar novas epidemias e/ou intervir nos casos com probabilidade de desenvolvimento da doença na sua forma grave, principalmente em zonas endêmicas e de transmissão sustentada.

## 3 OBJETIVOS

### 3.1. Objetivo Geral

Investigar casos de síndrome febril aguda na faixa etária pediátrica, visando estabelecer o diagnóstico laboratorial para dengue, leptospirose e leishmaniose visceral.

### 3.2. Objetivos Específicos

- Analisar, através de métodos imunocromatográficos, sorológicos e moleculares, a hipótese diagnóstica de dengue;
- Identificar os pacientes com dengue secundária através do ELISA IgG Dengue;
- Investigar, com a técnica molecular, PCR-convencional, a presença de *Leptospiras sp* e *Leishmania sp* em amostras sanguíneas de pacientes suspeitos de dengue;
- Correlacionar a faixa etária, o sexo e as manifestações clínicas e laboratoriais entre os pacientes pediátricos com diagnóstico comprovado de dengue, leptospirose e dengue símile.

## **4 METODOLOGIA**

### **4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO**

Trata-se de um estudo transversal descritivo e analítico em participantes com síndrome febril aguda indiferenciada.

### **4.2 POPULAÇÃO DO ESTUDO**

Os participantes foram recrutados no Hospital Infantil Albert Sabin (HIAS) e no Centro de Assistência à Criança Lúcia de Fátima (CAC), no período de setembro/2015 a março/2016, através de busca ativa nos ambulatórios e nas enfermarias, de acordo com os seguintes critérios de inclusão e exclusão:

- Critérios de inclusão: crianças, faixa etária de 0-18 anos, apresentando quadro febril com duração maior de 24 horas e menor de 10 dias, associado a, pelo menos, um dos seguintes sintomas: cefaleia, dor retro-orbitária, artralgia, mialgia, exantema e prostração.

- Critérios de exclusão: presença de comorbidades (cardiopatias prévias, diabetes mellitus e hemoglobinopatias); manifestações clínicas que sugiram um diagnóstico alternativo (pneumonias, otites etc.) e contraindicação para coleta de amostras de sangue.

Todos os pacientes inclusos concordaram com o estudo e assinaram o termo de assentimento, e seus responsáveis, o termo de consentimento livre esclarecido - TCLE (Apêndices A e B), bem como responderam ao questionário clínico-epidemiológico (Apêndice C).

### **4.3. DEFINIÇÃO DO CASO CONFIRMADO DE DENGUE**

De acordo com o Ministério da Saúde, o paciente com suspeita clínico-epidemiológica precisa ser confirmado laboratorialmente através dos testes de sorologia IgM, NS1 teste rápido ou ELISA, isolamento viral, PCR, imuno-histoquímica. Essa definição também inclui “o paciente que vive em área onde se registram casos de dengue ou

*que tenha viajado nos últimos 14 dias para área com ocorrência de transmissão de dengue (ou presença de Aedes aegypti) que apresente febre, usualmente entre dois e sete dias, e duas ou mais das seguintes manifestações: náusea, vômitos, exantema, mialgias, artralgia, cefaleia, dor retro-orbital, petéquias, prova do laço positiva e leucopenia. Também é considerado caso da doença toda criança proveniente de (ou residente em) área com transmissão de dengue, com quadro febril agudo, usualmente entre dois e sete dias, e sem foco de infecção aparente que apresente exames laboratoriais positivos para a doença” (BRASIL, 2016).*

#### **4.4. ÁREA DE ESTUDO**

As amostras da pesquisa foram coletadas no Hospital Infantil Albert Sabin (HIAS) e no Centro de Assistência à Criança Lúcia de Fátima (CAC), ambos pertencentes ao Sistema Único de Saúde (SUS) da cidade de Fortaleza, capital do Ceará, sendo responsáveis pelos atendimentos pediátricos em nível terciário e secundário, respectivamente. O HIAS é um órgão da administração pública estadual, que atende a faixa etária pediátrica com doenças graves e de alta complexidade, sendo a referência pediátrica na região e nos demais estados do Nordeste. A Instituição dispõe de emergência clínica e cirúrgica, unidades de terapia intensiva e neonatais, 306 leitos de internação, laboratórios clínico e de imagem e um serviço de diagnóstico e tratamento onco-hematológico (SESA, 2014). O CAC faz parte da rede municipal de saúde e disponibiliza a crianças e adolescentes atendimento de urgência e emergência, além de 30 leitos para internação hospitalar (FORTALEZA/SMS, 2014).

#### **4.5. COLETA DOS DADOS**

Os dados foram obtidos por meio do preenchimento de um questionário realizado durante o atendimento médico (Apêndice C). Posteriormente o participante foi encaminhado ao Laboratório de Análises Clínicas para coleta de 10 ml de sangue periférico utilizando-se tubos *vacutainer* com anticoagulante e sem anticoagulante. Dessa forma, algumas amostras eram analisadas no próprio Serviço e destinavam-se aos exames inespecíficos, como os exames hematológicos e bioquímicos. E as outras amostras eram armazenadas em caixas térmicas de isopor contendo bolsas de gelo reciclável, e assim eram mantidas até a chegada ao laboratório de Pesquisa em

Bioagentes Patogênicos / Nubex da Universidade de Fortaleza para a realização dos testes diagnósticos específicos (imunocromatográfico, molecular e sorológico).

## **4.6. PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS**

As amostras eram processadas assim que chegavam ao laboratório. O sangue era submetido à centrifugação de 1.500 x g por 5 minutos a 4°C, após retração do coágulo, para a obtenção do soro. As alíquotas permaneciam estocadas a -80°C até serem submetidas aos testes de diagnósticos específicos.

Estabeleceu-se um protocolo para a realização dos testes sorológicos e moleculares:

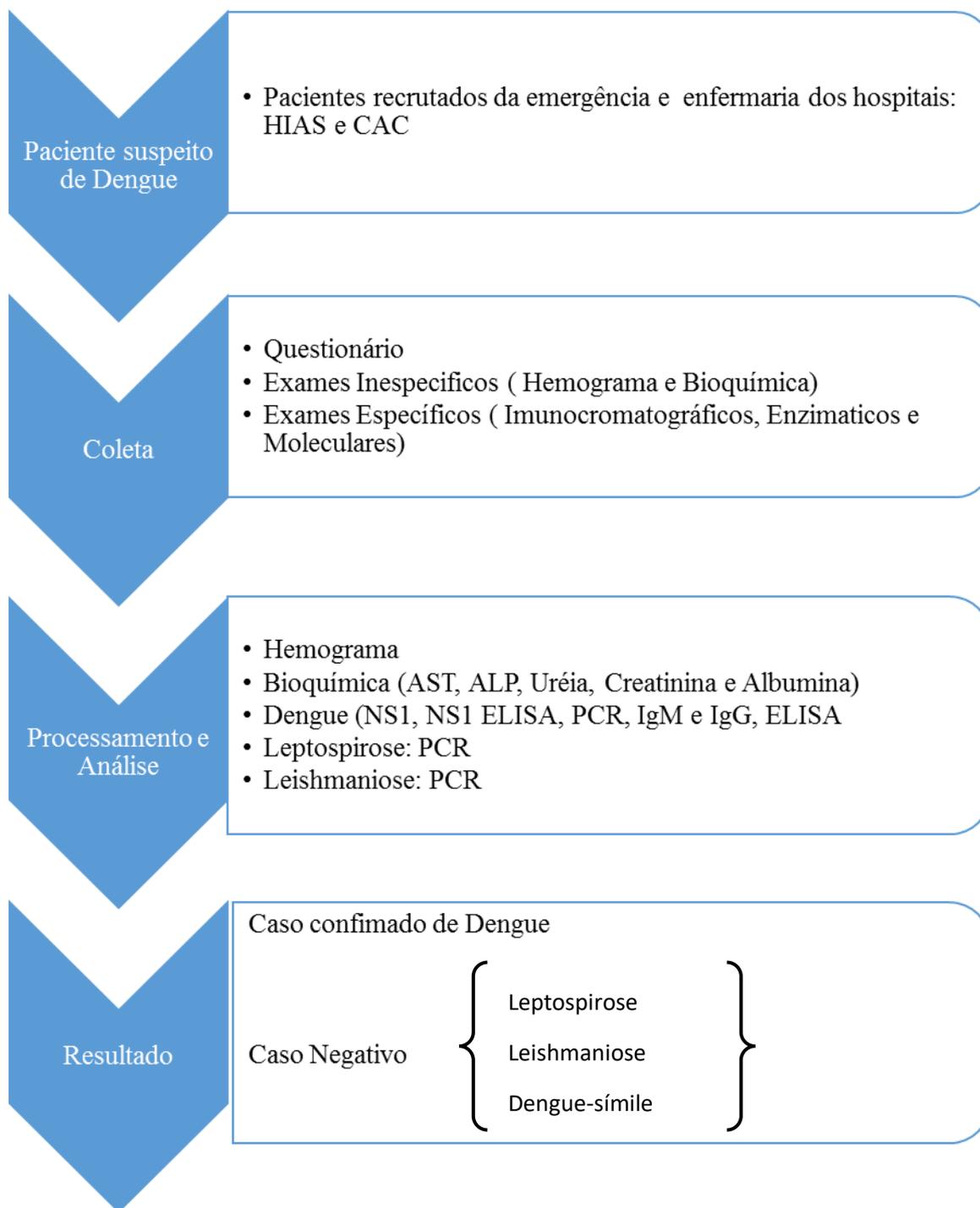
Todos os participantes com síndrome febril foram testados inicialmente para dengue através do ensaio de imunocromatografia, dos testes sorológicos (NS1 ELISA, ELISA IgM e ELISA IgG) e da técnica RT-PCR utilizando *primers* específicos (Tabela 1). Após os participantes negativos para dengue foram submetidos à testagem para a identificação de *Leptospira sp* e *Leishmania sp* através da técnica de PCR, utilizando *primers* específicos de *Leptospira* (Tabela 2) e *Leishmania* (Tabela 3).

## **4.7. TÉCNICAS LABORATORIAIS**

### **4.7.1. Dengue**

A Figura 15 mostra o fluxograma de investigação para os pacientes com hipótese diagnóstica de Dengue.

**Figura 15- Fluxograma de investigação para os pacientes com hipótese diagnóstica de dengue**



#### **4.7.1.1. Teste imunocromatográfico NS1 Ag Strip**

O teste dengue NS1 Ag STRIP (Bio-Rad Laboratories, França®) auxilia o diagnóstico da infecção aguda utilizando a imunocromatografia de fluxo lateral. Ele permite, de forma rápida, a detecção qualitativa do antígeno NS1 do vírus dengue em amostra de sangue total, soro ou plasma humano. O teste pode ser realizado desde o primeiro dia até o nono dia do aparecimento da febre. Em nosso estudo, o processo de análise seguiu as recomendações do fabricante.

#### **4.7.1.2. Ensaio Imunoenzimático (ELISA): Dengue NS1**

Trata-se de um teste imunoenzimático de captura da proteína NS1 para determinação qualitativa no soro ou no plasma humano (Platelia Dengue NS1 Ag kit - Bio-Rad Laboratories, Marnes La Coquette, França®), que foi realizado conforme as instruções do fabricante.

#### **4.7.1.3. Ensaio Imunoenzimático (ELISA): IgM anti-Dengue**

A sorologia para dengue foi analisada através do kit comercial de imunoensaio enzimático, comercializado pela Bioeasy®, seguindo as recomendações do fabricante. Trata-se de um teste específico e qualitativo que detecta anticorpos IgM anti-Dengue no soro dos pacientes, indicando infecção recente.

#### **4.7.1.4. Ensaio Imunoenzimático (ELISA): IgG anti-Dengue**

A sorologia para dengue foi analisada através do kit comercial de imunoensaio enzimático, comercializado pela Virion/Serion®, seguindo as recomendações do fabricante. Trata-se de um teste específico e qualitativo que detecta anticorpos IgG anti-Dengue no soro dos pacientes, indicando infecção tardia.

#### **4.7.1.5. Diagnóstico Molecular**

**Extração do RNA viral:** A extração e purificação do RNA viral foi realizada por meio do kit QIAamp® Viral Mini Kit (QIAGEN, Valencia, CA), conforme as instruções fornecidas pelo fabricante.

**Detecção Molecular do Vírus:** A identificação da infecção viral a partir do método molecular foi realizada com o uso do Kit QIAGEN®OneStep RT-PCR (QIAGEN®, EUA), que contém enzimas Omniscript e Sensiscript que permitem a transcrição reversa, e do HotStarTaq® que é responsável pela amplificação do material genético. O controle positivo da reação foi o RNA extraído de uma cultura de células C6/36 de *A. albopictus* infectada com vírus DENV-2, New Guinea (NGC) gentilmente cedida pelo Prof. Dr. Benedito Antônio Lopes da Fonseca (Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP). Para a detecção do vírus dengue, foram utilizados os iniciadores específicos (Tabela 1).

**Tabela 1.** Oligonucleotídeos utilizados nas reações RT-PCR- Dengue.

Oligonucleotídeos	Sequência	Referência
<b>Dengue</b>		
D3	CTGATTTCCATCCCGTA	Henchal et al, 1991
D4	GAYATGGGNTAYTGGATAGA	Henchal et al, 1991

#### 4.7.2. *Leptospira sp*

##### 4.7.2.1. Diagnóstico Molecular

Para a realização da reação de PCR convencional para o gênero *Leptospira*, e como controle positivo foi utilizada cultura de leptospirose com os iniciadores específicos para a região do kDNA (Gravekamp,1993) (Tabela 2). A reação de PCR foi realizada utilizando uma concentração de 50-100 ng de DNA total.

As reações foram submetidas às seguintes temperaturas: 94°C durante 5 minutos, seguido de 40 ciclos, com 94°C por 1 minuto, para a desnaturação. O controle positivo da reação foi o DNA extraído de uma cultura de *Leptospira* M-20 foi gentilmente cedida pelo Prof. Dr. Mitermayer Galvão dos Reis (Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz/Fundação Oswaldo Cruz, Bahia).

**Tabela 2.** Oligonucleotídeos que serão utilizados nas reações de PCR-*Leptospira sp*.

<i>Leptospira</i>		
<b>G1</b>	CTG AAT CGC TGT ATA AAA GT	Gravekamp et al 1993
<b>G2</b>	GGA AAA CAA ATG GTC GGA AG	Gravekamp et al 1993

#### 4.7.3. *Leishmania sp*

##### 4.7.3.1. Diagnóstico Molecular

Para a realização da reação de PCR convencional para o gênero *Leishmania*, cultura foi utilizada como controle positivo com os iniciadores específicos que amplificam fragmentos de 120 pb (DEGRAVE et al., 1994) (Tabela 6). A reação de PCR foi realizada utilizando uma concentração de 50-100 ng de DNA total. O DNA de cada amostra (5ul) foi adicionado em um tubo para PCR com 0,5ul de cada primer, na concentração de 20pmol, para uma solução final de 12ul, utilizando MasterMix (Empresa Quatro G®) para PCR convencional.

Por fim, os tubos com as reações foram submetidos às seguintes temperaturas: 94°C durante 3 minutos, seguido de 30 ciclos, com 94°C por 30 segundos, para a desnaturação; 55°C por 30 segundos, para o anelamento dos *primers*; 72°C por 45 segundos, para a extensão; e um último passo de 72°C durante 7 minutos, para a extensão final. O controle positivo da reação foi DNA extraído de uma cultura gentilmente cedida pela Profa. Dra. Maria Jania Teixeira (Universidade Federal do Ceará).

**Tabela 3.** Oligonucleotídeos utilizados nas reações de PCR- *Leishmania sp*.

<i>Leishmania</i>		
150	5'-GGG(G/T)AGGGGCGTTCT(G/C)CGAA -3'	DEGRAVE et al., 1994
152	5'-(G/C) (G/C) (G/C) (A/T) CTAT (A/T) TTACACCAACCCC -3'	DEGRAVE et al., 1994

## 4.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Neste estudo foram avaliados participantes com dengue, leptospirose, leishmaniose e dengue-símile, os dados referentes à idade, gênero, resultados de exames imunológicos e biomoleculares e manifestações clínicas. Os dados são apresentados

estratificados por diagnóstico de doença, e depois para cada doença por gênero e faixa etária.

As estratificações por diagnóstico e por faixa etária tiveram suas médias analisadas pelo teste paramétrico Análise de Variância (ANOVA) com o teste *Post Hoc* de Tukey para comparar as diferenças entre as médias dos resultados dos exames laboratoriais. A diferença entre as médias foi estatisticamente significativa quando  $p < 0,05$ .

Variáveis categóricas foram avaliadas pelo teste Qui-Quadrado para comparar as frequências ou o Teste exato de Fisher. Os dados foram apresentados como N (valor absoluto) e percentual. O nível de significância utilizado foi de 95%. O valor de p bilateral menor que 0,05 ( $p < 0,05$ ) é considerado estatisticamente significativo.

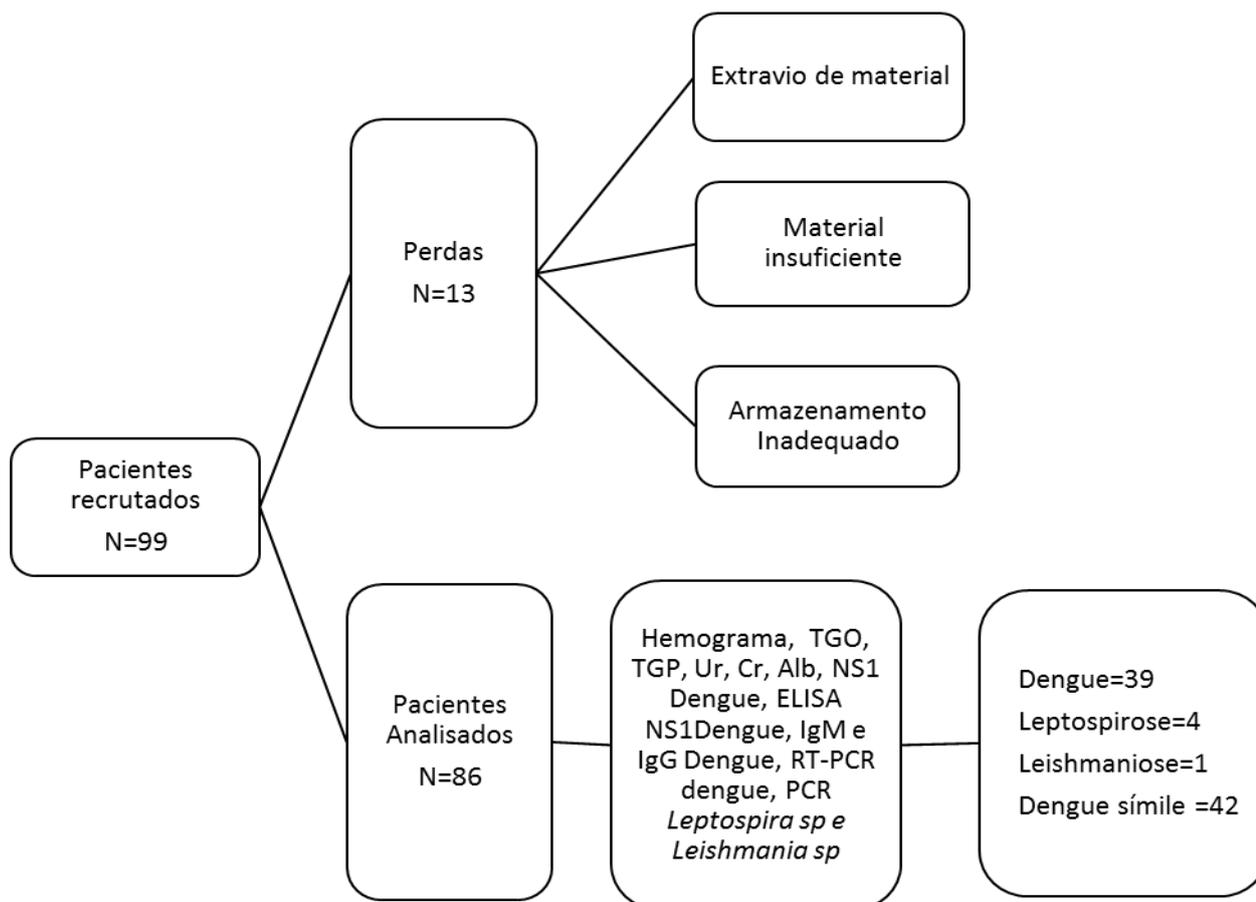
#### **4.9. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS**

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa no Hospital Infantil Albert Sabin sob o nº CAAE: 45741415.1.0000.5042 (Anexo). As coletas foram iniciadas seguindo todas as normas de biossegurança referentes a trabalhos envolvendo humanos, de acordo com a Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. Os pais, responsáveis legais e participantes foram esclarecidos através do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A) e o Termo de Assentimento (Apêndice B) sobre os objetivos do estudo, informando sobre o sigilo de suas identidades e o caráter voluntário de participação, assim como a possibilidade de se desligar a qualquer momento do estudo, sem prejudicar o seu atendimento no Serviço.

## 5 RESULTADOS

No período de setembro de 2015 a março de 2016, foram recrutados, em dois hospitais pediátricos de Fortaleza (CE), 99 participantes com hipótese diagnóstica de dengue para participação da pesquisa. Mas, somente 86 participantes finalizaram os testes, conforme o protocolo elaborado e descrito na metodologia deste estudo.

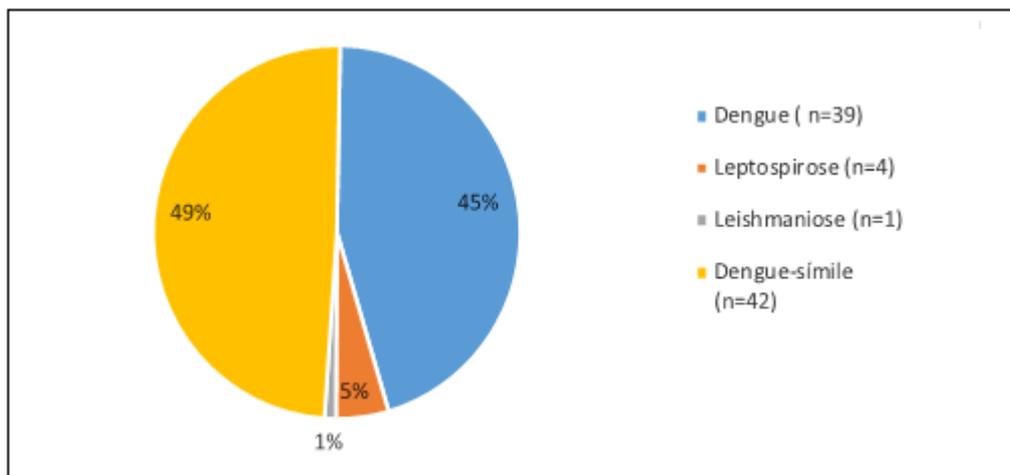
**Gráfico 1-** Representação gráfica da população durante as etapas do estudo.



Após a subdivisão dos grupos de doenças de acordo com resultados laboratoriais, realizou-se a estratificação dos mesmos, considerando o período de coleta,

o gênero, a faixa etária e as manifestações clínicas (Gráfico 2, 3, 4 e 5, respectivamente).

**Gráfico 2-** Descrição da classificação das doenças diagnosticadas, conforme frequência. Fortaleza, 2016 (N =86).

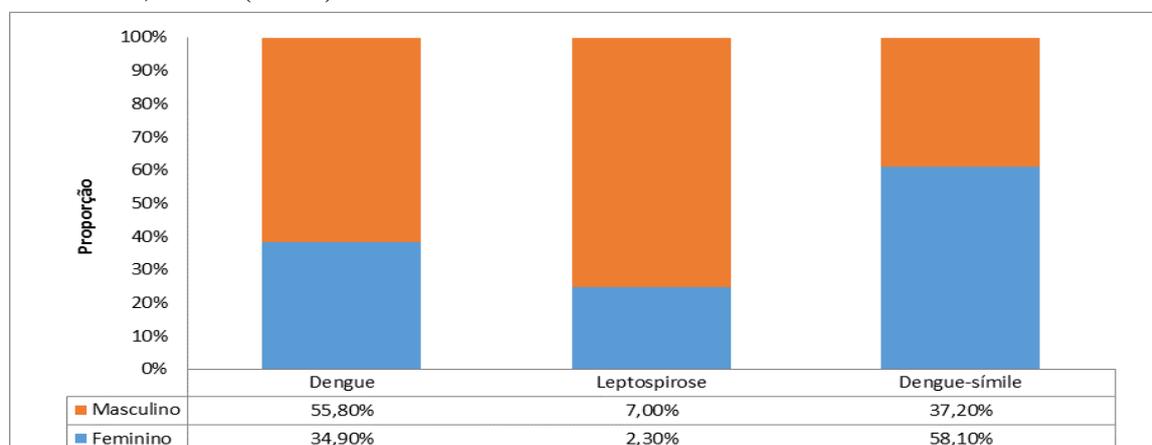


**Tabela 4** Classificação do grupo conforme a época da doença em que os exames foram colhidos (<5 ou >5 dias). Fortaleza, 2016.

Dias da doença	Diagnóstico				Total	Valor de p <sup>a</sup>
	Dengue	Leptospirose	Leishmaniose	Dengue-símile		
<5 dias (N=72)	30 (41,7%)	3 (4,2%)	1 (1,4%)	38 (52,8%)	72 (100%)	0,011*
>5 dias (N=12)	9 (75%)	1 (8,3%)	0	1 (8,3%)	12 (100%)	

<sup>a</sup>Teste Qui-quadrado. \*p<0,05.

**Gráfico 3** - Distribuição dos participantes, segundo o gênero, estratificados por doença, Fortaleza, 2016. (N=86)

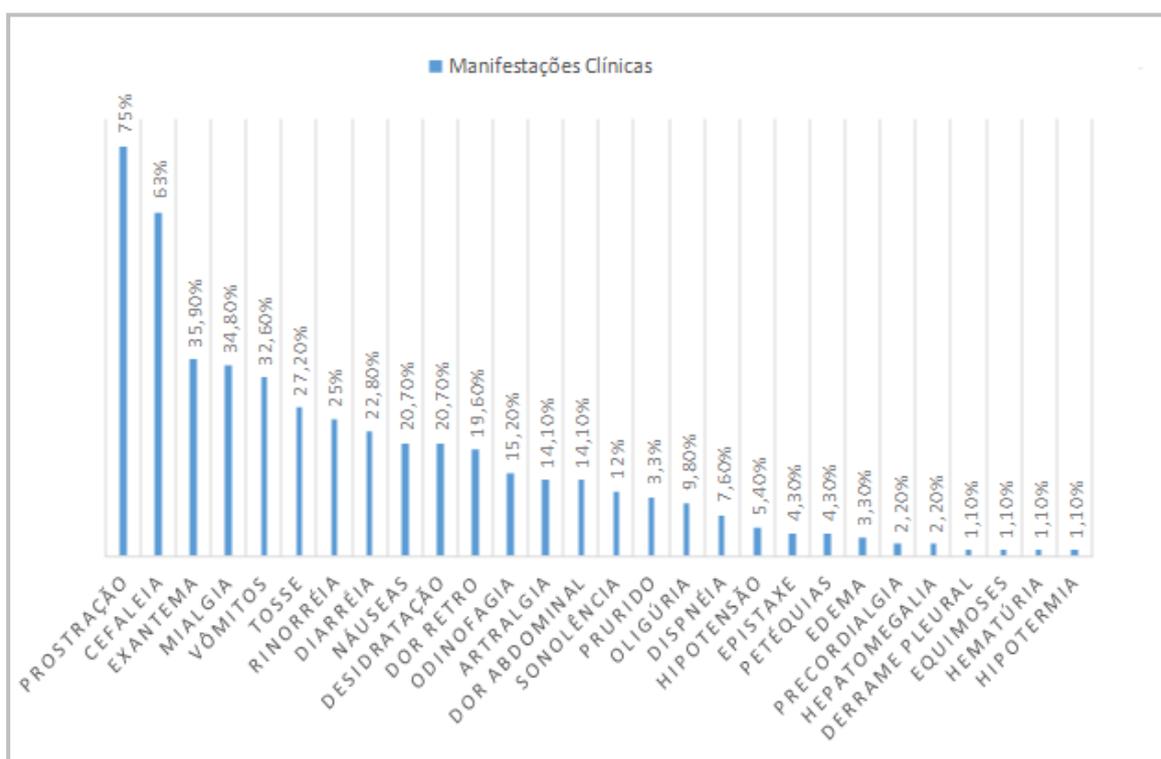


**Tabela 5-** Descrição da análise da frequência de faixa etária dos pacientes estratificados por doença, Fortaleza, 2016. (N=86)

Faixa etária	Diagnóstico das doenças			Total	Valor de p <sup>a</sup>
	Dengue	Leptospirose	Dengue-símile		
<b>Zero a 2 anos</b>	11(47,8%)	1(4,3%)	11(47,8%)	23(100%)	0,664
<b>3 a 10 anos</b>	20(54,1%)	1(2,7%)	16(43,2%)	37(100%)	
<b>11 a 18 anos</b>	8(36,4%)	2(9,1%)	12(54,5%)	22(100%)	

<sup>a</sup>Teste Qui-quadrado. \*p<0,05.

**Gráfico 4-** Apresentação das manifestações clínicas mais frequentes da população estudada. Fortaleza, 2016. (N=86)



A análise das variáveis não demonstrou diferenças significativas entre a proporção de gênero; a distribuição dos diferentes grupos etários e as principais manifestações clínicas. Vale ressaltar que no quadro clínico, as manifestações gerais e sem sinais de gravidade foram as mais prevalentes e que, na população pediátrica é

frequente a presença de sinais e sintomas respiratórios e gastrintestinais, conforme pode ser observado nas tabelas 5, 6, 7 e 8.

**Tabela 6-** Distribuição de manifestações clínicas gerais presentes nos pacientes estratificados por diagnóstico da doença. Fortaleza, 2016.

Manifestações clínicas gerais	Diagnóstico			Valor de p <sup>a</sup>
	Dengue	Leptospirose	Dengue-símile	
<b>Cefaleia</b>				
Ausente	13(43,3%)	1(3,3%)	16(53,4%)	0,764
Presente	25(48,1%)	3(5,8%)	24(46,2%)	
<b>Dor Retro-orbitária</b>				
Ausente	28(41,8%)	3(4,5%)	36(53,7%)	0,155
Presente	10(66,7%)	1(6,7%)	4(26,7%)	
<b>Mialgia</b>				
Ausente	19(36,5%)	3(5,8%)	30(57,7%)	0,063
Presente	19(63,3%)	1(3,3%)	10(33,3%)	
<b>Artralgia</b>				
Ausente	34(47,2%)	4(5,6%)	34(47,2%)	0,536
Presente	5(45,5%)	0	6(54,5%)	
<b>Prostração</b>				
Ausente	8(40%)	2(10%)	10(50%)	0,481
Presente	30(48,4%)	2(3,2%)	30(48,4%)	
<b>Exantema</b>				
Ausente	27(49,1%)	2(3,6%)	26(47,3%)	0,653
Presente	11(40,7%)	2(7,4%)	14(51,9%)	

<sup>a</sup> Teste do Qui-quadrado. \*p<0,05.

**Tabela 7-** Distribuição de manifestações clínicas graves presentes nos pacientes estratificados por diagnóstico de doença. Fortaleza, 2016.

Manifestações clínicas graves	Diagnóstico			Valor de p <sup>a</sup>
	Dengue	Leptospirose	Dengue-símile	
<b>Dispneia</b>				
Ausente	35(46,1%)	4(5,3%)	37(48,7%)	0,730
Presente	3(50%)	0	3(50%)	
<b>Dor Abdominal</b>				
Ausente	31(43,7%)	4(5,6%)	36(50,7%)	0,223
Presente	8(66,7%)	0	4(33,3%)	
<b>PA baixa</b>				
Ausente	37(46,8%)	4(5,1%)	38(48,1%)	0,816
Presente	2(50%)	0	2(50%)	
<b>Sonolência</b>				
Ausente	33(44%)	4(5,3%)	38(50,7%)	0,195
Presente	6(75%)	0	2(25%)	
<b>Desidratação</b>				
Ausente	29(45,3%)	3(4,7%)	32(50%)	0,832
Presente	10(52,6%)	1(5,3%)	8(42,1%)	

<sup>a</sup> Teste do Qui-quadrado. \*p<0,05.

**Tabela 8-** Distribuição de manifestações clínicas respiratórias presentes nos pacientes estratificados por diagnóstico de doença. Fortaleza, 2016.

Manifestações clínicas respiratórias	Diagnóstico			Valor de p <sup>a</sup>
	Dengue	Leptospirose	Dengue-símile	
<b>Rinorreia</b>				
Ausente	29(47,5%)	2(3,3%)	30(49,2%)	0,557
Presente	9(42,9%)	2(9,5%)	10(47,6%)	
<b>Tosse</b>				
Ausente	28(47,5%)	2(3,4%)	29(49,1%)	0,631
Presente	10(43,5%)	2(8,7%)	11(47,8%)	
<b>Dispneia</b>				
Ausente	35(46%)	4(5,3%)	37(48,7%)	0,730
Presente	3(50%)	0	3(50%)	
<b>Dor de garganta</b>				
Ausente	31(44,9%)	4(5,8%)	34(49,3%)	0,453
Presente	7(53,8%)	0	6(46,2%)	

<sup>a</sup> Teste do Qui-quadrado. \*p<0,05.

**Tabela 9-** Distribuição de manifestações clínicas gastrointestinais presentes nos pacientes estratificados por diagnóstico de doença. Fortaleza, 2016.

Manifestações clínicas gastrointestinais	Diagnóstico			Valor de p <sup>a</sup>
	Dengue	Leptospirose	Dengue-símile	
<b>Náuseas</b>				
Ausente	32(48,5%)	3(4,5%)	31(47%)	0,724
Presente	9(42,9%)	2(9,5%)	10(47,6%)	
<b>Vômitos</b>				
Ausente	26(44,8%)	3(5,2%)	29(50%)	0,830
Presente	13(52%)	1(4%)	11(44%)	
<b>Diarreia</b>				
Ausente	30(45,5%)	4(6%)	32(48,5%)	0,369
Presente	9(52,9%)	0	8(47,1%)	

<sup>a</sup> Teste do Qui-quadrado. \*p<0,05.

Os resultados laboratoriais inespecíficos da amostra identificaram que a média de plaquetas era significativamente menor nos grupos de Dengue e Dengue-símile quando comparado ao grupo de Leptospirose (tabela 9).

**Tabela 10-** Descrição dos resultados de hemograma de pacientes com Dengue, Leptospirose e Dengue-símile. Dados apresentados como média (DP). Fortaleza, 2016. (N=86)

Exames	Dengue	Leptospirose	Dengue-símile	Valor de p <sup>a</sup>
<b>Hemoglobina (g/dL)</b>	12,25(1,80) n=38	12,10(0,98) n=4	12,11(1,64) n=40	0,984 <sup>b</sup> 0,927 <sup>c</sup> 1,000 <sup>d</sup>
<b>Hematócrito (%)</b>	36,87(4,99) n=38	36,42(2,35) n=4	36,58(4,79) n=40	0,983 <sup>b</sup> 0,964 <sup>c</sup> 0,998 <sup>d</sup>
<b>Leucócitos (mm3)</b>	6674,21(3230,28) n=38	8129,50(272,79) n=4	6415,80(3443,27) n=40	0,677 <sup>b</sup> 0,935 <sup>c</sup> 0,581 <sup>d</sup>
<b>Segmentados (uL)(%)</b>	50,69(21,55) n=38	61,00(27,84) n=4	48,52(19,21) n=40	0,613 <sup>b</sup> 0,889 <sup>c</sup> 0,488 <sup>d</sup>
<b>Linfócitos (uL)(%)</b>	40,64(21,56) n=38	36,00(35,53) n=3	43,97(19,93) n=40	0,929 <sup>b</sup> 0,769 <sup>c</sup> 0,806 <sup>d</sup>
<b>Plaquetas (mm3)</b>	31897,3(85518,05) n=38	142877,5(229490,42) n=4	22278,5(67620,14) n=40	<b>0,048<sup>b*</sup></b> 0,879 <sup>c</sup> <b>0,028<sup>d*</sup></b>

<sup>a</sup> ANOVA com teste de Tukey.

<sup>b</sup> para comparação entre Dengue e Leptospirose.

<sup>c</sup> para comparação entre Dengue e Dengue-símile.

<sup>d</sup> para comparação entre Leptospirose e Dengue-símile.

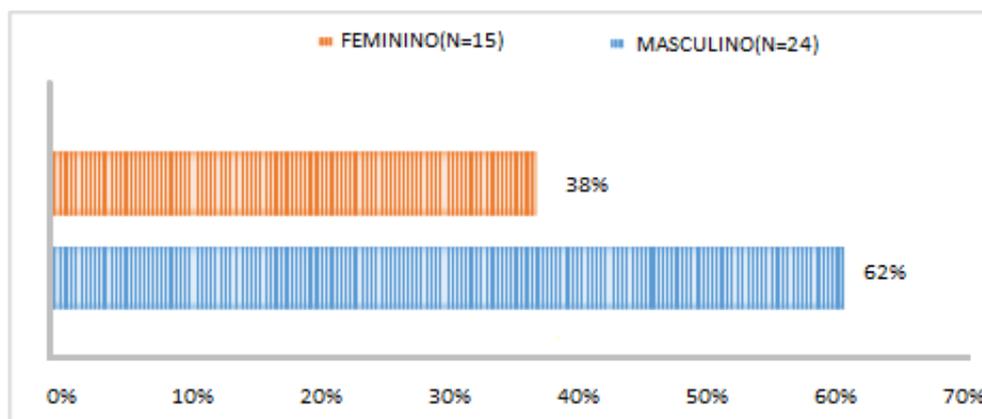
\*p<0,05.

Pormenorizando a análise e realizando a interpretação das variáveis em cada grupo isoladamente, obteve-se os seguintes resultados:

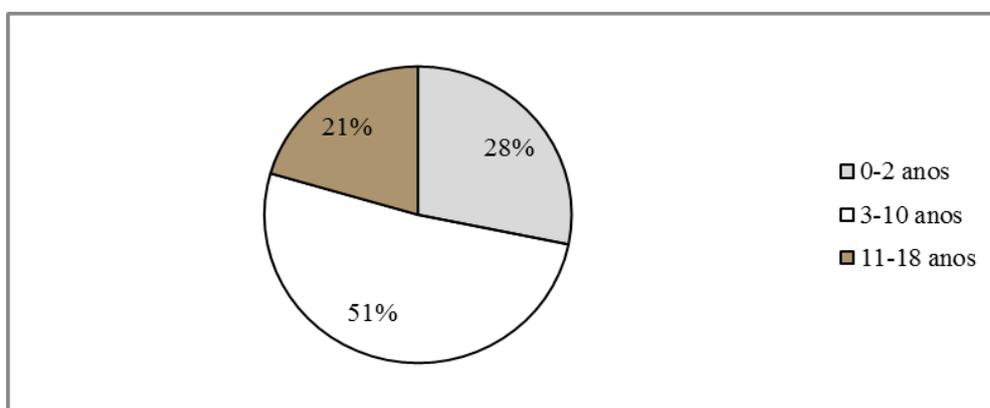
### ➡ Dados dos pacientes com diagnóstico de Dengue

Em relação as variáveis gênero e idade, os resultados demonstraram uma maior proporção de participantes de sexo feminino, na faixa etária de 3 a 10 anos (66,7%), conforme demonstrado nos gráficos 5 e 6.

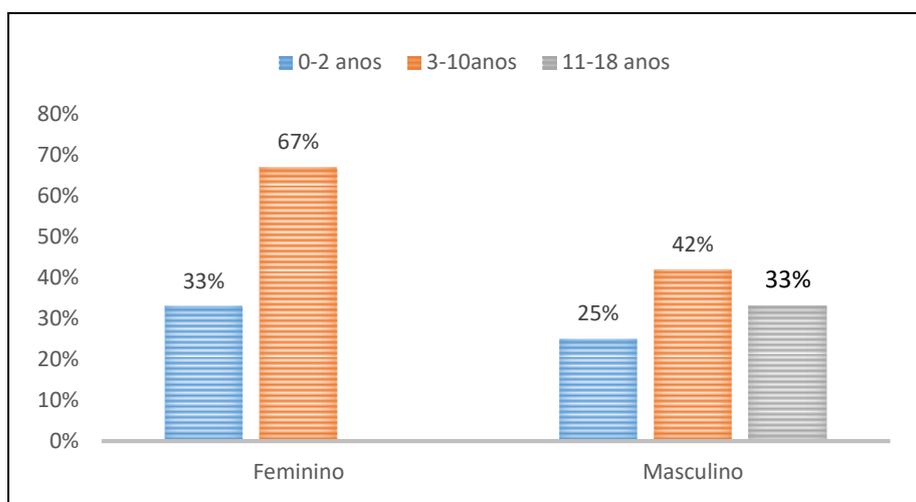
**Gráfico 5-** Apresentação de pacientes com Dengue por gênero. (N =39)



**Gráfico 6-** Distribuição de pacientes com Dengue por faixa etária (N=39)



**Gráfico 7-** Comparação do gênero por diferentes faixas etárias dos pacientes com dengue. Fortaleza, 2016. (N=39)



A distribuição das manifestações clínicas estratificadas por faixa etária, demonstrou significância nos sintomas de cefaleia e mialgia, que se mostraram mais prevalentes na faixa etária de 3-10 anos (56%) e (57,9%) e menos frequentes no grupo de faixa etária de 0-2 anos (16%) e (5,3%), respectivamente.

Outra manifestação que teve resultado relevante foi artralgia com elevada frequência no grupo etário de 11-18 anos (60%) e reduzida no grupo de 3-10 anos (52,9%). Tabela 12

**Tabela 11-** Distribuição de manifestações gerais por diferentes faixas etárias dos pacientes com dengue. Fortaleza, 2016.

Manifestações clínicas gerais	Faixa etária			Valor de p <sup>a</sup>
	0 a 2 anos	3 a 10 anos	11 a 18 anos	
<b>Cefaleia</b>				
Ausente	7(53,8%)	5(38,5%)	1(7,7%)	0,039*
Presente	4(16%)	14(56%)	7(28%)	
<b>Dor Retro-oritária</b>				
Ausente	10(35,7%)	14(50%)	4(14,3%)	0,128
Presente	1(10%)	5(50%)	4(40%)	
<b>Mialgia</b>				
Ausente	10(52,6%)	8(42,1%)	1(5,3%)	0,001*
Presente	1(5,3%)	11(57,9%)	7(36,8%)	
<b>Artralgia</b>				
Ausente	11(32,4%)	18(52,9%)	5(14,7%)	0,043*
Presente	0	2(40%)	3(60%)	
<b>Prostração</b>				
Ausente	2(25%)	3(37,5%)	3(37,5%)	0,467
Presente	9(30%)	16(53,3%)	5(16,7%)	
<b>Exantema</b>				
Ausente	8(29,6%)	13(48,1%)	6(22,2%)	0,932
Presente	3(27,3%)	6(54,5%)	2(18,2%)	

<sup>a</sup> Teste do Qui-quadrado. \*p<0,05.

Em relação a sintomatologia com sinais de gravidade, não se identificou alterações expressivas entre as diferentes faixas etárias. A exceção foi observada na distribuição da hipotensão, que esteve mais presente no grupo de faixa etária de 11-18 anos (100%). Tabela 12

**Tabela 12-** Distribuição de **manifestações graves** por diferentes faixas etárias dos pacientes com **dengue**. Fortaleza, 2016.

Manifestações clínicas graves	Diagnóstico			Valor de p <sup>a</sup>
	0 a 2 anos	3 a 10 anos	11 a 18 anos	
<b>Dispneia</b>				
Ausente	10(28,6%)	18(51,4%)	7(20%)	0,809
Presente	1(33,3%)	1(33,3%)	1(33,4%)	
<b>Dor Abdominal</b>				
Ausente	10(32,3%)	14(45,2%)	7(22,6%)	0,299
Presente	1(12,5%)	6(75%)	1(12,5%)	
<b>Hipotensão</b>				
Ausente	11(29,7%)	20(54,1%)	6(16,2%)	0,034*
Presente	0	0	2(100%)	
<b>Sonolência</b>				
Ausente	8(24,2%)	19(57,6%)	6(18,2%)	0,161
Presente	3(50%)	1(16,7%)	2(33,3%)	
<b>Desidratação</b>				
Ausente	8(27,6%)	16(55,2%)	5(17,2%)	0,634
Presente	3(30%)	4(40%)	3(30%)	

<sup>a</sup> Teste do Qui-quadrado. \*p<0,05.

Em relação as manifestações respiratórias, a rinorreia se mostrou mais frequente na faixa etária de 3-10 anos (77,8%). Tabela 13

**Tabela 13-** Distribuição de **manifestações respiratórias** por diferentes faixas etárias dos pacientes com **dengue**. Fortaleza, 2016.

Manifestações clínicas respiratórias	Diagnóstico			Valor de p <sup>a</sup>
	0 a 2 anos	3 a 10 anos	11 a 18 anos	
<b>Rinorreia</b>				
Ausente	9(31%)	12(41,4%)	8(26,7%)	0,046*
Presente	2(22,2%)	7(77,8%)	0	
<b>Tosse</b>				
Ausente	8(28,6%)	12(42,9%)	8(28,6%)	0,052
Presente	3(30%)	7(70%)	0	
<b>Dispneia</b>				
Ausente	10(28,6%)	18(51,4%)	7(20%)	0,809
Presente	1(33,3%)	1(33,3%)	1(33,4%)	
<b>Odinofagia</b>				
Ausente	10(32,3%)	13(41,9%)	8(25,8%)	0,052
Presente	1(14,3%)	6(85,7%)		

<sup>a</sup> Teste do Qui-quadrado. \*p<0,05.

E quanto aos sintomas clínicos gastrointestinais não houve diferenças significativa na distribuição desses, conforme demonstrado na tabela 15

**Tabela 14-** Distribuição de **manifestações gastrointestinais** por diferentes faixas etárias dos pacientes com dengue. Fortaleza, 2016.

Manifestações clínicas gastrointestinais	Diagnóstico			Valor de p <sup>a</sup>
	0 a 2 anos	3 a 10 anos	11 a 18 anos	
<b>Náuseas</b>				
Ausente	10(31,2%)	14(43,8%)	8(25%)	0,103
Presente	1(16,7%)	5(83,3%)	0	
<b>Vômitos</b>				
Ausente	7(26,9%)	13(50%)	6(23,1%)	0,847
Presente	4(30,8%)	7(53,8%)	2(15,4%)	
<b>Diarreia</b>				
Ausente	7(23,3%)	17(56,7%)	6(20%)	0,405
Presente	4(44,4%)	3(33,3%)	2(22,2%)	

<sup>a</sup> Teste do Qui-quadrado. \*p<0,05

Na interpretação dos resultados laboratoriais, o estudo constatou que os resultados hemoglobina e hematócrito mostraram significância para valores abaixo dos padrões de normalidade para idade no grupo etário de 3 a 10 anos. Enquanto, na faixa etária de 0 a 2 anos foram evidenciados resultados acima do percentil normal para idade (tabela 16).

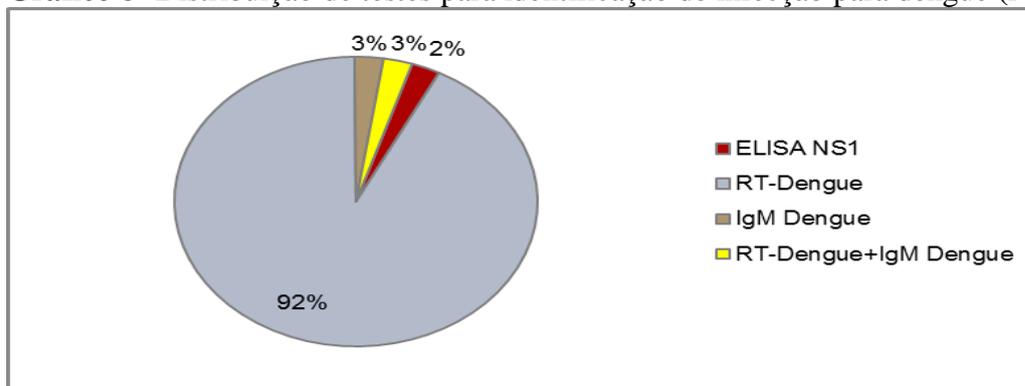
**Tabela 15 -** Distribuição de exames hematológicos e bioquímicos de pacientes com Dengue estratificados por faixa etária. Fortaleza, 2016.

Exames	Faixa etária			Valor de p <sup>a</sup>
	0 a 2 anos	3 a 10 anos	11 a 18 anos	
Hemoglobina				
<b>Baixo</b>	3(20%)	10(66,7%)	2(13,3%)	0,019*
<b>Normal</b>	1(8,3%)	6(50%)	5(41,7%)	
<b>Alto</b>	7(63,6%)	3(27,3%)	1(9,1%)	
Hematócrito				
<b>Baixo</b>	5(26,3%)	11(57,9%)	3(15,8%)	0,028*
<b>Normal</b>	0	4(50%)	4(50%)	
<b>Alto</b>	6(54,5%)	4(36,4%)	1(9,1%)	
Leucócitos				
<b>Baixo</b>	3(25%)	5(41,7%)	4(33,3%)	0,816
<b>Normal</b>	6(30%)	11(55%)	3(15%)	

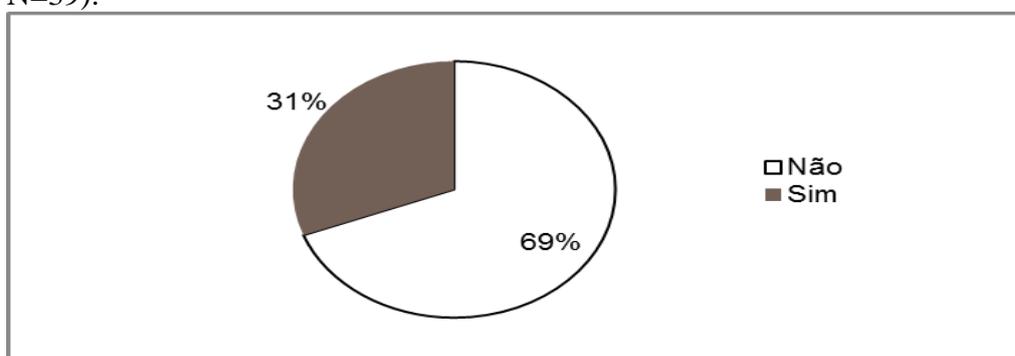
<b>Alto</b>	2(33,3%)	3(50%)	1(16,7%)	
Segmentados				
<b>Baixo</b>	3(23,1%)	9(69,2%)	1(7,7%)	0,421
<b>Normal</b>	6(30%)	8(40%)	6(30%)	
<b>Alto</b>	2(40%)	2(40%)	1(20%)	
Linfócitos				
<b>Baixo</b>	2(20%)	5(50%)	3(30%)	0,829
<b>Normal</b>	5(35,7%)	6(42,9%)	3(21,4%)	
<b>Alto</b>	4(28,6%)	8(57,1%)	2(14,3%)	
Plaquetas				
<b>Baixo</b>	9(27,3%)	17(51,5%)	7(21,2%)	0,132
<b>Normal</b>	2(66,7%)	0	1(33,3%)	
<b>Alto</b>	0	2(100%)	0	
AST (TGO)				
<b>Baixo</b>	0	1(50%)	1(50%)	0,083
<b>Normal</b>	3(25%)	9(75%)	0	
<b>Alto</b>	0	0	0	
ALT (TGP)				
<b>Baixo</b>	2(100%)	0	0	0,076
<b>Normal</b>	1(10%)	8(80%)	1(10%)	
<b>Alto</b>	0	2(100%)	0	

<sup>a</sup> Teste do Qui-quadrado. \* $p < 0,05$ .

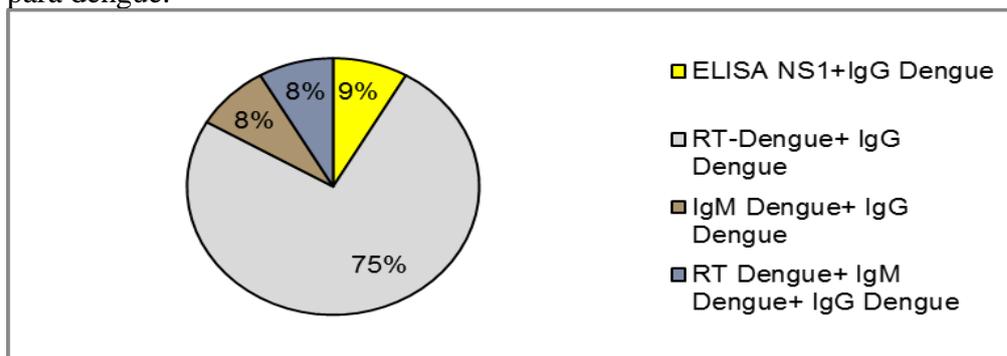
**Gráfico 8-** Distribuição de testes para identificação de infecção para dengue (N= 39)



**Gráfico 9-** Distribuição de testes de infecção secundária para dengue (Elisa-IgG - N=39).



**Gráfico 10-** Distribuição de sobreposição de testes de infecção primária e secundária para dengue.

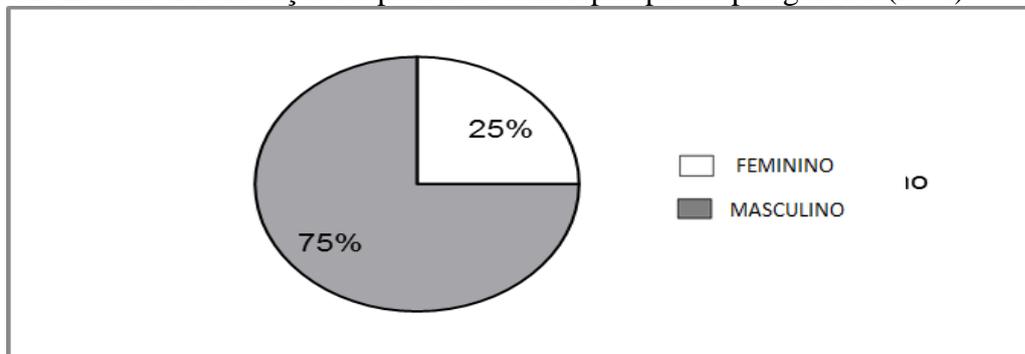


### ➔ Dados dos pacientes com Leptospirose

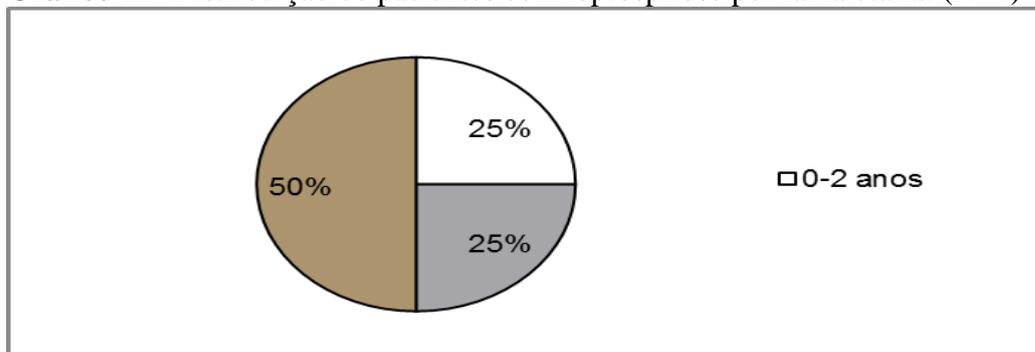
A sequência de tabelas e gráficos abaixo demonstram que os indivíduos positivos para leptospirose não apresentaram diferenças significativas na estratificação das variáveis analisadas.

Não foi possível avaliar a distribuição dos sintomas com sinais de gravidade, em virtude da ausência desse perfil de indivíduos na amostra.

**Gráfico 11-** Distribuição de pacientes com leptospirose por gênero. (N=4)



**Gráfico 12-** Distribuição de pacientes com leptospirose por faixa etária. (N=4)



**Tabela 16-** Distribuição de manifestações gerais por diferentes faixas etárias dos pacientes com leptospirose. Fortaleza, 2016.

Manifestações clínicas gerais	Faixa etária			Valor de p <sup>a</sup>
	0 a 2 anos	3 a 10 anos	11 a 18 anos	
<b>Cefaleia</b>				
Ausente	1(100%)	0	0	0,105
Presente	0	1(33,3%)	2(66,7%)	
<b>Dor Retro</b>				
Ausente	1(33,3%)	1(33,3%)	1(33,4%)	0,422
Presente	0	0	1(100%)	
<b>Mialgia</b>				
Ausente	1(33,3%)	1(33,3%)	1(33,4%)	0,422
Presente	0	0	1(100%)	
<b>Prostração</b>				
Ausente	0	0	2(100%)	0,063
Presente	1(50%)	1(50%)	0	
<b>Exantema</b>				
Ausente	1(50%)	1(50%)	0	0,063
Presente	0	0	2(100%)	

<sup>a</sup> Teste do Qui-quadrado. \*p<0,05.

**Tabela 17-** Distribuição de manifestações respiratórias por diferentes faixas etárias dos pacientes com leptospirose. Fortaleza, 2016.

Manifestações clínicas respiratórias	Diagnóstico			Valor de p <sup>a</sup>
	0 a 2 anos	3 a 10 anos	11 a 18 anos	
<b>Rinorreia</b>				
Ausente	0	0	2(100%)	0,063
Presente	1(50%)	1(50%)	0	
<b>Tosse</b>				
Ausente	0	0	2(100%)	0,063
Presente	1(50%)	1(50%)	0	

<sup>a</sup> Teste do Qui-quadrado. \*p<0,05.

**Tabela 18-** Distribuição de manifestações gastrointestinais por diferentes faixas etárias dos pacientes com leptospirose. Fortaleza, 2016.

Manifestações clínicas gastrointestinais	Diagnóstico			Valor de p <sup>a</sup>
	0 a 2 anos	3 a 10 anos	11 a 18 anos	
<b>Náuseas</b>				
Ausente	1(33,3%)	1(33,3%)	1(33,4%)	0,422
Presente	0	0	1(100%)	
<b>Vômitos</b>				
Ausente	1(33,3%)	1(33,3%)	1(33,4%)	0,422
Presente	0	0	1(100%)	

<sup>a</sup> Teste do Qui-quadrado. \*p<0,05.

**Tabela 19-** Distribuição de exames hematológicos e bioquímicos de pacientes com Leptospirose estratificados por faixa etária. Fortaleza, 2016.

Exames	Faixa etária			Valor de p <sup>a</sup>
	0 a 2 anos	3 a 10 anos	11 a 18 anos	
<b>Hemoglobina</b>				
Baixo	0	0	2(100%)	0,081
Normal	0	1(100%)	0	
Alto	1(100%)	0	0	
<b>Hematócrito</b>				
Baixo	1(33,3%)	0	2(66,7%)	0,105
Normal	0	1(100%)	0	
Alto	1(25%)	1(25%)	2(50%)	
<b>Linfócitos</b>				
Baixo	0	1(50%)	1(50%)	0,148
Normal	1(100%)	0	0	
Alto	1(33,3%)	1(33,3%)	1(33,4%)	
<b>Segmentados</b>				
Baixo	1(100%)	0	0	0,081
Normal	0	0	2(100%)	
Alto	0	1(100%)	0	
<b>Plaquetas</b>				
Baixo	1(33,3%)	1(33,3%)	1(33,4%)	0,422
Normal	0	0	0	
Alto	0	0	1(100%)	

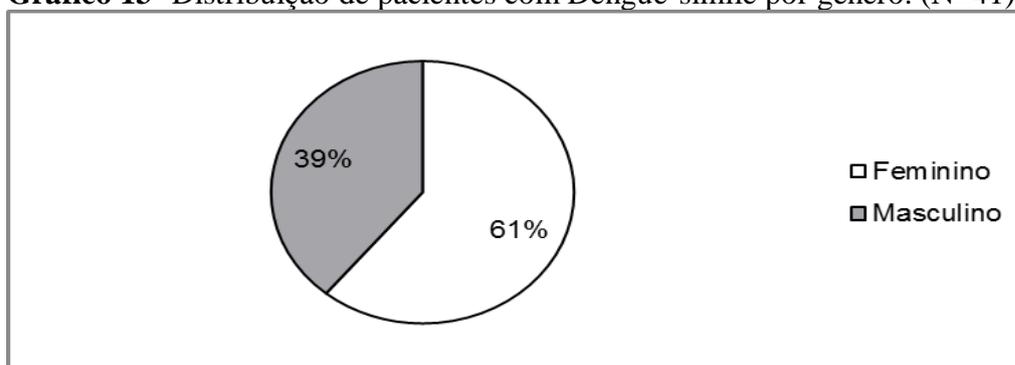
<sup>a</sup> Teste do Qui-quadrado. \*p<0,05.

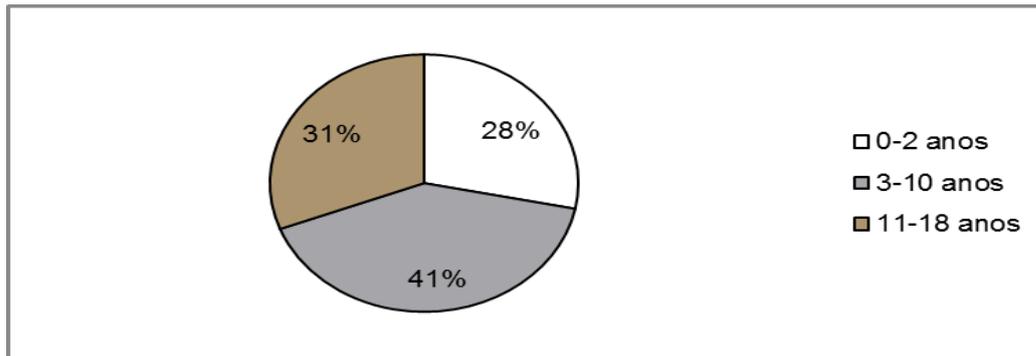
## ➔ Dados dos pacientes com Dengue-símile

Após investigação específica para dengue e leptospirose, 41 indivíduos apresentaram diagnóstico negativo para as patologias citadas e, foram incluídos em um grupo denominado “Dengue-símile”.

Desse modo, esse subgrupo também foi estratificado segundo gênero (gráfico 13), faixa etária (gráfico 14), manifestações clínicas e laboratoriais.

**Gráfico 13-** Distribuição de pacientes com Dengue-símile por gênero. (N=41)



**Gráfico 14-** Distribuição de pacientes com Dengue-símile por faixa etária. N=41

Os pacientes com dengue símile não apresentaram diferenças significativas na distribuição da maioria dos sintomas clínicos gerais, graves, respiratórios e gastrointestinais, entre as faixas etárias pesquisadas. A exceção foi com relação, ao exantema e rinorréia que se mostraram mais frequente na faixa etária de 0-2 anos com 53,8% e 60%, respectivamente; e menos frequente no grupo etário de 3-10 anos (23,1%). Assim como, a desidratação, que apresentou resultados significativos nos indivíduos de 3-10 anos (40%).

Quanto aos exames hematológicos e bioquímicos, entre as diferentes faixas etárias de pacientes com Dengue-símile, vale ressaltar o resultado da análise dos segmentados que mostrou uma frequência de valor acima do normal (50%) na faixa etária de 3 a 10 anos e abaixo do normal (61,5%) na faixa etária de 0 a 2 anos.

Outra significância encontrada ocorreu com a serie branca (linfócitos), no qual mostrou uma frequência de valor normal significativamente maior (58,8%) na faixa etária de 3 a 10 anos e uma maior frequência de valores acima do normal na faixa etária de 0 a 2 anos (52,9%). Tabela 32.

Ao se correlacionar os exames laboratoriais de dengue e dengue símile não houve diferenças significativas entre os diferentes grupos etários. No entanto, para o exame AST (TGO) observou-se uma proporção significativamente maior de valores abaixo do normal (100%) e dentro da normalidade (75%) para os participantes com Dengue, e maior proporção de valores acima do normal (100%) para participantes com Dengue-símile

## ➡ Dados do paciente com Leishmaniose

Não foi possível realizar estudo comparativo de Leishmaniose com os outros grupos, pois somente um participante positivou para o teste. Contudo, realizou-se a análise do (a) participante.

Paciente, 4 anos, sexo feminino, natural e procedente de Fortaleza-CE. Apresentava febre (5 dias), cefaleia, mialgia, prostração, rinorréia, vômitos e epistaxe. O hemograma evidenciava anemia (**Hto:** 28,9% e **Hba:** 9,2mg/dl), leucopenia ( $3.500/\text{mm}^3$ ) e plaquetopenia ( $88.000/\text{mm}^3$ ); **Ur:** 20mg/dl ; **Cr :** 0,6mg/dl; **Alb:** 3,2mg/dl; **AST:** 15mg/dl ; **ALT :** 71mg/dl; K-39 positivo e PCR reagente para *Leishmania sp.*

## 6 DISCUSSÃO

A dengue, a leptospirose e a leishmaniose são doenças febris, cosmopolitas, reemergentes, que possuem elevada morbimortalidade, principalmente na infância, sendo consideradas importantes problemas de saúde pública, sobretudo em países em desenvolvimento, onde uma importante parcela da população vive em situação de pobreza, sem ter acesso a condições mínimas de saúde, educação e moradia (OPS/OMS, 2005; HEMUNGKORN, THISYAKORN, THISYAKORN, 2007, GUZMAN, 2010, GERRA, 2013; COSTA et al, 2015).

No Brasil, o trio de infecções é considerado endêmico em todo território nacional, principalmente na região Nordeste, onde os registros percentuais no ano de 2015 foram em torno de 18,1% (273.841 casos) para dengue; 9,3% (404 casos) para leptospirose e 55% (1805 casos) (BRASIL, 2015). Em Fortaleza, no período de janeiro a dezembro de 2015 e no primeiro trimestre de 2016, foram notificados, segundo a Secretaria Municipal de Saúde, 21.810 casos suspeitos de dengue na faixa etária pediátrica, sendo confirmados laboratorialmente 4.805 casos, representando um percentual de 22% do total de casos investigados (FORTALEZA/SMS/SIDAM 2016). A leishmaniose apresentou 130 casos no município e a leptospirose, embora não possuísse dados atualizados na SMS sobre o período de 2015, registrou 19 casos em 2014, equivalendo a um percentual de 61% do número de indivíduos infectados no estado (CEARÁ, 2016).

Os resultados do presente estudo indicam que a dengue e a leptospirose guardam entre si uma importante correspondência clínica, particularmente nos primeiros dias, visto que diagnóstico definitivo só foi possível com a utilização de exames específicos, uma vez que inicialmente todos os pacientes tiveram suspeita clínica de dengue. Desse modo, os dados confirmam estudos descritos por outros autores, como Larocque et al (2005) em Bangladesh, Bruce et al (2005) em Porto Rico e Libraty *et al* (2007), na Tailândia, que demonstraram a similaridade das manifestações entre as duas patologias, assim como a importância e necessidade do diagnóstico precoce através de exames laboratoriais específicos.

Devido a utilização precoce dos exames específicos, como imunocromatografia, ELISA e PCR, também foi possível o diagnóstico do caso de leishmaniose visceral nos primeiros dias de doença, porque, devido ao seu caráter insidioso, a sintomatologia habitual da doença surge tardiamente, sendo a patologia considerada uma doença febril crônica (QUEIROZ; ALVES; CORREIA, 2004). Dessa forma, constatou-se que a infecção apresenta manifestações constitucionais na sua forma oligossintomática, conforme foi observado e descrito por BADARÓ et al, 1986, ou pode não apresentar sintomas, como demonstrado por Monteiro et al (2013) em pacientes do HEMOCE de Fortaleza (CE).

Após a estratificação da população, observou-se elevada incidência de pacientes positivos para dengue (45%), concomitantemente à existência de um acentuado percentual de subnotificações para patologias dengue-símile (49%). Pressupõe-se que a superestimação da dengue perante as outras síndromes febris foi decorrente do amplo espectro clínico da doença, que se apresenta com manifestações clínicas similares à outras infecções; ao caráter autolimitado de outras doenças comuns da infância, que por possuírem baixos índices de complicações frente a dengue não são investigadas quanto ao agente etiológico (KLIEGMAN; BEHRMAN; JENSON; STANTON, 2005); às influências meteorológicas (VIANA; IGNOTTI, 2013) e ao enfoque da mídia audiovisual durante o período da coleta ( DIARIO DO NORDESTE. fora, 2016; G1.GLOBO.UOL,2015; OPOVO.UOL,2015 ).

Essa similaridade entre a dengue, leptospirose e as outras infecções febris agudas (dengue-símile) na infância foi comprovada ao se analisar as variáveis gênero, faixa etária e manifestações clínicas correlacionando-as com os subgrupos da população investigada, cujo resultados não apresentaram diferenças relevantes.

No caso da variável de gênero pode-se supor que os resultados sejam decorrentes da mudança do perfil recreativo das crianças nos dias atuais, pois não há grandes disparidades quanto as atividades de lazer entre os diferentes gêneros, possibilitando a exposição para ambos, seja junto a águas contaminadas, propiciando a leptospirose, seja pela maior permanência em domicílio, em virtude da expansão tecnológica (televisão, games, internet, etc.), favorecendo os vetores da dengue, que agem principalmente em domicílio e peridomicílio.

Além da influência comportamental, o nosso estudo também estaria em consonância com os pesquisadores como Guerra-Silveira, Abad-Franch (2013), que

afirmam que patologias como dengue e leptospirose estão mais propensas a serem contraídas pelo gênero masculino. Para validar essa afirmação os autores sintetizaram 82 artigos, com aproximadamente cinco milhões de casos de doença ou exposição, e concluíram que embora haja influência comportamental do gênero, esta desempenha um papel secundário para o fenômeno, pois são as alterações fisiológicas (hormonais e imunomoduladoras) que, provavelmente, modulam o risco de infecção para determinadas doenças. Tal fato pode justificar a predominância do sexo masculino em nossos resultados, ainda que não tenha ocorrido uma diferença expressiva entre os gêneros.

Em relação a faixa etária não se evidenciou disparidades pertinentes entre grupos de doenças, demonstrando harmonia com a literatura, no que diz respeito a dengue (GUZMAN, 2016) e diferem quanto a leptospirose anictérica, pois segundo Levett (2001) há uma predileção da doença pelas crianças de maior faixa etária. A divergência em nossos achados pode estar associada ao local que ocorreu a pesquisa, pois os Hospitais estavam localizados na periferia da cidade e possuíam uma alta prevalência de atendimentos de indivíduos com precárias condições de moradia e saneamento básico, favorecendo a transmissão da leptospirose para todas as faixas etárias.

As manifestações clínicas foram avaliadas sob dois aspectos, inicialmente de forma isolada, em que se constatou por ordem decrescente de frequência, independe da doença, prostração (72%), cefaleia (60%), mialgia (34,8%), exantema (31,4%) e vômitos (25%) e as menos prevalentes, hipotermia e sangramentos, ambas com aproximadamente 1,1%. Posteriormente a sintomatologia foi agrupada em quatro subgrupos, considerando o conceito de paciente suspeito de dengue, segundo a WHO, 2009:

A) Participantes com manifestações gerais: cefaleia, dor retro-orbitária, mialgia, artralgia, prostração e exantema;

B) Participantes com manifestações clínicas graves: dor abdominal, hipotensão, sonolência, desidratação, dispneia, vômitos persistentes;

C) Participantes com manifestações respiratórias: rinorreia, tosse e dor de garganta;

D) Participantes com manifestações gastrointestinais: náuseas, vômitos e diarreia.

Vale enfatizar que alguns sintomas, como dispneia e vômitos, estavam presentes em mais de um grupo, assim como a febre estava presente em 100% da amostra, pois fazia parte dos critérios de inclusão.

Os dados encontrados corroboraram os achados de Libraty et al. (2007), que demonstraram o amplo espectro clínico da dengue, leptospirose e outras doenças febris agudas indiferenciadas e de Phuong et al (2004) no Vietnã, que descreveu a frequência das diversas manifestações clínicas da dengue na criança.

Dessa maneira, nosso estudo ratifica que na infância é habitual a constatação de manifestações respiratórias e gastrointestinais no quadro clínico da doença, sendo mais frequente a presença concomitante dos sintomas respiratórios. E que, a artralgia, cefaleia, dor retro-orbitária e mialgia, sintomas clássicos da dengue, podem não ser relatados pela possibilidade de serem interpretados somente como irritabilidade, principalmente para as crianças de menor faixa etária, sobretudo os lactentes (BRASIL, 2011)

Em relação aos dados laboratoriais, estes não apresentaram diferenças entre as médias dos exames analisados, com exceção da média de plaquetas, que se mostrou significativamente menor no grupo de dengue quando comparado ao grupo de leptospirose ( $p=0,048$ ). Além disso, a média de plaquetas do grupo de dengue-símile também foi significativamente menor do que a do grupo de leptospirose ( $p=0,028$ ). Quanto aos exames bioquímicos somente o exame AST (TGO) mostrou-se significativamente maior no grupo dengue-símile em comparação ao grupo dengue ( $p=0,018$ ). Um paciente com PCR positivo para leptospira apresentou alterações renais com elevação da ureia e creatinina acima dos valores de referência, porém sem necessidade de métodos dialíticos. A maior possibilidade de ocorrência de comprometimento renal na leptospirose pode ser justificada pela ação nefrotóxica direta da leptospira, ocasionando dano intersticial e tubular (DAHER,; ABREU; SILVA JUNIOR, 2010).

Nesse contexto, os valores hematológicos e as dosagens séricas se apresentaram dentro dos valores de normalidade ou pouco alteradas, estando de acordo com outros autores que evidenciaram resultados similares, demonstrando que nos casos oligossintomáticos ou leves não há alterações laboratoriais significativas, enquanto nos pacientes mais enfermos, que possuem repercussões hemodinâmicas, as variações tendem a ser relevantes, demonstrando a relação direta entre a gravidade da doença e as alterações encontradas no hemograma (séries vermelha, branca e plaquetária) e nos biomarcadores hepáticos e renais (GLUBER, 1998; HUNG, *et al*, 2004; SHAH; KATIRA 2007).

Ao se estratificar isoladamente o grupo de indivíduos positivos para dengue, observou-se o predomínio do sexo masculino (61,5%) em relação ao sexo feminino (38,5%) e a faixa etária não apresentou heterogeneidades significativas entre os grupos etários. Houve uma maior frequência no grupo de 3-10 anos (51,3%) seguida do grupo de 0-2 (28,2%) e, por fim, de 11-18 anos (20,5%). Os resultados obtidos estão em conformidade com a maioria dos autores que dizem não haver predileção de grupos etários na doença, mas não observou a relação inversamente proporcional entre gravidade e faixa etária nos pacientes pediátricos, assim como maior prevalência de complicações no sexo feminino (SHAH et al. 2004; CARRASCO et al, 2014).

Durante a análise das manifestações clínicas, observou-se uma maior prevalência das manifestações gerais, destacando-se com maior frequência a cefaleia (56%) e a mialgia (57,9%) no grupo de 3-10 anos e, com menor ocorrência, a faixa etária de 0-2 anos com 53,8% e 52,6% das manifestações anteriores. Outra manifestação geral que se mostrou significativamente relevante foi a artralgia, sendo considerada mais prevalente na faixa de 11-18 anos (52,9%) e, menos, no grupo de 3-10 anos (52,9%). Entre os sintomas respiratórios, a rinorreia foi mais prevalente no grupo de 3-10 anos, com 77,8%, e, quanto aos sintomas gastrointestinais, todos apresentaram algum tipo de manifestação, como náuseas, vômitos ou diarreia. Esses resultados somam-se aos outros autores que demonstraram que na faixa etária pediátrica, frequentemente, os sintomas respiratórios e gastrointestinais estão presentes, diferindo do quadro clínico clássico do adulto, conforme WHO (PHUONG et al, 2004)

A complicação mais evidenciada no presente estudo foi a dor abdominal (76%), seguida de desidratação (40%) e sonolência (16,7%). A desidratação foi identificada conforme o “método Dhaka” (WGO, 2012), no qual os critérios consistem na avaliação do estado geral, do nível de sede, da umidade das mucosas, da frequência cardíaca e respiratória, da turgidez da pele, do tempo de enchimento capilar e da ausência da diurese. Em relação às outras manifestações com sinais de alarme, dois participantes maiores de 11 anos apresentaram hipotensão e houve um registro de derrame pleural. Logo, na população analisada, a proporção de pacientes com necessidade de hospitalização não foi significativa quando comparada ao número de atendimentos, o que reflete uma divergência das informações fornecidas pela Secretaria Municipal de Fortaleza, em que o número de internações pediátricas em decorrência de dengue com complicações aumentou nos últimos anos na cidade (CEARÁ, 2014). Esse pequeno

número de internações em nosso estudo, pode ter ocorrido pelo nosso pequeno número amostral analisado e/ou devido ao atendimento precoce na maioria dos casos (< 5 dias de febre).

A análise laboratorial inespecífica, nos participantes positivos para dengue, não revelou alterações significativas entre as faixas etárias. Com exceção do resultado de hemoglobina e hematócrito na faixa etária de 3 a 10 anos que mostraram uma frequência, significativamente maior para o valor abaixo do normal, 66,7% e 57,9%, respectivamente. Enquanto, para valores acima do normal a maior frequência ocorreu na etária de 0 a 2 anos, sendo de 63,6% para hemoglobina e 54,5%, para hematócrito. Deste modo, os nossos resultados são compatíveis com a descrição de dengue sem complicações, em que o eritrograma nos casos leves ou oligossintomáticos da doença, usualmente, exibem valores adequados ou com pequenas alterações para faixa etária, conforme descrito por Oliveira et al (2012) e Khan et al. (2010). Entretanto, vale sublinhar que a elevação dos valores do hematócrito e hemoglobina, acima do percentil para idade, nos participantes menores de 2 anos, sem outros achados, sugerem hemoconcentração e indicam possíveis complicações da doença, caso não seja diagnosticado em tempo hábil, em virtude do extravasamento plasmático com evolução rápida para choque hipovolêmico (KITIGUL et al., 2007; TANNER et al., 2008; POTTS et al., 2010).

Em relação as séries brancas e plaquetária constatou-se que o leucograma tendeu a uma leucopenia, ou uma leucocitose leve. Houve uma linfocitose na maioria das amostras sanguíneas; e na série plaquetária, a trombocitopenia, sem repercussão, foi um achado comum.

Na análise bioquímica não se observou alterações significativas nos participantes, mas em alguns participantes ocorreu uma diminuição dos valores da albumina sérica e as dosagens de aminotransferase aspartato sérica (AST), aminotransferase alanina sérica (ALT), ureia e creatinina ficaram discretamente alteradas, reafirmando os achados de dengue sem complicações já descritos por Gluber, (1998), Abe (2012) e Guzman et al (2016). Porém, os resultados laboratoriais inespecíficos podem se modificar, em curto intervalo de tempo, devido ao caráter dinâmico da doença. Nos casos com complicações há um aumento do hematócrito a partir de 20% do percentil anterior à doença, neutropenia relevante e trombocitopenia significativa. Os valores bioquímicos estão

acima dos padrões de normalidade, podendo o doente evoluir com insuficiência hepática ou renal (VERDEAL, 2011).

Um outro resultado associado a dengue com complicações, se refere à detecção de IgG-ELISA dengue, exame imunoenzimático específico, em amostras de participantes no início da sintomatologia (MCBRIDE, 2009). O achado se baseia na teoria de amplificação imunológica de Halstead (2000), em que um indivíduo que inicialmente apresentou uma infecção por outro sorotipo possui anticorpos antivirais circulantes, denominados anticorpos heterotípicos ou não neutralizantes, e, quando infectado por sorotipo diferente do que foi anteriormente exposto, provoca uma neutralização do complexo antígeno-anticorpo das células do sistema mononuclear fagocitário em decorrência do reconhecimento do complexo pelos receptores dos macrófagos. Dessa forma, há uma maior replicação viral, devido à maior facilidade de entrada dos vírus nos macrófagos por opsonização; conseqüentemente, há uma elevação da viremia, resultando em aumento da produção de citocinas e de proteases que provocam uma resposta inflamatória mais exacerbada, resultando em extravasamento plasmático com provável repercussão hemodinâmica, pois os pacientes podem evoluir com choque hipovolêmico (GUZMÁN et al. 2006; MALAVIGE et al., 2006; WICHMANN, 2004).

No presente estudo, houve uma divergência em relação a teoria sequencial ou amplificação imunológica, pois se observou uma positividade para IgG- ELISA para dengue de aproximadamente 31%, com uma sobreposição de 30,7% (12 pacientes) da fase aguda (ELISA NS1 e/ou RT-PCR-dengue e/ou IgM ELISA-dengue) com fase tardia (IgG ELISA Dengue). Contudo, conforme descrito anteriormente, o percentual de complicações foi insignificante.

Além da associação da presença de Elisa IgG-Dengue com probabilidade de complicações, o exame sugere a manutenção e a propagação da doença em nosso meio. Em nosso estudo constatou-se que crianças cada vez mais jovens possuíam testes imunoenzimático positivo para fase tardia. Pode pressupor, que o elevado percentual de Elisa IgG positivo encontrado em nossos resultados seja decorrente do perfil da população analisada, pois todos os participantes viviam na periferia da cidade, muitos vizinhos ou familiares estavam com suspeita da doença e, nas proximidades de seus domicílios, existiam muitos locais para desenvolvimento do agente etiológico. Conseqüentemente, reafirma-se a interação de eventos relacionados à incidência e prevalência para permanência da cidade como região endêmica.

O teste imunocromatográfico NS1Ag STRIP (Bio-Rad Laboratories®, França), baseado na detecção da glicoproteína NS1, apresentou resultado negativo em todas as amostras sanguíneas utilizadas. Os dados encontrados não estavam em consonância com os outros autores a respeito do tema, em virtude do elevado percentual negativo, pois, de um modo geral, há um consenso entre a maioria dos estudiosos sobre a elevada sensibilidade e da especificidade dos testes imunocromatográficos, especialmente até o terceiro dia da doença (FRY, 2011; DUSSART, 2008; SILVA, 2011). Contudo, alguns autores argumentam, entre eles, SILVA et al. (2011), que o teste NS1-dengue pode não apresentar resultados fidedignos em pacientes com viremia muito baixa ou naqueles que não estejam na primo-infecção e que tenham sido infectados pelo sorotipo DENV-2, pois nesses indivíduos há uma redução na sensibilidade dos kits NS1, em decorrência da existência prévia de anticorpos IgG, na qual estes se ligariam ao antígeno, originando um resultado não reagente. Presume-se, então, que a totalidade do percentual de valores não reagentes no nosso estudo seja decorrente de várias razões, como a baixa viremia, a exposição prévia ao vírus, a possibilidade da predominância da circulação do DENV 2 em Fortaleza no período da coleta do estudo e, por fim, o transporte e/ou armazenamento inadequado das amostras durante os testes.

Vale ressaltar que, embora o presente estudo seja divergente da maioria dos autores quanto à sensibilidade do teste NS1, ele está em conformidade com os outros resultados encontrados no município de Fortaleza no ano de 2015, evidenciando uma baixa positividade do método NS1-dengue. Nesse período, segundo a Secretaria Municipal de Saúde de Fortaleza (2016), 372 pacientes foram confirmados laboratorialmente para dengue, e destes 305 eram IgM reagentes, 6 tiveram resultado NS1 positivo, 2 tiveram identificação direta através do isolamento viral e 6 apresentaram com RT-PCR positivo (FORTALEZA

Os testes ELISA-NS1 e ELISA IgM apresentaram resultados com baixa positividade, ambos com 2,56%. Acredita-se que o reduzido percentual tenha ocorrido principalmente em decorrência do elevado número de participantes com período febril inferior a 5 dias, visto que os títulos de anticorpos IgM circulantes só estarão presentes a partir daquele período (KAO et al, 2005; SILVA, 2011).

Quando se comparou os dados dos métodos imunenzimáticos aos métodos moleculares, observou-se uma predominância significativa do método RT-PCR, com um percentual de 92,3% (36 participantes), ratificando a literatura vigente sobre a

maior sensibilidade dos métodos moleculares frente aos sorológicos nos primeiros dias de infecção (GUZMAN, 2016).

O método RT-PCR, nos dias atuais, vem se sobressaindo em relação aos outros métodos virológicos, devido sua a capacidade de amplificar material genético até mesmo quando o vírus está inativado. Além, da possibilidade de realizar leituras genéticas após o armazenamento das amostras em temperaturas ideais (-80°C) depois de vários dias da coleta, enquanto o isolamento viral exige vírus viável (SHU; HUANG, 2004). Além disso, como o vírus dengue não possui um bom crescimento *in vitro*, há necessidade de inoculação dele no mosquito, deixando o método do isolamento com várias desvantagens, como a necessidade de um criadouro de insetos para inoculação, o risco de infecção laboratorial e tratar-se de uma técnica bastante laboriosa (SAMUEL; TYAGI, 2006).

Concomitantemente aos testes para confirmação do caso de dengue, foram realizados nas amostras sanguíneas selecionadas teste para confirmação de caso de Leptospirose, para detecção da *Leptospira sp* pelo método de PCR convencional. Após o resultado positivo, a amostra da população foi estratificada considerando o sexo, a idade e manifestações clínicas.

Durante a avaliação do gênero observou-se maior proporção de indivíduos do sexo masculino (75%), demonstrando harmonia com maioria dos autores que afirmam uma predominância do sexo masculino, em virtude da maior exposição a fluidos contaminados, devido às atividades ocupacionais e de lazer (COSTA et al., 2001; FIGUEIREDO, et al., 2001; KARI, et al., 2001, PAPLOSKI, 2013). Contudo, divergem dos dados obtidos por Larocque (2005) em Bangladesh, o qual também utilizou uma população infantil, e evidenciou uma equivalência entre os gêneros.

Ao se analisar os grupos etários, observou-se que os indivíduos PCR- *Leptospira* reagentes apresentaram uma variação de 2 a 18 anos, com média de 9 anos, sendo que o maior percentual na faixa etária de 11 a 18 anos (50%). Os resultados são similares aos obtidos por Libraty et al. (2007) na Tailândia, nos quais se observou uma variação de 4 a 14 anos, com idade média de 10 anos para os pacientes acometidos, assim como aos resultados de outros pesquisadores que relatam uma a maior frequência sobre a faixa etária de 11-18 anos (ABELA-RIDDER, SIKKEMA; HARTSKEERL, 2010). Portanto, a presença da faixa etária semelhante em vários estudos corrobora que as atividades de lazer proporcionam uma maior suscetibilidade à exposição ao patógeno.

Quanto ao quadro clínico, os participantes apresentaram manifestações gerais similares a dengue, como cefaleia (75%), exantema (50%), dor retro-orbitária (25%) e mialgia (25%). Em relação às manifestações respiratórias, dois pacientes do grupo 11-18 apresentaram rinorreia e quanto aos sintomas gastrointestinais, náuseas e vômitos foram os mais prevalentes, ambos com 25%. Não houve manifestações com complicações, apesar de a leptospirose possuir, como agente etiológico, bactérias (espiroquetas), que necessitam de antibioticoterapia para resolução clínica. Dessa forma, nossos resultados reafirmaram a citação de alguns pesquisadores que evidenciaram que a maioria das infecções ocorre sem sinais de gravidade e somente de 10-15% dos pacientes evoluem para a forma grave da doença ou Síndrome de Weil (icterícia, disfunção renal e fenômenos hemorrágicos, principalmente hemorragia pulmonar) (TULLU, KARANDE, 2009; CASSADOU, et al, 2016), mesmo sem tratamento medicamentoso. Segundo McBride et al. (2005), os principais fatores envolvidos na severidade da doença estão relacionados com a cepa, a idade e a resposta imune do hospedeiro. São exemplos dessa afirmação estudos realizados na Tailândia e Brasil, onde os primeiros observaram que sorovares dos subgrupos *Autumnalis* e *Andamana* produziam um quadro clínico brando nos pacientes infectados (LIBRATY, 2007). Enquanto no Brasil, cepas dos sorogrupos *Icterhemorrhagiae* e *Copenhageni*, produziam uma sintomatologia mais exuberante, com disfunção de órgão e/ou sistemas, na qual aproximadamente “70 % apresentou icterícia, 56% insuficiência renal, 65% trombocitopenia, 23% meningite, 11,6% de fenômenos hemorrágicos, principalmente pulmonares, e um paciente foi a óbito por insuficiência respiratória” (MAROTTO et al., 1997). Assim como em outros grupos de pesquisadores que associaram a infecção grave aos sorogrupos *Canicola*, *Grippotyphosa* e *Sejroe* (DUPONT, 1997). Confirmando-se que a variabilidade de apresentações clínicas está vinculada à espécie e à virulência do sorovar envolvido (LEVETT, 2001; EVANGELISTA; COBURN, 2010; KO, GOARANT, PICCRDEAU, 2009).

Um outro fator que influencia a gravidade da leptospirose é a faixa etária. Em um estudo realizado no estado brasileiro da Bahia, que avaliava a influência no risco de infecção e progressão clínica da leptospirose, o pesquisador realizou um comparativo com outros estudos, demonstrando que na faixa pediátrica, ocorria um padrão diferente ao visualizado na dengue, ou seja, o grau de gravidade era menor, e na maioria dos casos tratava-se de infecções subclínicas (PAPLOSKI, 2013).

Consequentemente, pressupõe-se que a população avaliada não tenha apresentado sinais de complicações devido baixa virulência dos sorovores e/ou faixa etária acometida. Vale enfatizar, ainda, que em nosso meio há a utilização indiscriminada de antibioticoterapia, na maioria das vezes sem prescrição médica, mesmo sem diagnóstico definido, durante a evolução da doença. Com essa ação a doença poderia ter sido atenuada, diminuindo as possibilidades de complicações.

No grupo denominado dengue-símile, os resultados obtidos foram muito similares aos casos definidos como dengue. As variáveis de gênero e faixa etária não apresentaram alterações significativas. As principais manifestações foram as manifestações gerais. Não houve diferenças entre as médias da maioria dos exames analisados entre os diferentes grupos de faixas etárias de pacientes com dengue-símile, com exceção da média da série branca quanto aos segmentados e referente as médias de ureia que foi significativamente maior no grupo de faixa etária de 3-10 anos ( $p=0,010$ ) quando comparado ao grupo de 0-2 anos, e a medida de linfócitos que foi significativamente maior no grupo de 0-2 anos quando comparado ao grupo de 3-10 anos.

Ainda que, exista uma grande variabilidade de doenças nesse grupo, merecem destaque as infecções virais Chikungunya, Zika, Mayaro, Oropouche, Hantavírus, pois possuem elevada correspondência clínica-epidemiológica e laboratorial com a dengue e no período da coleta das amostras a mídia nacional noticiava surtos isolados em estados vizinhos. Todavia, em nossa cidade essa confirmação somente aconteceu algum tempo depois.

Nesse contexto, há possibilidades que as mesmas não tenham sido diagnosticadas por falta de kits específicos, pois em muitos resultados laboratoriais desse grupo observou-se elevação do hematócrito e da hemoglobina, redução dos segmentados e elevação dos linfócitos, assim como diminuição no número de plaquetas.

O surgimento e elevação rápida do número de casos outras arboviroses, nos dias atuais, está se tornando um novo desafio para saúde pública, pois gera elevado impacto econômico à região devido ao afastamento das atividades laborais durante a fase aguda ou possíveis sequelas resultantes da infecção. A propagação dessas doenças, também se deve ao desmatamento do habitat natural dos reservatórios, crescimento urbano desordenado, saneamento básico de baixa qualidade e globalização do turismo. (MACKENZIE, WILLIAMS, 2009).

Não foi possível realizar comparações entre os participantes de dengue, leptospirose com leishmaniose, em virtude de um único resultado com PCR leishmania positivo. Todavia, devido ao número amostral reduzido, o resultado tornou-se relevante porque se tratava de um participante nos primeiros dias de doença (fase aguda) que não possuía as características clínicas clássicas da doença (WHO, 2014).

Nesse indivíduo as principais manifestações observadas foram febre moderada, prostração e alterações gastrointestinais. Os dados laboratoriais sugeriam um padrão típico da doença, pois apresentava uma pancitopenia, porém não havia aumento das transaminases e/ou elevação das escórias nitrogenadas (RAMOS, 2013). Assim, em virtude do sinal indireto do hemograma, foi realizado o K-39, onde o participante apresentou resultado positivo para Leishmaniose.

Finalmente é importante sublinhar, que durante a pesquisa, um dos participantes que inicialmente havia sido admitido com o diagnóstico de dengue com sinais de alarme, apresentou resultado positivo para doença meningocócica após a realização de punção lombar para estudo do líquido cefalorraquidiano (LCR).

A doença meningocócica pode variar desde um quadro inespecífico até doença letal, sendo uma das principais causas infecciosas de mortalidade na infância (SABATINI *et al*, 2012). Dessa forma, considerando a gravidade da doença, observa-se que o tratamento medicamentoso poderia ter sido instituído de forma precoce caso os métodos moleculares estivessem mais acessíveis às unidades públicas de saúde, pois, quando patologias se manifestam de forma atípica, como no caso em questão da meningococcemia, a elucidação diagnóstica necessita de exames complementares.

No que se refere às limitações do estudo, é importante destacar que, a sintomatologia (artralgia, mialgia e cefaleia) descrita para a faixa etária de 0-2 anos foram registros relatados pelos responsáveis dos participantes, podendo ter ocorrido uma super ou subestimação das manifestações. O percentual de hospitalizações foi influenciado pelos critérios de inclusão e exclusão, pois devido ao desenho estipulado para o mesmo, os pacientes com comorbidades não participariam da amostra da população. Podendo ter sido esse evento o responsável pelos resultados divergentes do nosso estudo em relação aos dados fornecidos pelo município. Quanto ao número de internações, e o baixo número de participantes positivos para leishmaniose visceral na população analisada, impossibilitando a correlação das variáveis.

## 7 CONCLUSÕES

Em suma constatou-se que a Síndrome febril aguda na infância continua sendo um desafio para os profissionais da saúde, em virtude da similaridade clínica presente nas diversas patologias desse grupo, principalmente nos primeiros dias de doença. Soma-se ao quadro a dificuldade de se estabelecer sintomas bem definidos em crianças, sobretudo nos lactentes. Conseqüentemente, a realização de exames laboratoriais específicos e sensíveis na fase precoce se tornam essenciais a fim de se evitar as formas sintomáticas graves e, conseqüentemente, minimizar as taxas de letalidade da região. Pois, identificando o agente etiológico, será possível a elaboração e a instituição de estratégias de saúde com a perspectiva de reduzir a incidência da infecção.

A dengue continua sendo uma patologia frequente ao se observar as doenças febris aguda infância, contudo há uma superestimação da doença frente as outras infecções febris da infância, especialmente em regiões endêmicas, quando se considera somente o diagnóstico clínico- epidemiológico.

A leptospirose raramente é lembrada pelos profissionais de saúde durante a investigação da síndrome febril aguda na infância, apesar da grande correspondência clínica epidemiológica com outras patologias do grupo.

A leishmaniose, em sua fase oligossintomática, pode apresentar algumas manifestações similares a doenças febris agudas, como a dengue e a leptospirose, e a investigação laboratorial para essa patologia é benéfica, principalmente em regiões endêmicas, pois se trata de uma zoonose grave que pode ser letal se não for adequadamente tratada.

## REFERÊNCIAS

ABE A.H.M., MARQUES S.M., COSTA P.S.C. Dengue em crianças: da notificação ao óbito. **Rev. Paul. Pediatr**, v 30, p.263-271, 2012.

ABELA-RIDDER B.L., SIKKEMA R., HARTSKEERL R.A. Estimating the burden of human leptospirosis. **J Antimicrob Agents**. 2010 Nov;36 Suppl 1:S5-7. doi: 10.1016/j.ijantimcag.2010.06.012.

ADLER B. *Leptospira* and Leptospirosis. **Curr Topics Microbiol**. 387: 1–9, 2015

AKHOUNDI M. A Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of *Leishmania* Parasites and Sandflies. **PLoS Negl Trop Dis** 10(3): e0004349. doi: 10.1371/journal.pntd.0004349, 2016.

ALAM M.Z., KUHLS K., SCHWEYNOCH C. et al. Multilocus microsatellite typing (MLMT) reveals genetic homogeneity of *Leishmania donovani* strains in the Indian subcontinent. **Infect Genet Evol**. 9: 24-31, 2009.

ALEIXO, J.A et al. Atypical American visceral leishmaniasis caused by disseminated *Leishmania amazonensis* infection presenting with hepatitis and adenopathy. **Trans R Soc Trop Med Hyg**. V ;100(1):79-82. 2005.

ARAÚJO T.P. et al. Diagnóstico sorológico de infecções por dengue e febre amarela em casos suspeitos no Estado do Pará, Brasil, 1999. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop**. v.35, p. 579-584, 2002.

ASSIS T.S.M., CALIGIORNE R.B., ROMERO G.A.S., RABELLO A. Detection of *Leishmania* kDNA in human serum samples for the diagnosis of visceral leishmaniasis. **Trans R Soc Trop Med Hyg**. 103(13): 1269-72, 2009.

BADARÓ R, et al. New perspective on a subclinical form of visceral Leishmaniasis. **J Infect Dis**; 154(6):1003-11. 1986b.

BADARÓ R., JONES T.C., LORENÇO R., CERF B.J. et al. A prospective study of visceral Leishmaniasis in an endemic area of Brazil. **J Infect Dis**. 154(4): 639- 49, 1986a.

BAILEY H., BISHOP W.J. Leishman-Donovan Bodies and Donovaniasis: SIR WILLIAM BOOG LEISHMAN, 1865-1926. CHARLES DONOVAN, 1863-1951. **Brit J Venereal Dis**. 35(1):8-9, 1959.

BANDARA M., ANANDA M., WICKRAMAGE K., BERGER E., AGAMPODI S. Globalization of leptospirosis through travel and

migration. **Globalization and Health**. 10:61. doi:10.1186/s12992-014-0061-0, 2014.

BARRETO M.L., TEIXEIRA M.G. Dengue no Brasil: situação epidemiológica e contribuições para uma agenda de pesquisa. **Estudos avançados**, v.22, p53-72, 2008.

BETZ M.G, GRUNFELD A.F. 'Fever phobia' in the emergency department: a survey of children's caregivers. **Eur J Emerg Med.**, v.13(3), p.129-33, 2006

BOELAERT M. et al. Rapid Tests for the Diagnosis of Visceral Leishmaniasis in Patients with Suspected Disease. **Cochrane Database Syst Rev**, v.6, p. 1–119.

BOURHY, P.; VRAY, M.; PICARDEAU . Evaluation of an in-house ELISA using the intermediate species *Leptospira fainei* for diagnosis of leptospirosis. **MJ Med Microbiol**, v., 62(Pt 6):822-7.2013 doi: 10.1099 / jmm.0.054304-0.

BRASIL. **DATASUS. RIPS**A - Rede Interagencial de Informações para a Saúde. IDB- Indicadores e Dados Básicos para Saúde, 2008 – [www.datasus.gov.br/idb](http://www.datasus.gov.br/idb). Acesso em 22/06/2015

BRASIL. **Dengue - diagnóstico e manejo clínico: adultos e criança**. Ministério da Saúde, 4ª ed, Brasília, DF, 2011.

BRASIL. **Informe Epidemiológico da dengue: análise de situação e tendências**. Ministério da Saúde. Secretaria de vigilância em Saúde. Brasília; Ministério da Saúde, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Leptospirose: diagnóstico e manejo clínico**, 2014a.

BRASIL. **Nota informativa** nº 29 CGDT/DEVIT/SVS/MS, 2014b.

BRUCE, M.G, *et al*. Leptospirosis among patients presenting with dengue-like illness in Porto Rico. **Acta Trop.**, v.96, p.36-46, 2005

CAMPOS, G.S; BANDEIRA; SARDI, S.I. Zika Virus Outbreak, Bahia, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v.21(10), p. 1885-1886, 2015. doi:10.3201/eid2110.150847.

CAMPOS J.R., BURNS D.A.R., LOPEZ, F.A. **Tratado de Pediatria**. Ed Manole, v 01 p 1545-1550; 1567-1583. 2014.

CARRASCO, L.R. et al. Predictive Tools for Severe Dengue Conforming to World Health Organization 2009 Criteria. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v 8.7 ,2014.

CASTRO, R. M. et al. Inquérito sorológico sobre leptospiroses realizado no Vale do Cariri, Estado do Ceará, pela III Bandeira Científica do Centro Acadêmico Oswaldo Cruz da Faculdade de Medicina da

- Universidade de São Paulo. **Revista de Medicina**, v. 47, n. 3, p. 190-192, 1963.
- CASSADOU, S., et al. Underestimation of Leptospirosis Incidence in the French West Indies. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 10.4, 2016 e0004668.
- CEARÁ. **Coordenadoria de Promoção e Proteção à Saúde**. Núcleo de Vigilância Epidemiológica/SESA/COPROM/NUVEP - [www.saude.ce.gov.br](http://www.saude.ce.gov.br). Acesso em:16/03/2015.
- CEARÁa. **Coordenadoria de Promoção e Proteção à Saúde**. Núcleo de Vigilância Epidemiológica/SESA/COPROM/NUVEP. Informe Epidemiológico, 2014.
- CERQUEIRA, G.M.; PICARDEAU, M. A century of Leptospira strain typing. **Infect Genet Evol.** v; 9(5):760-8., 2009 doi: 10.1016 / j.meegid.2009
- CHAPPUIS, F. et al. Prospective evaluation and comparison of the direct agglutination test and an rK39-antigen-based dipstick test for the diagnosis of suspected kala-azar in Nepal. **Trop Med Int Health**.v. 8(3), p.277-85, 2003
- CONROY A.L., GÉLVEZ M., HAWKES M. et al. Host biomarkers distinguish dengue from leptospirosis in Colombia: a case–control study. **BMC Infectious Diseases**. 14:35, 2014.
- COSTA F. et al. Global Morbidity of Leptospirosis: A Systematic Review. **PLoS.Neglected Tropical Diseases**, v 9 (9), 2015.
- COSTA M.L.J. Epidemiologia das Leishmanioses no Brasil. **Gaz Méd. Bahia**, v.75:1, p. 3-17, 2005
- COSTA, E. et al. Formas graves de leptospirose: aspectos clínicos, demográficos e ambientais. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 34, n. 3, p. 261-267, 2001.
- CROCETTI M; MOGHBELI N; SERWINT. J. Fever phobia revisited: have parental misconceptions about fever changed in 20 years. **Pediatrics**, v.107(6), p.1241-6, 2001
- CRUZ-OLIVEIRA, C. et al. Receptors and routes of dengue virus entry into the host cells. **FEMS Microbiology Reviews**, v 39 (2), p. 155-170, 2015; DOI: 10.1093
- CUPOLILLO, E. Avanços dos Estudos Moleculares de Leishmania (Leishmania chagasi) Aplicados ao Diagnóstico de LV no Brasil. **Consulta de Expertos OPS/OMS Sobre Leishmaniasis Visceral en Las Américas**, p. 57-62, 2005.

DAHER, E.F.; ABREU, K.L.S; SILVA JUNIOR, G.B., Insuficiência renal aguda associada à leptospirose. **J. Bras. Nefrol.**, São Paulo , v. 32, n. 4, p. 408-415, Dec. 2010

DE MENEZES J.P.B. et al. Advances in Development of New Treatment for Leishmaniasis. **BioMed Research International**. 2015:815023. doi:10.1155/2015/815023, 2015.

DESJEUX P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. Comparative Immunology. **Microbiol. Infect. Dis.** 27: 305318, 2004.

DEGRAVE, W. et al . Use of molecular probes and PCR for detection and typing of Leishmania - a mini-review. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 89, n. 3, p. 463-469, 1994

DIETRICH M. et al. Leptospira and Bats: Story of an Emerging Friendship. **PLoS Pathogens**. 11(11): e1005176. doi: 10.1371/journal.ppat.1005176, 2015.

DONALISIO M.R.C. **O enfrentamento de epidemias: as estratégias e perspectivas do controle do dengue**. Tese (Doutorado em Saúde Coletiva). Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 1995.

DUPONT H. Leptospirose: fatores prognósticos associados à mortalidade. **Clin Infect Dis**. Artigo de Atualização | Update Article, 1997.

DUSSART P., PETIT L., LABEAU B. et al. Evaluation of two new commercial tests for the diagnosis of acute virus infection using NS1 antigen detection in human serum. **PLoS Negl Trop Dis**. 2:e208, 2008.

EFFLER, P. V. et al. Evaluation of the Indirect Hemagglutination Assay for Diagnosis of Acute Leptospirosis in Hawaii. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38.3 (2000): 1081–1084.

ELLIS, T.; IMRIE, A., KATZ A. R.; EFFLER, P.V.; Underrecognition of Leptospirosis During a Dengue Fever Outbreak in Hawaii, 2001–2002. **Vector Borne and Zoonotic Diseases**. V8(4):541-547, 2008. doi:10.1089/vbz.2007.0241.

ELMAHALLAWY E. et al. Diagnosis of leishmaniasis. **The Journal of Infection in Developing Countries**, North America, 8, aug. 2014. Available at: <http://www.jidc.org/index.php/journal/article/view/25116660/1120>. 2014

EVANGELISTA, K. V, COBURN, J. Leptospira as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. **Future microbiology**, v. 5(9), p.1413-1425, 2010 doi:10.2217/fmb.10.102.

FAINE S. et al. Leptospira and leptospirosis. Melbourne: MediSci. Disponível em: <http://arca.icict.fiocruz.br>.1999.

FAINE S., ADLER B., BOLIN, C., PEROLAT P. **Leptospira and Leptospirosis**. 2nd ed. Melbourne: MedSci, 2000.

FARR R.W. Leptospirosis. **Clinical Infectious Disease**, v.21, p.1-20, 1995.

FIGUEIREDO, L.T.M. Dengue no Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** , v. 45, n. 3, p. 285, 2012.

FIGUEIREDO, C. M. et al. Leptospirose humana no município de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil: uma abordagem geográfica. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 34, n. 4, p. 331-338, 2001

FONTES R. M. **Identificação de casos de leptospirose e hantavirose em pacientes com suspeita clínica de dengue no Ceará**. Tese (Mestrado em Patologia) Ceará: universidade Federal do Ceará, 2014

FORTALEZA / **Secretaria Municipal de Saúde (SMS)**. [http:// www.https://saude.fortaleza.ce.gov.br](http://www.https://saude.fortaleza.ce.gov.br). Acesso em 15.08.2016

FORTALEZA / **Secretaria Municipal de Saúde (SMS)**. [http:// www.catalogodeservicos.fortaleza.ce.gov.br](http://www.catalogodeservicos.fortaleza.ce.gov.br). Acesso em 15.09.2014

FRY, S.R ; MEYER M.; SEMPLE, M.G, *et al.* The Diagnostic Sensitivity of Dengue Rapid Test Assays Is Significantly Enhanced by Using a Combined Antigen and Antibody Testing Approach. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 5(6):e1199. 2011; doi : 10.1371 / journal. pntd. 0001199

FUNASA. CENEPI. **Guia de Vigilância Epidemiológica**. 2002. Disponível em: <http://www.funasa.gov.br/pub/>, 2002.

GANOZA C.A. et al. Asymptomatic Renal Colonization of Humans in the Peruvian Amazon by *Leptospira*. Peacock SJ, ed. **PLoS Neglected Tropical Diseases**. 4(2): e612, 2010.

GIBSON M.E. The identification of kala-azar and the discovery of *Leishmania donovani*. **Medical History**. 27(2):203-213, 1983.

GRAVEKAMP C., Detection of seven species of pathogenic leptospires by PCR using two sets of primers. **J Gen Microbiol.**, v.139(8),p.1691-700,1993

GRIMALDI, G., TESH, R.B. Leishmaniasis of the New World: current concepts and implications for future research. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 6(3), p. 230-250, 1993

GONTIJO C.M.F., MELO MN. Leishmaniose Visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Rev Bras Epidemiol**; 7 (3): 338-49, 2004.

GUBLER D. J. **The global resurgence of arboviral diseases**. Transactions of the Royal Society of the Tropical Medicine and Hygiene, v. 90, p. 449-451, 1996.

- GUBLER D. J., Dengue and dengue hemorrhagic fever. **Clin Microbiol Rev.** v. 11, n. 3, p. 480-96, 1998.
- GUBLER D.J., Epidemic dengue/ dengue hemorrhagic fever as a public health, social and economic problem in the 21<sup>st</sup> century. **Trends Microbiol.** v 10, p 100-103, 2002.
- GUERRA-SILVEIRA, F, ABAD-FRANCH, F. Sex Bias in Infectious Disease Epidemiology: Patterns and Processes. **PLoS ONE**, v.8(4): e62390, 2013. doi:10.1371 /journal.pone.0062390.
- GUNDUZ, S. et al. “Why Fever Phobia Is Still Common?” **Iranian Red Crescent Medical Journal.**, v 18.8, 2016: e23827..
- GUZMÁN M.G. *et al.* Dengue infection. **Nat Rev Dis Primers.**, v. 18;2:16055,2016. doi: 10.1038/nrdp.2016.55
- GUZMÁN M.G. *et al.* Dengue: a continuing global threat. **Nature Reviews Microbiology**, v 8, p 7-16, 2010.
- GUZMÁN M.G., KOURI G. Dengue: an update. **Lancet Infectious Diseases**, v. 2, p 33-42, 2002.
- GUZMAN, G. *et al.* Caracterización final y lecciones de la epidemia de dengue 3 en Cuba, 2001-2002. **Rev Panam Salud Publica**, v. 19, n. 4, p. 282-289, 2006
- HAAKE D.A. Spirochaetal lipoproteins and pathogenesis. **Microbiology**, 146, 1491-1504. 2000.
- HAAKE D.A., LEVETT P.N. Leptospirosis in Humans. **Current topics in microbiology and immunology.**387:65-97, 2015
- HALSTEAD, S. B. The pathogenesis of dengue. Molecular Epidemiology in Infections Disease. **American Journal of Epidemiology**, v.114, n.5, p.632-48, 1981
- HARRINGTON L.C, EDMAN J.D., W. SCOTT T.W. Why Do Female *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Feed Preferentially and Frequently on Human Blood? **Journal of Medical Entomology**, v 38, p. 411-422, 2001.
- HARRISON, N.A; FITZGERALD, W.R. Leptospirosis--can it be a sexually transmitted disease? **Postgraduate Medical Journal**, v. 64(748), p. 163-164, 1988.
- HARTSKEERL R.A., COLLARES-PEREIRA M., ELLIS W.A. Emergence, control and re-emerging leptospirosis: dynamics of infection in the changing world. **Clin Microbiol Infect.** Apr; 17 (4): 494-501. doi: 10,1111 / j.1469-0691.2011. 03474.x, 2011.
- HEINZ F. X., ALLISON S. L. Structures and mechanisms in flavivirus fusion. **Advances in Virus Research**, v. 55, p. 231-269, 2000.
- HEMUNGKORN M., THISYAKORN U., THISYAKORN C. Dengue infection: a growing global health threat. **Biosci Trends.** p:90-6, 2007.

- HENCHAL, E. A.; PUTNAK, R. The dengue viruses. **Clin. Microbiol. Rev.**, v.3. p. 376-396, 1990
- HENCHAL, E. A., et al. Sensitivity and specificity of a universal primer set for the rapid diagnosis of dengue virus infections by polymerase chain reaction and nucleic acid hybridization. **Am J Trop Med Hyg.**, v. 45(4), p.418-28., 1991
- HERRERO, L.J. Dengue virus therapeutic intervention strategies based on viral, vector and host factors involved in disease pathogenesis. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 137, p. 266–282, 2013.
- HOMMEL, M. Visceral leishmaniasis: biology of the parasite. **J Infect.** v;39(2):101-11, 1999
- HOWE, G. M. A world geography of human diseases. **New York: Academic Press.** p.302-17, 1977
- HUNG, N.T et al., Dengue hemorrhagic fever in infants: a study of clinical and cytokine profiles. **Journal of infectious Diseases**,v 189:221–232, 2004
- HUTCHINSON, W. What is fever? 1907. *The Practitioner*. England, 251, 1693, 24, Apr. 2007. ISSN: 0032-6518
- INADA, R. The Clinical Aspects of Spirochaetosis Icterohaemorrhagica or Weil's Disease. **J Exp Med.**, v. 1;26(3), p. 355-61, 1917.
- KAO, C. L. et al. Laboratory diagnosis of dengue virus infection: current and future perspectives in clinical diagnosis and public health. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, v.38, n.1, 2005.
- KARANDE, S. et al. Concurrent outbreak of leptospirosis and dengue in Mumbai, India, 2002. **J Trop Pediatr** , v;51(3):174-81. Epub 2005.
- KARIV, R. et al. The Changing Epidemiology of Leptospirosis in Israel. **Emerging Infectious Diseases**, v 7(6), p. 990–992, 2001.
- KHAN, E, et al. Demographic and clinical features of dengue fever in Pakistan from 2003-2007: a retrospective cross-sectional study. **PloS One**, v 5: e12505, 2010.
- KITTIGUL, L.The differences of clinical manifestations and laboratory findings in children and adults with dengue virus infection.**J Clin Virol**, 39, pp. 76–81, 2007
- KLIEGMAN, R.M., BEHRMAN, R.E., JENSON, H.B., STANTON, B.F. NELSON. Tratado de pediatria V.1. Rio de Janeiro: Elsevier v 01, p.1437-1439, 2005
- KO A.L. et al. Urban epidemic of severe leptospirosis in Brazil. Salvador Leptospirosis Study Group. **The Lancet**, v.354, p 819-825, 1999.

KO, A.L; GOARANT, C; PICCARDEAU, M. Leptospira: The Dawn of the Molecular Genetics Era for an Emerging Zoonotic Pathogen. **Nature Reviews Microbiology**, v.7, p.736-747, 2009.

KOURI G.et al. Sociedad, economía, inequidades y dengue. **Rev Cubana Med Trop**, vol.59, n.3, 2007.

LAROCQUE R.C., BREIMAN R.F., ARI M.D. et al. Leptospirosis during Dengue Outbreak, Bangladesh. **Emerging Infectious Diseases**. 11(5):766-769, 2005.

LEMOS E.M. et al. Avaliação do teste rápido utilizando o antígeno recombinante K39 no diagnóstico da leishmaniose visceral no Brasil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 36, supl. 2, p. 36-38, 2003.

LEVETT P.N. Leptospirosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v14, p.296-326, 2001.

LIBRATY D.H., MYINT K.S.A., MURRAY C.K. et al. A comparative study of leptospirosis and dengue in Thai children **PloS Neglected Tropical Diseases**. 1(3): e111, 2007.

LIMA E.P. et al. Série histórica da dengue e do aedes aegypti no Ceará. **Revista Brasileira em Promoção da Saúde**, v. 26, p. 349-355, 2013.

LIMA JUNIOR, M.S.C et al . Identificação de espécies de Leishmania isoladas de casos humanos em Mato Grosso do Sul por meio da reação em cadeia da polimerase. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop**, v. 42, n. 3, p. 303-308, 2009

LOMAR, A.V et al. Leptospirose. In: VERONESI, R., FOCACCIA, R. **Tratado de Infectologia**. São Paulo: Atheneu, 2005. P. 987-1003.

LUPI O., CARNEIRO C.G., COELHO I.C.B. Manifestações mucocutâneas da dengue. **Ver. Bras. Dermatol**, v. 82, n. 4, p. 291-305, 2007.

MACIEL I.J., SIQUEIRA-JR J.B., MARTELLI C.M.T, Epidemiologia e Desafios no Controle do Dengue. **Revista de Patologia Tropical**, v. 37, p.11-130, 2008.

MACKENZIE, J.S.; WILLIAMS, D.T. The zoonotic flaviviruses of southern, south-eastern and eastern Asia, and Australasia: the potential for emergent viruses. **Zoonoses And Public Health**, v 56, 6-7, 338-356, 2009. ISSN: 1863-2378.

MAIA, Z. *et al.* Comparative Study of rK39 Leishmania Antigen for Serodiagnosis of Visceral Leishmaniasis: Systematic Review with Meta-Analysis.. **PloS Neglected Tropical Diseases**, v. 6.1 , 2012: e1484.

MALAVIGE GN, RANATUNGA PK, VELATHANTHIRI VGNS, et al. Patterns of disease in Sri Lankan dengue patients. **Archives of Disease in Childhood**., v. 91(5), p 396-400, 2006. Doi:10.1136/adc.2005.085191. 2006.

MAROTTO M S. Resultado da leptospirose em crianças. **Am J Trop Med Hyg.**, n.56, p.307-10, 1997.

MARTINEZ-TORRES M.E. **Dengue hemorrágico em crianças: editorial.** Havana: José Marti, p. 180, 1990.

MARZOCHI, M. et al Leishmaniose visceral no Rio de Janeiro – Brasil. **Cad Saúde Pública**, v. 1 (1), p.5-17, 1998.

MARZOCHI, M.C.A. et al. Visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brazil: eco-epidemiological aspects and control. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, 42, n. 5, p. 570-580, 2009

MCGWIRE B.S., SATOSKAR, A.R. Leishmaniasis: clinical syndromes and treatment. **QJM: An International Journal of Medicine.** 107(1):7-14. Doi:10.1093/qjmed/hct116. 2014 (FIGURA DO CICLO).

MONTALVO, A. M. et al. Diagnóstico de la leishmaniasis: de la observación microscópica del parásito a la detección del ADN. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, v.64,n. 2, 2012.

MONTEIRO, D.C.S. Prevalência de Leishmaniose visceral assintomática em doadores de sangue, em área endêmica para leishmaniose no Ceará. 2013. 106 f. **Dissertação (Mestrado em Patologia)** – Universidade Federal do Ceará. Faculdade de Medicina, Fortaleza, 2013.

MUKHOPADHYAY S., KUHN R.J., ROSSMANN M.G. A structural perspective of the flavivirus life cycle. **Nature Reviews Microbiology**, 3:13–22. 2005.

MURAHOVSKI, Jayme. A criança com febre no consultório. **J. Pediatr. (Rio J.)**, v. 79, supl. 1, p. S55-S64, 2003.

NOGUCHI H. *Spirochaeta icterohaemorrhagiae* in ffcien wild rats and its relation to the ffcien and ffcien strains: FIRST PAPER. **The Journal of Experimental Medicine**, v. 25(5), p.755-763, 1917.

NOGUEIRA, R. M. et al. Dengue Virus Type 3 in Rio de Janeiro, Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 96(7), p. 925-926, 2001

NOZZI, M. et al. Leishmaniasis and autoimmune diseases in pediatric age. **Cell Immunol.**, v. 292(1-2), p.9-13, 2014 doi: 10.1016 /j. cellimm. 2014. 08.004. Epub 2014 Aug 27

NUNES M.R et al. Emergence and Potential for Spread of Chikungunya Virus in Brazil. **BMC Medicine**, v.13, p.102, 2015 doi:10.1186/s12916-015-0348-x.

OLIVEIRA A. G., Seasonal variation of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in endemic area of visceral leishmaniasis, Campo Grande, state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Acta Trop.**, v105(1), p.55-61, 2008.

OLKOWSKI S. et al. Reduced risk of disease during postsecondary dengue virus infections. **J Infect Dis.** 208(6):1026-33, 2013.

OPS/OMS. **Reunión de Expertos sobre Leishmaniasis Visceral ver las Américas**, p 57-62, 2005.

OSANAI C.H. **A epidemia de dengue em Boa Vista, Território Federal de Roraima.** Dissertação (Mestrado em Saúde Pública). Escola Nacional de Saúde Pública, Rio de Janeiro, 1994.

OUMEISH O.Y. Cutaneous leishmaniasis: a historical perspective. **Clin Dermatol.** 17(3): 249-254. 1999.

PACE, D., Leishmaniosis. **J Infect.**, v., 69 Suppl 1:S10-8, 2014 doi : 10.1016 / j.jinf.2014.07.016.

PAL, S. *et al.* Evaluation of Dengue NS1 Antigen Rapid Tests and ELISA Kits Using Clinical Samples. **PloS One.** V 9(11), 2014. E113411

PAPLOSKI, I. A. D. História natural da leptospirose urbana: influência do sexo e da idade no risco de infecção, progressão clínica da doença e óbito. **Dissertação de Mestrado em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa** – Fundação Oswaldo Cruz. Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz, Salvador, 2013.

PAPPAS G.L., PAPADIMITRIOU P., SIOZOPOULOU V. et al. A globalização da leptospirose: no mundo inteiro incidência de tendências. **Int J Infect Dis.** 12 (4): 351-7. Epub 2007 04 de dezembro. 2008.

PASTORINO A.C, et al. Leishmaniose visceral: aspectos clínicos e laboratoriais. **J Pediatr (Rio J)**, v.78, p.120-7, 2002

PELISSARI D.M. et al. Revisão sistemática dos fatores associados à leptospirose no Brasil, 2000- 2009. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 20, n. 4, p. 565- 574, 2011.

PELLING, R.W *et al.* Evaluation of diagnostic tests: dengue. **Nat Rev Microbiol.** V;8(12 Suppl), p. 30-8, 2010

PENNA H.A. Leishmaniose visceral no Brasil. **Bras Med.** 48:949–950, 1934.

PHAM T.B. et al. Predictive factors of dengue shock syndrome at the children Hospital No. 1, Ho-chi-Minh City, Vietnam. **Bull Soc Pathol Exot**, v 100, p. 43-47. 2007.

PICARDEAU M. Diagnosis and epidemiology of leptospirosis. **Med Mal Infect.**, v 43(1):1-9, 2013

PHUONG, C.X, et al. Clinical diagnosis and assessment of severity of confirmed dengue infections in Vietnamese children: is the world health organization classification helpful? **Am J Trop Med Hyg.**, v. 70:172-9, 2004.

PONTES R.J.S., RUFFINO-NETTO, A. Dengue em localidade urbana da região sudeste do Brasil: aspectos epidemiológicos. **Rev. Saúde Pública**, v. 28, n. 3, 1994.

PORTAL DE NOTÍCIAS: **DIÁRIO DO NORDESTE.UOL**. Ceará registra dois casos de dengue por hora em 2016. Disponível em : < <http://diariodonordeste.verdesmares.com.br/cadernos/cidade/online/ceara-registra-dois-casos-de-dengue-por-hora-em-2016> > Acesso em: 25.mar.2016

PORTAL DE NOTÍCIAS: **G1.GLOBO.UOL**. Ceará registra maior número de casos de dengue em 29 anos. Disponível em : < <http://g1.globo.com/ceara/noticia/2015/12/ceara-registra-2-maior-numero-de-casos-de-dengue-em-29-anos.html>> Acesso em: 10.jan.2016

PORTAL DE NOTÍCIAS: **OPOVO.UOL**. NÚMERO DE CASOS DE DENGUE TRIPLICA NO CEARÁ EM 2015. Disponível em : < <https://www20.opovo.com.br/app/fortaleza/2015/12/18/noticiafortaleza,3551436/numero-de-casos-de-dengue-triplica-no-ceara-em-2015>> Acesso em: 10.jan.2016

POTTS, J.A. et al. Prediction of dengue disease severity among pediatric Thai patients using early clinical laboratory indicators. **PloS Negl Trop Dis**, v, 4, p. 76, 2010

QUEENSLAND Health. **Queensland Dengue Management Plan 2010-2015**, 2011. In.

QUEIROZ, M.J.A.; ALVES, J.G.B.; CORREIA, J.B.. Leishmaniose visceral: características clínico-epidemiológicas em crianças de área endêmica. **J. Pediatr. (Rio J.)**, v. 80, n. 2, p. 141-146, 2004

RAMOS E.F. Blood banking and dengue fever. **Ver Bras Hematol Hemoter**; 30:61-69, 2008.

RAMOS J.M., GONZÁLEZ-ALCAIDE G., BOLAÑOS-PIZARRO M. Bibliometric analysis of leishmaniasis research in Medline (1945-2010). **Parasites & Vectors**.6:55. Doi:10.1186/1756-3305-6-55. 2013.

REUNIÓN de Expertos **OPS/OMS sobre Leishmaniasis Visceral ver las Américas**. P 57-62. 2005.

ROCHA H.A.L., Factors associated with non-vaccination against measles in northeastern Brazil: Clues about causes of the 2015 outbreak . **Vaccine**.vol:33 iss:38 pg:4969 -4974, 2015.

SABATINI,C. et al. Clinical presentation of meningococcal disease in childhood. **J Prev Med Hyg**. V;53(2):116-9.2012.

SAMPAIO D., REED S.G., BARRAL A., et al. New perspective on a subclinical form of visceral Leishmaniasis. **J Infect Dis**; 154(6):1003-11. 1986.

- SAMUEL, P.P.; TYAGI, B.K. Diagnostic methods for detection & isolation of dengue viruses from vector mosquitoes. **Indian J. Med Res**, v. 123, p.615-628, 2006.
- SEGURADO A.C., CASSENOTE A.J., LUNA, E.A. Saúde nas metrópoles – Doenças infecciosas. **Estud. Av.**, v. 30, n. 86, p. 29-49, 2016.
- SHAH I, KATIRA B. Clinical and laboratory profile of dengue, leptospirosis and malaria in children: a study from Mumbai. **Archives of Disease in Childhood.**, v. 92(6): 561. 2007. Doi :10 .1136 /adc .2006 .113795. 2007.
- SHAH, I.; DESHPANDE, G.C.; TARDEJA, P.N. Outbreak of dengue in Mumbai and predictive markers for dengue shock syndrome. **J Trop Pediatr.**, v. 50, p. 301-5, 2004.
- SHAKED, Y. et al. Leptospirosis in pregnancy and its effect on the fetus: case report and review. **Clin Infect Dis.**, v.17(2), p. 241-3, 1993.
- SHERLOCK, I.A; MIRANDA, J.C; SADIGURSKY M.; GRIMALDI JÚNIOR G. Natural infection of the opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia, Didelphidae) with *Leishmania donovani*, in Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. V;79(4):511,1984
- SHERLOCK, Ecological interactions of visceral leishmaniasis in the state of Bahia, Brazil **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v;91(6):671-83, 1996
- SILVA F.G. et al. Avaliação de kits comerciais para detecção de antígenos NS1-dengue. **Bepa**;8(91):14-26, 2011.
- SILVA G.B., BARROSOE.J.G., DAHERA E.F. Kidney involvement in leishmaniasis—a review. **Braz J Infect Dis.**; 18(4):434-40. Doi: 10.1016/j.bjid.2013.11.013. Epub 2014.
- SIMMONS, C. Dengue, **The New England Journal of Medicine** vol:366 iss:15 pg:1423 -1432, 2012
- SIQUEIRA-JR J.B. et al. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever, Brazil, 1981–2002. **Emerging Infectious Diseases**, v11, p. 48-53, 2005.
- SMYTHE, L et al. Classification of *Leptospira* genomospecies 1, 3, 4 and 5 as *Leptospira alstonii* sp. Nov., *Leptospira vanthielii* sp. Nov., *Leptospira terpstrae* sp. Nov. and *Leptospira yanagawae* sp. Nov., respectively. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.**, v 63, p. 1859–1862, 2013 DOI 10.1099/ij.s.0.047324-0. 2013.
- SOUZA L.J. et al. Comparison of clinical and laboratory characteristics between children and adults with dengue. **Braz J Infect Dis.**;1 7(1):27–31, 2013.

TANNER, L., et al. Decision tree algorithms predict the diagnosis and outcome of dengue fever in the early phase of illness. **PloS Negl Trop Dis.**, v 2, p. e196, 2008

TANTRACHEEWATHOR T., VITITPATARAPAK N., HUMISANTIPHONG U. Epidemiologic study of nosocomial bacterial infection of pediatric patients at BMA Medical College and Vajira Hospital. **Europe PMC Plus**, v. 90(2), p. 258-265, 2007.

TEIXEIRA M.G., BARRETO M.L., GERRA Z. Epidemiologia e medidas de prevenção do dengue. **Informe Epidemiológico do SUS**, v. 8, n. 4, p. 5-33, 1999.

TORRES, E.M. **Dengue**. 20 ed. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2005.

TRAVI, B.L *et al.* Didelphis marsupialis, an important reservoir of Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi and Leishmania (Leishmania) chagasi in Colombia. **Am J Trop Med Hyg.**, v;50(5):557-65.1994

TULLU, M.S ; KARANDE. S., Leptospirosis in children: a review for family physicians. **Indian J Med Sci.**, v. 63(8), p. 368-78, 2009 doi: 10.4103/0019-5359.55893. 2009.

VAN REGENMORTEL, M.H.V *et al.* **Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses. Seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.** Academic Press, 2000.

VERDEAL J.C.R *et al.* Recomendações para o manejo de formas graves de dengue. **Ver Bras de Terapia Intensiva**, v. 23, p. 125-133, 2011.

VIANA, D. V.; IGNOTTI, E. A ocorrência da dengue e variações meteorológicas no Brasil: revisão sistemática. **Rev. bras. Epidemiol.**, v. 16, n. 2, p. 240-256, 2013

VIJAYACHARI P., SUGUNAN A.P., SHRIRAN A.N. Leptospirosis: an emerging global public health problem. **Journal Bioscience**, v.33, n.4, p.557-569, 2008.

WATTS D.M. *et al.*, Effect of temperature on the vector efficiency of Aedes aegypti for dengue 2 versus. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v 36, p. 143-152, 1987.

WESTAWAY, E. G. *et al.* Ultrastructure of Kunjin Virus-Infected Cells: Colocalization of NS1 and NS3 with Double-Stranded RNA, and of NS2B with NS3, in Virus-Induced Membrane Structures. **Journal of Virology.**, v. 71(9), p. 6650–6661, 1997.

World Gastroenterology Organisation Global Guideline, WGO, 2012

WHITEHEAD S.S., BLANEY J.E., DURBIN A.P., MURPHY B.R. Prospects for a dengue virus vaccine. **Nat Rev Microbiol**, v. 5, n. 7, p. 518-28, 2007.

WHO. **Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control.** New edition. Geneva: WHO, 2009. [www.who.int/denguecontrol](http://www.who.int/denguecontrol). 2009.

WHO. **Leishmaniasis:** Geneva: WHO, 2014.

WICHMANN, O., *et al* Risk factors and clinical features associated with severe dengue infection in adults and children during the 2001 epidemic in Chonburi, Thailand. **Trop Med Int Health**, v.9(9), p.1022-9, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Arthropodborne and Rodent-borne Viral Diseases.** WHO Technical Report Series 719. Geneva: WHO, 1985.

YOUNG, P.R.; HILDITCH, P.A.; BLETCHLY, C.; HALLORAN, W. An Antigen Capture Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Reveals High Levels of the Dengue Virus Protein NS1 in the Sera of Infected Patients. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 38(3),p. 1053–1057. 2000.

ZHANG Y, *et al.* Estruturas de partículas flavivírus imaturos. **A EMBO Journal**, v. 22 (11); p. 2604-2613, doi: 10.1093 / emboj / cdg270. 2003.

ZANLUCA, C *et al.* First Report of Autochthonous Transmission of Zika Virus in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** , v.110.4, p 569–572. 2015: *PMC*. doi: 10.1590/0074-02760150192. PMID: PMC4501423

## APÊNDICE A

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO (TCLE)

(1ª via do pesquisador, 2ª via do paciente)

Você e seu filho (a) estão sendo convidados (as), como voluntários (as), a participar da pesquisa “AVALIAÇÃO CLÍNICA-EPIDEMIOLÓGICA E CARACTERIZAÇÃO ETIOLÓGICA DE PACIENTES COM SÍNDROME FEBRIL AGUDA”. Essa pesquisa tem como objetivo identificar o microorganismo responsável pela doença dele (a). Sabe-se que um grande número dos atendimentos pediátricos é devido à febre, entretanto na sua maioria não é possível a identificação do agente responsável apenas com a realização do exame físico cuidadoso, necessitando de exames complementares, como no caso da coleta de sangue. Acreditamos que a pesquisa ajudará a entender algumas síndromes febris comuns à faixa etária pediátrica.

Caso concorde em deixá-lo (a) participar do estudo, você necessitará assinar este papel e responder a um pequeno questionário em forma de entrevista, de aproximadamente dez minutos, realizado pelo próprio pesquisador ou membro da equipe. Em seguida, o pesquisador irá olhar o prontuário de sua criança para observar a evolução da doença. Será necessário, também, coletar, em duas ocasiões, o sangue de seu filho (a). A primeira coleta ocorrerá no primeiro dia do nosso encontro, e a segunda após cinco dias, contando da data da primeira coleta.

O exame de sangue, realizado por profissionais do próprio hospital, que possuem experiência com o procedimento, dura no máximo 30 segundos e consiste na retirada de cinco ml de amostra de sangue. Geralmente, ocorre um pequeno desconforto na picada da agulha e, em alguns casos, poderá ocorrer a formação de um pequeno hematoma (mancha roxa) no local de onde foi retirado o sangue. Utilizaremos todas as técnicas de segurança para que isso não aconteça. Nesse dia ainda, se possível, será necessária a realização de ecocardiograma transtorácico, exame semelhante ao ultrassom da barriga, contudo no coração, que tem a finalidade de avaliar se o órgão está sofrendo com a doença.

As amostras de sangue serão enviadas para os laboratórios: Infantil Albert Sabin, Centro de Assistência Lúcia de Fátima R. G. Sá, Universidade de Fortaleza (UNIFOR) ou Laboratório Central de Saúde Pública do Ceará (LACEN) para investigações de doenças infecciosas como dengue, sarampo, rubéola, mononucleose, hantavírus leptospirose e calazar. Os resultados dos exames lhe serão comunicados assim que possível. As amostras de sangue serão utilizadas apenas para esta pesquisa.

Dentre as doenças febris pesquisadas, está a investigação para o Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV). Caso você concorde, essa doença também estará inclusa na investigação de seu filho (a).

A identidade do seu filho (a) será preservada e os resultados dos exames estarão à sua disposição em qualquer período da pesquisa. O nome de seu filho ou o material que indique sua participação não será divulgado sem a sua permissão. Os resultados dos exames e do questionário utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 anos e, após esse tempo, serão destruídos. Durante a pesquisa, pode ser necessário que alguns dados do prontuário sejam coletados. Conseqüentemente é necessário que você autorize essa pesquisa no prontuário dele (a).

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo uma arquivada pelo pesquisador responsável e a outra entregue a você.

Antes de assinar, você será esclarecido (a) sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para recusar-se a participar. Não há obrigatoriedade. Se você decidir que seu filho (a) não deve participar, o tratamento e o seguimento nessa unidade não serão prejudicados.

Você e nem seu filho (a) receberão nenhuma forma de pagamento pela participação neste estudo e não terão nenhum gasto decorrente dele, contudo, se, excepcionalmente, houver necessidade de retorno em outro momento para realizar algum procedimento para conclusão deste estudo, o pesquisador se responsabilizará pelos gastos adicionais. Você será ressarcido por todas as despesas que venha a ter com a participação nesta pesquisa, bem como será indenizado por qualquer dano que venha a sofrer com a participação no estudo.

Se, em qualquer momento da pesquisa, você tiver alguma dúvida que ainda não tenha sido esclarecida ou entender que a pesquisa não está sendo realizada da forma como imaginou ou que está sendo prejudicado de alguma forma, favor entrar em contato com a Dra. Sônia Maria Cavalcante da Rocha, pediatra do Hospital Infantil Albert Sabin e do Centro de Assistência Lúcia de Fátima R.G Sá, pelos telefones (85) 3101- 4293/ 3225-2212, ou com as pessoas do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Infantil Albert Sabin pelo telefone (85) 3101-4212. Eles tentarão lhe ajudar.

Rubrica Participante  
Pesquisador

Pesquisa Rubrica

Eu, \_\_\_\_\_, portador do documento de identidade \_\_\_\_\_, responsável legal pelo menor \_\_\_\_\_, portador de documento \_\_\_\_\_, fui informado (a) dos objetivos do estudo “AVALIAÇÃO CLÍNICA-EPIDEMIOLÓGICA E CARACTERIZAÇÃO ETIOLÓGICA DE PACIENTES COM SÍNDROME FEBRIL AGUDA” de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que, a qualquer momento, poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar.

Declaro que concordo com a participação do (a) meu (minha) filho (a) no estudo. Estou ciente de quais são os propósitos de coletar o sangue e dos procedimentos a serem realizados, da garantia de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que a participação do meu filho (a) possui riscos mínimos e é isenta de benefícios diretos de qualquer ordem. Recebi uma via deste termo de assentimento e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas. Reconheço a participação voluntária.

Sobre a coleta de dados no prontuário:

( ) Autorizo coletar no prontuário alguns dados da doença do meu filho (a).

Sobre a coleta de sangue para HIV: ( ) Não autorizo a doação de sangue para o exame acima descrito. ( ) Concordo voluntariamente em doar o sangue do meu filho (a) para o exame descrito acima e autorizo que este serviço entre em contato comigo, caso seja necessário.

Fortaleza, \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_\_\_

Nome do paciente: \_\_\_\_\_

Responsável legal do paciente: \_\_\_\_\_

Assinatura do responsável legal: \_\_\_\_\_

Telefones para contato: \_\_\_\_\_

Testemunha: \_\_\_\_\_

Pesquisador: \_\_\_\_\_

Telefones para contato: \_\_\_\_\_:

**OBSERVAÇÕES:**

1- Em caso de dúvidas com respeito aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar: Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Infantil Albert Sabin – CEP HIAS. Fone: (85) 3101- 4212. Endereço: Rua Tertuliano Sales, 544. Fortaleza-CE. CEP: 60.410-790. E-mail: [centrodeestudos@hias.ce.gov.br](mailto:centrodeestudos@hias.ce.gov.br); de segunda-feira a sexta-feira, das 8h às 12h e de 13h as 17h. Esse comitê é integrado por um grupo de pessoas que trabalham para garantir que seus direitos como participante de pesquisa sejam respeitados. Ele tem a obrigação de avaliar se a pesquisa foi planejada e se está sendo executada de forma ética.

2- Esse TCLE foi elaborado respeitando as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisas Envolvendo Seres Humanos (Resolução CNS 466/12), ora vigentes no Brasil.

3- Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo uma arquivada pelo pesquisador responsável, e a outra entregue a você.

## APÊNDICE B

### TERMO DE ASSENTIMENTO

(13-17 anos)

(1ª via do pesquisador, 2ª via do paciente)

Você está sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa “AVALIAÇÃO CLÍNICA-EPIDEMIOLÓGICA E CARACTERIZAÇÃO ETIOLÓGICA DE PACIENTES COM SÍNDROME FEBRIL AGUDA”. Essa pesquisa tem como objetivo identificar o microorganismo responsável pela sua doença. Sabe-se que um grande número dos atendimentos pediátricos é devido à febre, entretanto na sua maioria não é possível a identificação do agente responsável apenas com a realização do exame físico cuidadoso, necessitando de exames complementares, como no caso da coleta de sangue. Acreditamos que a pesquisa ajudará a entender algumas doenças comuns da sua idade.

Para este estudo, adotaremos um pequeno questionário em forma de entrevista, de aproximadamente dez minutos, realizado pelo próprio pesquisador ou membro da equipe, seguida da coleta de sangue que vai durar no máximo 30 segundos em duas ocasiões. A primeira coleta ocorrerá no primeiro dia do nosso encontro, e a segunda após cinco dias, contando da data da primeira coleta. O exame de sangue consiste na retirada de 5ml de amostra, realizado por profissionais do próprio hospital, que possuem experiência com o procedimento. Haverá um certo incômodo com a picada da agulha, e, em alguns casos poderá ocorrer formação de um pequeno hematoma (mancha roxa) no local de onde foi retirado o sangue. Contudo, utilizaremos todas as técnicas de segurança para que isso não aconteça. Nesse dia ainda, se possível, será necessária a realização de ecocardiograma transtorácico, exame semelhante ao ultrassom abdominal, mas que é realizado no coração, para avaliar se o órgão não está sofrendo com a doença.

As amostras de sangue serão enviadas para os laboratórios: Infantil Albert Sabin, Centro de Assistência Lúcia de Fátima R. G. Sá, Universidade de Fortaleza (UNIFOR) e Laboratório Central de Saúde Pública do Ceará (LACEN), e os resultados dos exames lhe serão comunicados assim que possível. As amostras de sangue serão utilizadas apenas para esta pesquisa.

Para participar deste estudo, o responsável por você deverá autorizar e assinar um termo de consentimento. Você não terá nenhum gasto, nem receberá qualquer vantagem financeira. Você será esclarecido (a) em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se. O responsável por você poderá retirar o consentimento ou interromper a sua participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma como é atendido (a) pelo pesquisador. Ele também irá tratar a sua

identidade com padrões profissionais de sigilo (segredo). Você não será identificado em nenhuma publicação. Este estudo apresenta risco mínimo, isto é, risco semelhante ao de atividades rotineiras como conversar, tomar banho, ler etc. mesmo assim, você tem assegurado o direito a ressarcimento ou indenização no caso de quaisquer danos eventualmente produzidos pela pesquisa.

Os resultados estarão à sua disposição quando o trabalho for finalizado. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a permissão do seu responsável. Os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 anos e, após esse tempo, serão destruídos. Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo uma cópia arquivada pelo pesquisador responsável, e a outra fornecida a você.

Eu, \_\_\_\_\_, portador (a) do documento de identidade \_\_\_\_\_ (se já tiver documento), fui informado (a) dos objetivos do presente estudo de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que, a qualquer momento, poderei solicitar novas informações e o meu responsável poderá modificar a decisão de participar se assim o desejar. Tendo o consentimento do meu responsável já assinado, declaro que concordo em participar deste estudo. Recebi uma cópia deste termo de assentimento e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Fortaleza, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_ .

\_\_\_\_\_  
Assinatura do (a) menor

\_\_\_\_\_  
Assinatura do (a) pesquisador(a)

Em caso de dúvidas com respeito aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar:

CEP- Comitê de Ética em Pesquisa - HIAS

Hospital Infantil Albert Sabin. Fortaleza (CE) - CEP: 60.410-790

Fone: (85) 3101-4200

Pesquisador (a) Responsável: Sônia Maria Cavalcante da Rocha

Endereço: Rua Tertuliano Sales, 544

Vila União – Fortaleza-CE - CEP: 60.410-790

Fone: (85) 3101-4212 / E-mail: [centrodeestudos@hias.ce.gov.br](mailto:centrodeestudos@hias.ce.gov.br).

## APÊNDICE C

### QUESTIONÁRIO

#### Projeto Síndrome Febril

Data da consulta \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_ Número \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

MÉDICO: Dr. (a) \_\_\_\_\_

#### *Ficha de Avaliação Inicial (1<sup>o</sup> ao 5<sup>a</sup> dia de febre)*

Nome: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_ Bairro \_\_\_\_\_ Cidade/Estado: \_\_\_\_\_ Telefone: \_\_\_\_\_

#### Escolaridade:

Não estuda  Ed infantil  Ed Fundamental  Ensino Médio  Curso técnico  Supletivo

#### Critérios de inclusão:

Febre maior de 24 horas e menor de 10 dias Data início da febre: \_\_\_ / \_\_\_

#### Mínimo de 2 dos critérios abaixo :

Cefaleia início: \_\_\_ / \_\_\_  Artralgias início: \_\_\_ / \_\_\_  Mialgias início: \_\_\_ / \_\_\_

Dor retroorbitária início: \_\_\_ / \_\_\_  Exantema início: \_\_\_ / \_\_\_

#### Critérios de exclusão:

Manifestações clínicas superiores a 10dias  Não possuir vínculos clinico-epidemiológico

Possuir comorbidades (cardiopatas prévias, diabetes Mellitus, hemoglobinopatas, outras \_\_\_\_\_)

Não concordou

Emergência \_\_\_\_\_  Observação \_\_\_\_\_  Internado \_\_\_\_\_ Data do Internamento \_\_\_ / \_\_\_

#### Antecedentes:

Vacinado contra Febre amarela:  Não  Sim (Há quantos anos?): \_\_\_\_\_  Não sabe informar

Dengue anteriormente?  Sim  Não Data: \_\_\_ / \_\_\_ / \_\_\_\_\_

Familiares/vizinhos com sintomas semelhantes  Contato com ratos/enxurradas

Viagem últimos 30 dias Local: \_\_\_\_\_ Período: \_\_\_\_\_

Uso de medicamentos (AINE , Anti-agregantes Anticoagulantes, Anti-hipertensivos)

**Prova do laço**  Positiva  Negativa  Não realizada

**PA posição ortostática** \_\_\_ / \_\_\_ mmHg **PA decúbito dorsal** \_\_\_ / \_\_\_ mmmHg

**Sinais de alarme:**  Sim  Não **Sinais de choque:**  Sim  Não

**Complicações:**

Neurológicas  Cardíacas  Pulmonares  Hepáticas  Renais  Hematológicas (  
Plaquetopenia  Hemorragias  Leucopenia)  Outras: \_\_\_\_\_

<i>Manifestações clínicas</i>	<i>Data do surgimento</i>	<i>Data do desaparecimento</i>	<i>Dias totais</i>
<b>Cefaleia</b>			
<b>Dor retroorbitária</b>			
<b>Mialgias</b>			
<b>Artralgias</b>			
<b>Prostração</b>			
<b>Exantema</b>			
Rinorréia			
Odinofagia			
Tosse			
Dispnéia			
Derrame pleural			
Náuseas			
Vômitos			
Diarréia			
Desidratação			
Edema			
Ascite			
Icterícia			
Prurido			
Meningismo			
Precordialgia			
Gingivorragia			
Epistaxe			
Equimoses			
Petéquias			
Hematúria			
Hematêmese			
Melena			
Dor abdominal intensa			
Oligúria			
Hipotensão			
Hemorragia importante			
Sonolência/irritabilidade			
Hepatomegalia dolorosa			
Hipotermia			
PA convergente (Diferencial < 20mmHg)			
Pulso rápido e fino			
Extremidades frias/cianose			
TEC > 2 seg			
<b><i>Exames laboratoriais</i></b>	<b><i>Data da Coleta</i></b>	<b><i>Data da Coleta</i></b>	
Hb (g/dL)			
Ht (%)			
Leucócitos			
Bastões (%)			
Seg (%)			
Linfo (%)			
Plaq (x103)			
TGO / TGP			
Uréia / Creatinina			
Albumina			
CPK			

Troponina				
<b><i>Exames Radiológicos</i></b>	<b><i>Data</i></b>		<b><i>Data</i></b>	
RX de tórax				
US de Abdome				
Ecocardiograma (FE %)				

Informações adicionais:

---



---



---

**Ficha de Avaliação Subsequente (6º ao 15º dia)**

**Controle:**

- Data início da febre: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ (D=\_\_\_\_ )
- Data início da avaliação inicial: \_\_\_\_ / \_\_\_\_
- Data 1ª coleta: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ (Se diferente da data anterior)
- Data 2ª coleta: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ (Se diferente da data de hoje)

**Manifestações clínicas adicionais (Não presentes na avaliação inicial):**

---



---



---



---



---

# ANEXO

## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** AVALIAÇÃO CLÍNICA-EPIDEMIOLÓGICA E CARACTERIZAÇÃO ETIOLÓGICA DE PACIENTES COM SÍNDROME FEBRIL AGUDA

**Pesquisador:** SONIA MARIA CAVALCANTE DA ROCHA

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 45741415.1.0000.5042

**Instituição Proponente:**

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.186.699

**Data da Relatoria:** 15/07/2015

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Projeto Aprovado após relatora apresentar correções das pendências pontuadas no parecer datado de 17/06/15.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

FORTALEZA,  
15.08.2015

---

Assinado por:

**Regina Lúcia Ribeiro Moreno (Coordenador)**