

Epidemiologia da infecção pela dengue em Ribeirão Preto, SP, Brasil

Epidemiology of dengue infection in Ribeirão Preto, SP, Brazil

Eugênia Maria Silveira Rodrigues^a, Amaury Lélis Dal-Fabbro^b, Rogério Salomão^b, Ivani Bisordi Ferreira^c, Iray Maria Rocco^c e Benedito Antonio Lopes da Fonseca^d

^aSecretaria Municipal de Saúde de Ribeirão Preto. Ribeirão Preto, SP, Brasil. ^bDepartamento de Medicina Social da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, SP, Brasil. ^cSeção de Vírus Transmitidos por Artrópodes do Instituto Adolpho Lutz. São Paulo, SP, Brasil.

^dDepartamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, SP, Brasil

Descritores

Dengue, transmissão. Surto de doenças. Estudos soropidemiológicos. *Aedes*. Insetos vetores. Dengue, epidemiologia. *Aedes aegypti*.

Resumo

Objetivo

Avaliar a transmissão de dengue em uma instituição correcional de adolescentes localizada em Ribeirão Preto, SP, Brasil.

Métodos

Foi realizado um inquérito sorológico e virológico da população de internos e funcionários de uma instituição correcional de adolescentes infratores localizada em Ribeirão Preto, SP, Brasil. A população de estudo consistiu em 105 menores e 91 funcionários que representavam 89% do total de pessoas expostas. O sangue coletado da população estudada foi armazenado e processado para avaliação pelas técnicas de MAC-Elisa e de isolamento viral. Cada participante respondeu a um questionário aplicado na ocasião da coleta de sangue.

Resultados

Do total de amostras de sangue coletadas (n=196), 42 (21,4%) foram positivas para anticorpos da classe IgM, e 43 (21,9%), para anticorpo IgG; destes, 15 com IgM e IgG positivas e 28 (14,3%) com apenas IgG positiva. Em cinco amostras, foram isolados vírus da dengue, sorotipo 1. Dos 42 casos com IgM positiva, 14 (33,4%) não relataram sintomas característico de dengue. A incidência entre os internos foi de 23,8% e, entre funcionários, de 18,6%. Os primeiros casos foram notificados em fevereiro de 1997, e os últimos, em março do mesmo ano, embora os resultados mostrem a possibilidade de a transmissão ter se iniciado bem antes de ser detectada.

Conclusões

A alta incidência observada pode ser explicada pela grande densidade populacional na instituição, alta infestação do vetor *Aedes aegypti*, alta taxa de assintomáticos e transmissão favorecida pelo fato de a comunidade ser fechada.

Keywords

Dengue, transmission. Disease outbreaks. Seroepidemiologic studies. *Aedes*. Insect vectors. Dengue, epidemiology. *Aedes aegypti*.

Abstract

Objective

To assess dengue transmission in a correctional facility for juvenile delinquents in Ribeirão Preto, state of São Paulo, Brazil.

Methods

A serological and virology investigation was carried out among inmates and employees of a correctional facility for juvenile delinquents in Ribeirão Preto, Brazil. The study

Correspondência para/Correspondence to:

Eugênia Maria Silveira Rodrigues
Projeto Promoção da Saúde
Avenida W3 Norte, SEPN 511, Bloco C
Edifício Bittar IV – 4º andar
70750 543 Brasília, DF, Brasil
E-mail: eugenia.rodrigues@saude.gov.br

Edição subvencionada pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp – Processo nº 01/01661-3) Recebido em 20/2/2001. Reapresentado em 21/11/2001. Aprovado em 20/12/2001.

population consisted of 105 inmates and 91 employees representing 89% of the exposed. The collected blood was stored and processed using MAC-ELISA and virus isolation. A questionnaire was applied to each subject at the time of blood collection.

Results

Of the total of blood samples collected (n=196), 42 (21.4%) were positive for IgM antibodies and 43 (21.9%) for IgG antibodies; of which, 15 were both IgM and IgG positive and 28 (14.3%) were IgG positive only. Serotype 1 dengue virus was isolated in 5 samples. Out of 42 IgM positive samples, 14 (33.0%) subjects did not have any physical complaints. The incidence rate was 23.8% and 18.6% among inmates and employees, respectively. The first cases in the facility were reported in 1997 and the last ones in March 1997 though results are suggestive of an earlier onset of transmission.

Conclusions

The high incidence rate of dengue infection can be explained by the high population density of the facility, high Aedes aegypti infestation, high numbers of asymptomatic subjects, and a higher transmission of disease in a closed setting.

INTRODUÇÃO

Dengue é uma das doenças virais mais importantes, principalmente para países localizados nos trópicos, incluindo o Brasil, onde, desde 1986, a transmissão ocorre na maioria dos estados brasileiros.^{1,6}

A cidade de Ribeirão Preto, localizada na região Nordeste do Estado de São Paulo, Brasil, sofreu, de novembro de 1990 a março de 1991, uma epidemia de dengue 1 com aproximadamente 2.305 casos confirmados, o que representou uma incidência de 546,9 casos por 100.000 habitantes.¹¹ Desde então, a incidência tem se mantido em índices baixos. De 1992 a 1994, essa incidência variou em torno de um caso por 100.000 habitantes, mas desde 1995 aumentou para cerca de 50 casos por 100.000 habitantes.¹⁰ Em 1997, a incidência apresentou tendência de diminuição e, nos primeiros seis meses do ano, esteve em torno de 25 casos por 100.000 habitantes.⁶

Entre as áreas onde a transmissão de dengue ocorreu em 1997, está localizada, na região periférica da cidade, uma instituição estatal de correção de adolescentes infratores. Estes ficam em regime de confinamento temporário. Os menores permanecem na instituição por períodos de tempo variáveis e procedem de várias regiões do Estado de São Paulo.

O estudo teve como principal objetivo analisar a ocorrência de um surto de dengue que se iniciou entre internos e funcionários dessa instituição. Os primeiros casos foram notificados em fevereiro de 1997, e os últimos, em março do mesmo ano. Ainda que limitado no tempo, o surto chamou a atenção pelo fato de o número inicial de casos notificados ter sido alto para os padrões da cidade. Decidiu-se então pro-

ceder a um inquérito sorológico e virológico acompanhado de coleta de informações epidemiológicas e clínicas, objetivando-se verificar a real dimensão da transmissão ocorrida na instituição.

MÉTODOS

A mencionada instituição pública correcional de adolescentes infratores ocupa uma área de aproximadamente 312.000 metros quadrados. A área construída totaliza 9.000 metros quadrados, constituída basicamente de dois prédios, um dos quais abriga as instalações (acomodações dos internos), e o outro, a administração da instituição. O local é cercado por uma ampla área verde, com vegetação baixa e pequenos riachos.

População de estudo

A população estudada foi constituída dos internos da instituição na época do estudo, totalizando 105 adolescentes do sexo masculino entre 14 anos e 18 anos, e de 91 funcionários de ambos os sexos, na maioria adultos com idade superior a 20 anos, totalizando 196 indivíduos. A participação foi voluntária, e cada indivíduo assinou um termo de anuência após explicação da finalidade do estudo. Alguns internos não quiseram participar, e alguns funcionários não se encontravam no local na época do estudo. Nenhum esforço adicional foi feito no sentido de diminuir as recusas. Assim, a população de estudo foi de 89% das pessoas expostas ao risco de contrair dengue na instituição.

O trabalho foi aprovado na Comissão de Ética do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, baseado no Estatuto da Criança e do Adolescente.

Amostras

Foram coletados 10 ml de sangue de cada participante do estudo, e o sangue foi processado para separação do soro. Este foi armazenado a -70°C e testado para avaliação da presença de anticorpos IgM e IgG para dengue pelas técnicas de MAC-Elisa. Os soros também foram submetidos a tentativas de isolamento viral.

MAC-Elisa

Essa técnica foi realizada de acordo com a descrição feita por Kuno et al.⁸ Microplacas de poliestireno (Corning, EUA) foram sensibilizadas com anticorpos anti-IgM humano. As placas foram incubadas por uma noite e depois lavadas e bloqueadas com albumina bovina a 4% em solução tampão fosfato (PBS) pH 7.4. Os soros foram diluídos a 1/40 em PBS contendo 0,5% de albumina bovina, e, em cada placa, foram testados 43 amostras pareadas e dois controles positivos e negativos. Após incubação dos soros, a placa foi lavada, e os antígenos adicionados aos orifícios e incubados por uma noite. Os antígenos foram preparados em cérebro de camundongos recém-nascidos infectados com sorotipos Hawaii (tipo 1) e TR-1751 (tipo 2) e extraídos pelo uso de sacarose e acetona.³ Foi estudado como antígeno um *pool* de vírus tipos 1 e 2 contendo 16 unidades hemaglutinantes de cada vírus. O conjugado usado na etapa seguinte foi um monoclonal para flavivírus marcado com peroxidase previamente titulada. Após incubação e lavagem, foi adicionado o substrato ABTS (azinodiethylbenzthiazoline-sulfonate), que evidenciou os soros positivos pelo desenvolvimento de uma cor verde resultante da ação da peroxidase no substrato. Essa coloração pode ser analisada pela leitura dessas microplacas por espectrofotômetro e a um comprimento de onda de 414 nm. Todo soro com leitura de densidade óptica maior ou igual a 0,200 foi considerado positivo, entre 0,100 e 0,200, limítrofe, e menores a 0,100, negativo.

Isolamento viral

Tubos de cultura de células foram semeados com células C6/36 (células de linhagem contínua provenientes de *Aedes albopictus*) e crescidas a 28°C em meio L15 modificado. Após incubação por dez dias, uma reação de imunofluorescência indireta foi feita para determinar quais soros foram positivos para vírus.

Imunofluorescência indireta

Tubos de células C6/36 inoculados com as amos-

tras foram administrados sobre lâmina própria para imunofluorescência e adicionados com um “pool” de fluido ascítico de camundongos imunizados contra os vírus do dengue tipo 1 e 2, com um conjugado contra anticorpo IgG de camundongo ligado à fluoresceína e com o substrato de enzima peroxidase. A partir disso, as lâminas foram analisadas para determinar a presença ou não de fluorescência característica.

Técnica de IgG

Esse teste sorológico foi modificado da técnica de MAC-Elisa descrita por Kuno et al,⁸ e toda reação realizada em microplacas de poliestireno. Em resumo, as placas foram sensibilizadas com um anticorpo monoclonal contra a proteína E dos flavivírus (4G2) e incubadas *overnight* (ON) 4°C . Após incubação, as placas foram lavadas em solução de tampão fosfato, pH 7.4 e Tween 0,05% (PBS-Tween) e bloqueadas com albumina bovina a 4%. Após nova lavagem em PBS-Tween, foi adicionado às placas o *pool* de antígenos preparados em cérebro de camundongos recém-nascidos infectados com os sorotipos Hawaii (tipo 1) e TR-1751 (tipo 2) e extraídos pelo uso de sacarose e acetona.² Foi usado como antígeno um *pool* de vírus tipo 1 e 2, contendo 16 unidades hemaglutinantes de cada vírus. Após serem incubadas, as placas foram lavadas em PBS-Tween, adicionou-se o soro dos pacientes, diluído 1/40 em PBS contendo 0,5% de albumina bovina, e as placas foram incubadas a 37°C por uma hora. A seguir, as placas foram novamente lavadas, adicionou-se o conjugado anti-IgG humana marcado com peroxidase, e incubaram-se as placas por uma hora a 37°C . Após nova lavagem das placas, foi adicionado o substrato ABTS e incubado à temperatura ambiente até o desenvolvimento de cor. A coloração foi analisada pela leitura dessas microplacas em um espectrofotômetro a um comprimento de onda de 414 nm, e foram considerados positivos os soros cujas densidades ópticas foram maiores que a média das dos soros negativos acrescidos de dois desvios-padrão.

Questionário

Cada participante respondeu a um questionário aplicado no momento da coleta de sangue e que consistiu de questões referentes a: idade, sexo, procedência por município, endereço, data de início dos sintomas, presença dos principais sintomas de dengue (febre, cefaléia, dor retrocular, exantema, artralgia, mialgia, prostração, náuseas, vômitos, diarréia e manifestações hemorrágicas como epistaxe, gengivorragia ou outro tipo de sangramento).

RESULTADOS

Foram coletadas amostras de soro de 105 internos e de 91 funcionários correspondendo a 89% do total de pessoas expostas ao risco de contrair dengue entre fevereiro e março de 1997 na instituição. Foram positivos para anticorpos IgM para dengue 17 funcionários e 25 internos. Todos os internos eram do sexo masculino. Entre os funcionários, havia 24 do sexo feminino e 67 do masculino, não se observando diferença estatisticamente significativa na incidência em relação ao sexo ($p > 0,05$). Nenhum dos internos cujo resultado do exame foi positivo relatou ter viajado para outro município no período de estudo. A maioria dos funcionários morava em Ribeirão Preto, e nove moravam em cidades vizinhas com baixa incidência de dengue à época do estudo. Não se observou diferença estatisticamente significativa na incidência em relação ao deslocamento ($p > 0,05$).

Do total de amostras de sangue coletadas ($n=196$), 42 (21,4%) foram positivas para anticorpos da classe IgM; 43 (21,9%) positivas para anticorpo IgG ($n=179$); destes 15 com IgM e IgG positivas e 28 (14,3%) com apenas IgG positiva (Tabela 1).

Tabela 1 - Resultados de sorologia para dengue (IgM e IgG) em área de alta densidade populacional. Ribeirão Preto, 1997.

Sorologia	IgM				Total	
	Positivo N	%	Negativo N	%	N	%
IgG positivo	15	34,9	28	65,1	43	100,0
IgG negativo	10	7,4	126	92,6	136	100,0
IgG ignorada	17	-	0	-	17	100,0
Total	42	21,4	154	78,6	196	100,0

$\chi^2 = 20,61$ ($p=0,0000056$).

Dos pacientes com sorologia positiva para IgM, 28 (76,6%) eram sintomáticos, e 14 (33,4%) assintomáticos. Entre os primeiros, observou-se que a coleta de sangue foi realizada entre o terceiro e o 33º dia após o início dos sintomas.

Entre os 15 (34,9%) investigados com IgM e IgG positivas, 11 referiram sintomas. Dos 28 pacientes que apresentaram resultado positivo de IgG e resultado negativo de IgM, nove (32,1%) referiram sintomas num período compreendido entre três meses e alguns dias antes da coleta de sangue. Quando inquiridos, apenas um interno referiu dengue anterior em dezembro de 1996. Em cinco amostras, foram isolados vírus da dengue sorotipo 1.

Sintomas

Verificou-se associação entre os resultados positivos para IgM e a presença de sintomas ($p < 0,001$). O

mesmo não foi observado entre os pacientes com sorologia positiva para IgG ($p > 0,05$). Quando os sintomas dos indivíduos positivos para IgM foram analisados, dor retroorbital, febre, cefaléia, mialgia, artralgia apareceram com mais freqüência (Tabela 2).

Tabela 2 - Sintomas segundo resultado de sorologia para dengue (IgM-MAC-Elisa) em população localizada em área de alta densidade populacional. Ribeirão Preto, 1997.

Sintomas	IgM positiva(%)	IgM negativa(%)	OR	IC 95%
Dor retroorbital	80,0	12,5	17,5	4,39 a 75,88
Febre	64,2	70,0	0,77	0,24 a 2,43
Cefaléia	53,5	77,5	0,33	0,10 a 1,08
Mialgia	42,8	45,0	0,92	0,31 a 2,71
Artralgia	42,8	20,0	3,00	0,90 a 10,17
Náuseas	17,8	10,5	1,96	0,40 a 9,93
Exantema	10,7	7,5	1,48	0,21 a 10,24

OR = odds ratio.

Incidência por pessoa – mês

Na instituição estudada, havia um fluxo constante de internos, alguns mudando para outras unidades, outros voltando para casa, e alguns vindos de fora para iniciar seu confinamento. Dessa forma, a exposição ao risco de adoecer foi diferente para cada um dos participantes do estudo. Diante disso, decidiu-se calcular o número de dias que cada interno e funcionário estiveram na unidade entre o início de fevereiro e o dia 5 de abril. O período de exposição fixado correspondeu a uma faixa de 15 dias antes da data de aparecimento dos sintomas do primeiro caso diagnosticado na instituição até 15 dias após o início de sintomas do último caso. Foram considerados apenas os resultados de IgM para esse cálculo. Os resultados encontram-se na Tabela 3. Note-se que os coeficientes de incidência por pessoas-mês entre os internos variaram de 17,8% a 37,6%, enquanto, entre os funcionários, variaram de 2,4% a 17,9%. Note-se também que, entre os internos, a incidência foi maior em fevereiro, e, entre os funcionários, em março (Figura). O coeficiente de incidência por pessoa/mês calculado foi maior do que o coeficiente bruto (44,8% vs. 23,8%) nos dois grupos (20,4% vs. 18,7%), embora a diferença entre os funcionários tenha sido menor.

Tabela 3 - Incidência de dengue em população de uma área de alta densidade populacional segundo categoria de pessoas e mês. Ribeirão Preto, 1997.

Categoria	Fevereiro	Março	Abril	Total
Internos				
Pessoas/mês	31,9	73,0	13,6	55,8
Positivos dengue	12	13	-	25
Incidência %	37,6	17,8	-	44,8
Funcionários				
Pessoas/mês	82,3	83,5	14,1	83,1
Positivos dengue	2	15	-	17
Incidência %	2,4	17,9	-	20,4

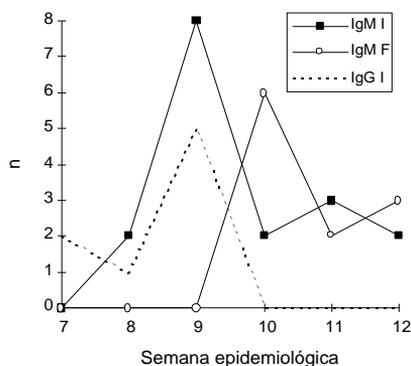


Figura - Resultados de sorologia para dengue (IgM e IgG) em internos e funcionários segundo semana epidemiológica. Ribeirão Preto, 1997.

DISCUSSÃO

O coeficiente de incidência bruto observado entre internos e funcionários foi de 21,4% (42/196), valor considerado alto. Inquérito sorológico realizado no município de Ribeirão Preto em 1992 resultou numa soroprevalência para dengue 1 de 5,4% segundo resultados obtidos por Figueiredo et al.⁷ Todavia, esse resultado representou a média do município, sendo que nos bairros mais acometidos pela epidemia de 1990 a 1991, a soroprevalência chegou a 22,0%. A incidência por pessoa-mês observada no presente estudo foi superior ao coeficiente bruto, especialmente entre os internos. O coeficiente de incidência por pessoas-mês observado na instituição como um todo (internos e funcionários) foi de 30,2%.

Logo após a implementação das medidas de controle do vetor, nas semanas epidemiológicas oito e nove, houve diminuição do número de casos, o que pode ser observado na Figura. As amostras IgG positivas indicam que as pessoas contraíram a doença em algum outro momento e não necessariamente no período estudado.

É possível supor que a transmissão tenha se iniciado de maneira silenciosa, algum tempo antes da notificação dos primeiros casos, uma vez que nove pacientes com resultado positivo de IgG e negativo de IgM referem sintomas num período compreendido entre três meses e alguns dias antes da coleta de sangue.

Chamou a atenção o fato de 33,4% dos casos não terem relatado sintomas. Chen et al.² encontraram percentual de indivíduos assintomáticos que variou de

0,74% a 9,36% num inquérito sorológico para dengue 1 realizado em Taiwan, em 1991, onde se destaca a importância da transmissão silenciosa do vírus da dengue na região.

Em relação aos sintomas apresentados, verificamos que febre e dor retroorbital foram os mais frequentes, seguidos por artralgia e mialgia. Entre os pacientes sintomáticos com dengue comprovada, foram mais frequentes dor retroorbital, febre e cefaléia. Cobra et al.⁴ verificaram, em Porto Rico, que os sintomas mais frequentemente encontrados foram febre, calafrios, cefaléia, dor nos olhos, dores no corpo, dores nas articulações, náusea, vômitos e exantema. Dietz et al.⁵ utilizaram definição clínica de dengue constituída por febre com dois ou mais dos seguintes sintomas: cefaléia, mialgia, artralgia, exantema ou manifestações hemorrágicas. Verificaram que houve sensibilidade de 64% e especificidade de 89%, valor preditivo positivo de 43% e valor preditivo negativo de 95% em pacientes residentes no Rio de Janeiro, Brasil. Esse resultado é semelhante ao encontrado no presente trabalho: 66%, 74%, 41% e 89%, respectivamente. Lima et al.⁹ em estudo realizado no interior de São Paulo, encontraram valor preditivo positivo de 15,6% e valor preditivo negativo de 97,5%. Esses autores concluem que, quando não se preenche o critério clínico de dengue, a probabilidade de ter a doença é muito baixa. No entanto, quando se preenche esse critério, a probabilidade da doença também é baixa. Isto vem reforçar a importância da investigação laboratorial para diagnóstico da doença.

O estudo de surto de dengue numa instituição fechada como a descrita revela o potencial de transmissibilidade do vírus da dengue quando uma determinada população é exposta aos vetores *Aedes aegypti* em uma situação de grande densidade populacional.

AGRADECIMENTOS

À estagiária Andréia Regina Gomes do laboratório de Virologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP, pelos trabalhos técnicos no laboratório; à equipe de Enfermagem de Saúde Pública do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto; e a Jocelane Gonçalves da Secretaria Municipal de Saúde de Ribeirão Preto, pela colaboração na coleta de sangue.

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. *Manual de vigilância epidemiológica da dengue*. Brasília; 1996.
2. Chen WJ, Chen SL, Chien LJ, Chen CC, King CC, Harn MR et al. Silent transmission of the dengue virus in southern Taiwan. *Am J Trop Med Hyg* 1996;55:12-6.

3. Clarke DH, Casals J. Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod-borne viruses. *Am J Trop Med Hyg* 1958;7:561-73.
4. Cobra C, Rigau-Perez JG, Kuno G, Vorndam V. Symptoms of dengue fever in relation to host immunologic response and virus serotype, Puerto Rico, 1990-1991. *Am J Epidemiol* 1995;142:1204-11.
5. Dietz VJ, Gubler DJ, Rigau-Perez JG, Pinheiro F, Schatzmayr HG, Bailey R et al. Epidemic dengue 1 in Brazil, 1986: evaluation of a clinically based dengue surveillance system. *Am J Epidemiol* 1990;131:696-701.
6. Ferreira, JBB. *Dengue no município de Ribeirão Preto, São Paulo, 1998* [Dissertação de Mestrado]. Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina da USP; 1998.
7. Figueiredo LTM, Owa MA, Carlucci RH, Dal-Fabbro AL, Mello NV, Capuano DM et al. Dengue serologic survey in Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil. *Bull Pan Am Health Organ* 1995;29:59-69.
8. Kuno G, Gomez I, Gubler DJ. Detecting artificial anti-dengue IgM Immune complexes using an enzyme-linked immunosorbent assay. *Am J Trop Med Hyg* 1987;36:153-9.
9. Lima VLC, Figueiredo LTM, Correa HR, Leite OF, Rangel O, Vido AA et al. Dengue: inquérito sorológico pós-epidêmico em zona urbana do Estado de São Paulo (Brasil). *Rev Saúde Pública* 1999;33:566-74.
10. Passos ADC, Rodrigues EMS, Dal-Fabbro AL. Dengue control in Ribeirão Preto, São Paulo, Brazil. *Cad Saúde Pública* 1998;14(Supl 2):123-8.
11. Pontes RSJ. Estudo da epidemia de dengue no município de Ribeirão Preto-SP, 1990-1991 [Tese de Doutorado]. Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da USP; 1992.