

## **FEBRE HEMORRÁGICA DA DENGUE: ASPECTOS CLÍNICOS, EPIDEMIOLÓGICOS E LABORATORIAIS DE UMA ARBOVIROSE**

DENGUE HEMORRHAGIC FEVER: CLINICAL, EPIDEMIOLOGICAL AND LABORATORY ASPECTS OF AN ARBOVIRUSES

---

Denise Cristina Masera<sup>1</sup>  
Guilherme Corrêa Schenkel<sup>1</sup>  
Luana Letícia da Silva<sup>1</sup>  
Melina Rech Spanhol<sup>1</sup>  
Rafael Fracasso<sup>1</sup>  
Rafaela Milan Bonotto<sup>1</sup>  
Gustavo Müller Lara<sup>2</sup>

### **RESUMO**

A dengue, principalmente a febre hemorrágica da dengue (FHD), é uma doença infecto-contagiosa de extrema importância, podendo ser causada por quatro sorotipos virais diferentes. A prevalência dessa doença em países tropicais é bastante alta e, por isso, vem trazendo preocupação pela frequência com que tem causado epidemias, levando milhares de pessoas a quadros sintomatológicos que variam de leve a grave. O objetivo deste artigo é realizar uma revisão bibliográfica sobre a dengue e seus principais aspectos clínicos, epidemiológicos e laboratoriais, com enfoque na febre hemorrágica da dengue.

**Palavras-chave:** Dengue. Febre Hemorrágica da Dengue. Epidemiologia. Sintomas. Diagnóstico Laboratorial.

---

<sup>1</sup> Acadêmicos do curso de Biomedicina da Universidade Feevale.

<sup>2</sup> Professor Titular do curso de Biomedicina da Universidade Feevale.

Contato: denisemasera@gmail.com

## ABSTRACT

Dengue, specially the dengue haemorrhagic fever (DHF), is a very concerning infection caused by four different serotypes of virus. The prevalence of this disease in tropical countries is very high and, because of that, there is a concern related to the frequency of dengue's epidemic, which brings thousands of people to symptomatology that varies of light to severe, every year around the world. The aim of this article is to realize a bibliographic review about dengue and its mains clinical aspects, beyond epidemiological and laboratorial aspects, with focus on dengue haemorrhagic fever.

**Keywords:** Dengue. Dengue hemorrhagic fever. Epidemiology. Symptoms. Laboratory diagnosis.

## INTRODUÇÃO

A dengue é uma doença febril aguda causada por um arbovírus, pertencente à família *Flaviviridae* (gênero *Flavivirus*), o qual possui um nucleocapsídeo icosaédrico envolvendo o seu RNA viral (HAMMON *et al*, 1960). Existem quatro sorotipos distintos de vírus causadores da dengue: DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4. A doença pode se manifestar tanto de forma branda, conhecida como dengue clássica, ou de forma mais severa, conhecida como dengue hemorrágica, caracterizada por febre, trombocitopenia, manifestações hemorrágicas, permeabilidade capilar excessiva e derrame plasmático, podendo evoluir para síndrome do choque e até mesmo morte (HALSTEAD, 1988). No Brasil, a dengue é uma doença de notificação compulsória, já que, a partir da suspeita, pode-se realizar uma investigação do provável local da infecção e, se necessário, adotar medidas preventivas, principalmente, com relação ao vetor (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002).

Estima-se que ocorram, por ano, cerca de 50 milhões de infecções, com 500.000 casos de febre hemorrágica da dengue (FHD) e 21.000 óbitos, principalmente, em crianças. No Brasil, desde 1986, vêm ocorrendo epidemias de dengue nos principais centros urbanos do país, com aproximadamente três milhões de casos. De 1990 a 2006, foram registrados 6.272 casos de FHD, principalmente em adultos, além da ocorrência de 386 óbitos. Considerando uma população suscetível a um sorotipo viral, no momento em que esse é introduzido em tal localidade, há a

possibilidade de ocorrer uma epidemia. Quando há repasto de sangue infectado, o mosquito se torna apto a transmitir o vírus, após oito a 12 dias de incubação, a indivíduos saudáveis (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007).

Essa infecção tem alta prevalência e é considerada um problema de saúde pública em países tropicais e subtropicais, sendo que, aproximadamente, três bilhões de pessoas no mundo estão sob risco de contraí-la, considerando a possibilidade de que as condições do meio ambiente desses locais tornem favoráveis o desenvolvimento e a proliferação do *Aedes aegypti*, principal mosquito vetor (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999). Considerando a prevalência e o alto risco de novas epidemias, o estudo e o aprofundamento científico a respeito dessa temática se mostram de extrema importância.

## **METODOLOGIA**

Este é um artigo de revisão cujo objetivo é reunir informações sobre a dengue, com enfoque na febre hemorrágica da dengue, além de descrever dados históricos, sintomas, transmissão, sorotipos encontrados, grupos de risco, diagnóstico laboratorial e prevalência dessa doença. Os dados foram obtidos por pesquisa bibliográfica e pela leitura de artigos científicos disponíveis em ambiente virtual em *sites* como “PUBMED”, “ScienceDirect”, “SciELO”, obtendo como critério de seleção desses o ano de sua publicação e o seu conteúdo, utilizando as seguintes palavras-chave para a pesquisa: “dengue”, “sorotipos”, “dengue hemorrágica”, “sintomas”, “transmissão”, “diagnóstico laboratorial”, “prevalência”, “epidemiologia” e a associação dessas.

## **DENGUE E FEBRE HEMORRÁGICA DA DENGUE**

### **ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS**

A dengue é uma doença antiga, já tendo registros há muitos anos de casos, por isso a importância de conhecer a sua trajetória e introdução no Brasil, com seus padrões

epidemiológicos, assim como os fatores que favorecem o aparecimento de complicação da doença, como a FHD.

Nas últimas duas décadas, o Brasil tem sido responsável por mais de 60% do total de casos registrados de febre hemorrágica da dengue na América (ROMANO *et al*, 2010).

Foi na segunda Guerra Mundial que aconteceu uma mudança ecológica e demográfica que facilitou a transmissão e a propagação de dengue na região Ásia-Pacífico, em consequência da alta mobilidade de civilizações e soldados, com isso, houve um aumento do número de indivíduos suscetíveis em áreas epidêmicas. O transporte de cargas, a expansão econômica e a contínua urbanização facilitaram a movimentação, a reprodução de vetores e a propagação da virose (GUZMAN *et al*, 2010). Os primeiros casos relatados de dengue hemorrágica aconteceram nesse período na Ásia, entre os anos 1980 a 1990, quando houve uma alta propagação pelo mundo, levando casos de dengue para Índia, Paquistão, Sirilanka, Ilhas Maldivas e China (GUZMAN *et al*, 2003) (Tabela 1). Durante 40 anos de casos de dengue no Pacífico Ocidental e no sul do Leste Asiático, foi observado que a FHD teve maior aparecimento em áreas onde múltiplos sorotipos são endêmicos, como em lugares com epidemias esporádicas ou com pequenos surtos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999).

A primeira epidemia de dengue no Brasil, com o isolamento viral, aconteceu em 1981, na cidade de Boa Vista, no estado de Roraima. Em 1985, o DENV-1 foi introduzido no Rio de Janeiro, sendo que, em alguns anos seguintes, algumas capitais do nordeste foram também infectadas e a incidência encontrada foi de 64.4 por 100 mil habitantes. O número total de casos relatados em dois anos chegou a 134.721 (TEIXEIRA *et al*, 2009). Durante esse período, no Ceará (norte do Brasil), também houve uma importante epidemia, com 26.938 casos confirmados de DENV-1 (CAVALCANTI, 2010).

A introdução de DENV-2 aconteceu primeiramente no Rio de Janeiro, pela epidemia de 1990, que afetou outros estados do sudeste com um consequente aumento das taxas de incidência (143.2 em 1991) (TEIXEIRA *et al*, 2005). Com isso, houve um aumento nos casos de febre por dengue e surgiu o primeiro caso de FHD (TEIXEIRA *et al*, 2009). No Ceará, também houve a introdução do DENV-2 e, em 1994, apareceram 25 casos confirmados de FHD (CAVALCANTI, 2010).

Conforme Teixeira *et al* (2005), o ano de 1998 testemunhou uma dengue pandêmica, caracterizada por um aumento exponencial do número de casos registrados desde 1994, atingindo

um pico durante esse ano. Em todo o país, a incidência aumentou a partir de 1990 (326.6 por 100.000 habitantes ou maior que 500.000 casos registrados). A maior expansão territorial da circulação viral foi caracterizada nesse período. Casos registrados vieram de 55 municípios em 1994 e de 638 no ano seguinte, atingindo 2.675 municípios em 1998. Nesse mesmo ano, foram registrados uma alta incidência (564.1) e um grande número de casos reportados (258.441) no nordeste.

Até 2000, o Brasil tinha relatado poucos casos de FHD, entretanto, com a introdução de DENV-3, houve um crescente aumento de casos no País, com um dramático aumento de febre da dengue (446.2 casos por 100.000 habitantes) e FHD (2, 702), representando 0,34% dos casos relatados de dengue (794.219) (TEIXEIRA *et al*, 2009).

O primeiro isolamento de DENV-3 ocorreu no Rio de Janeiro, produzindo novamente uma larga escala epidemiológica, expandindo rapidamente e afetando pequenas cidades que até então estavam livre de dengue. Apenas dois anos e meio após o primeiro caso detectado, DENV-3 tinha sido isolado em 22 dos 27 estados do Brasil, em 2.900 municípios (TEIXEIRA *et al*, 2005). Na Bahia, em 2002, a epidemia foi a mais severa já relatada. Os primeiros registros de casos de FHD ocorreram durante esse período, mas, antes da introdução de DENV-3, 69% da população de Salvador já eram positivos para o último vírus da dengue. Em Salvador, por duas semanas durante esse período, o sorotipo DENV-3 foi o único isolado em infecções por dengue, apesar de outros municípios da Bahia receberem amostras com isolamento de outros sorotipos (DE MELO *et al*, 2007). Já no Ceará, em 2003, 37.964 casos de suspeita de dengue foram notificados e, desse número, 23.764 foram confirmados no laboratório, sendo que, entre esses casos confirmados, 9.012 (37,9%) ocorreram na capital do estado e 14.784 (62,1%) em locais fora da capital. No total, 450 casos suspeitos para FHD foram investigados e 291 desses casos foram confirmados (CAVALCANTI, 2010).

Em Manaus, no estado de Amazonas, a segunda epidemia aconteceu em 2001, com 18.595 casos notificados, estando presentes os tipos DENV-1 e DENV-2 e, com a transmissão simultânea desses dois tipos, surgiram os primeiros casos de FHD, com 52 casos registrados. A partir disso, a dengue se comportou de forma endêmica, com DENV-2 e DENV-3 presentes nos períodos de chuvas, de janeiro a julho. De 2006 a 2007, em Manaus, com os três sorotipos virais circulantes, observou-se um aumento da frequência de FHD e uma maior incidência em menores de 15 anos, semelhante ao padrão do sul Asiático (DA ROCHA *et al*, 2009).

Desde 1997, a dengue começou a ocorrer em altas taxas em pequenas cidades, principalmente no interior do norte, nordeste e centro-oeste, permitindo a observação de um padrão sazonal para proliferação de *Aedes aegypti* (nordeste, zona equatorial tropical e zona tropical central). Essa tendência se tornou mais evidente em 2007, quando aproximadamente 40% de casos de dengue no Brasil vieram de municípios com menos de 100 mil habitantes (TEIXEIRA *et al*, 2009).

Em 2007, casos de concentração de febre hemorrágica da dengue aconteceram com 68% de notificações no estado do Ceará, Rio de Janeiro, Maranhão, Pernambuco, Mato Grosso do Sul, Amazonas e Piauí. E a mesma característica foi observada nos óbitos, concentrando-se 50% nos estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Pará e Piauí (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007).

Alguns estudos têm mostrado que milhões de brasileiros já possuem anticorpos para o último sorotipo circulante de dengue e isso é um fator que aumentaria o risco de desenvolvimento de FHD. A média da soroprevalência tem variado entre as áreas estudadas, com maiores taxas em Mossoró (97,8%), Salvador (67%), Niterói (66%), Macapá (48,4%), Rio de Janeiro (44,5%), Fortaleza (44%) e São Luiz (41,4%). Menores taxas foram encontradas em Goiânia (29,5%), Belo Horizonte (23,3%) e Ribeirão Preto (5,4%) (TEIXEIRA *et al*, 2009).

No começo de 2010, altos surtos de dengue foram documentados em muitas regiões do Brasil, com cocirculação dos três sorotipos (DENV-1, DENV-2, DENV-3). No fim de março 2010, o departamento de Estado do São Paulo registrou mais de 34.000 casos de dengue (ROMANO *et al*, 2010).

Atualmente, a dengue segue um padrão endêmico no país, com um grande aumento de incidência de transmissão em épocas do ano com muito calor e em meses chuvosos (SIQUEIRA, J.R.; BARRETO, F.R.; SILVEIRA, A.C.; NISALAK, A. *et al* apud TEIXEIRA *et al*, 2009). Tal fato explica, por exemplo, a baixa incidência de surtos no sul do país, já que o clima pode ser o fator que dificulta a proliferação do vetor (TEIXEIRA *et al*, 2005).

**Tabela 1 - Dados e localidades de ocorrência dos sorotipos DENV**

| Sorotipos DENV | Ano de ocorrência | Localidade detectada         |
|----------------|-------------------|------------------------------|
| DENV-1         | 1977              | Américas                     |
| DENV-2         | 1953              | Trinidad                     |
|                | 1981              | Cuba e Américas              |
| DENV-3         | 1977              | Américas                     |
|                | 1994              | Nicarágua, Panamá e Américas |
|                | 1995              | Costa-Rica                   |
| DENV-4         | 1981              | Américas                     |

Fonte: (FAGUNDES, 2005)

## TRANSMISSÃO

O vírus da dengue é transmitido quando a fêmea do mosquito *Aedes aegypti* se alimenta do sangue de uma pessoa infectada. Dentro do intestino do vetor artrópode, ocorre replicação do vírus, que pode ser encontrado em grande quantidade nas glândulas salivares do mosquito (LUPI *et al*, 2007). Depois que o vírus é ingerido pelo vetor, pode replicar-se durante oito a doze dias. Após ser infectado pelo vírus e decorrido o período de incubação viral, o mosquito é capaz de transmitir a infecção durante o resto de sua vida (LUPI *et al*, 2007). A transmissão ocorre enquanto houver presença de vírus na circulação sanguínea do homem, chamado período de viremia, sendo que esse período começa um dia antes do aparecimento da febre e vai até o sexto dia da doença (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002). Com a multiplicação do vírus na corrente sanguínea, o indivíduo irá desenvolver os primeiros sintomas da dengue, geralmente, se manifestando após o terceiro dia da picada do mosquito. A transmissão mecânica também é possível, quando o repasto é interrompido e o mosquito, imediatamente, se alimenta num hospedeiro suscetível próximo. Não há transmissão por contato direto de um doente ou de suas

secreções com uma pessoa sadia, nem de fontes de água ou alimento (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002).

O mosquito costuma depositar seus ovos em reservatórios artificiais que acumulam água, sendo a dengue, portanto, doença geralmente adquirida em zonas urbanas (LUPI *et al*, 2007).

## SINTOMAS

Os sintomas iniciais da febre da dengue hemorrágica são semelhantes ao da dengue clássica, porém evoluem rapidamente para manifestações hemorrágicas e/ou derrames cavitários e/ou instabilidade hemodinâmica e/ou choque. As manifestações hemorrágicas estão associadas à trombocitopenia ( $< 100.000/\text{mm}^3$ ), com hemoconcentração concomitante e presença de um ou mais dos seguintes dados clínicos que caracterizam o extravasamento plasmático: derrame pleural, ascite e elevação do hematócrito em mais de 20% acima dos valores basais. A perda seletiva de volume plasmático para as cavidades serosas, como as cavidades peritoneal e pleural, pode causar choque hipovolêmico. Os fenômenos hemorrágicos iniciam-se em até 24 horas, caracterizando-se por: prova do torniquete positiva, presença de petéquias (nas extremidades, na face e nas axilas), equimoses, epistaxe, gengivorragia, metrorragia e hemorragia digestiva alta.

Os casos típicos da FHD são caracterizados por febre alta (ocasionalmente 40 a 41°C), mantendo-se elevada por um período de dois a sete dias, quando, então, apresenta queda súbita; hepatomegalia, a qual surge no início do quadro febril; dores abdominais fortes e contínuas; vômitos persistentes; pele pálida e fria (principalmente extremidades); insuficiência circulatória; sonolência; sede excessiva e boca seca; pulso rápido e fraco; perda de consciência; dificuldade respiratória; agitação e confusão mental; choques; manifestações cutâneas, como equimoses e petéquias (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002; ; KURANE, 2007; SERUFO *et al*, 2000).

## GRUPOS DE RISCO

A dengue atinge a população como um todo, não havendo grupos de risco específicos. A suscetibilidade ao vírus da dengue é universal, sendo a imunidade para um mesmo sorotipo permanente, porém a imunidade cruzada é temporária (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002).

A suscetibilidade em relação à FHD ainda não está totalmente esclarecida. Quanto à fisiopatogenia da resposta imunológica à infecção pelo vírus da dengue, pode ser primária – pessoas não expostas anteriormente ao flavivírus, tendo a quantidade de anticorpos se elevando lentamente –, ou secundária que é observada em indivíduos com infecção aguda por dengue, previamente infectados pelo flavivírus, tendo o título de anticorpos aumentando rapidamente, chegando a níveis muito altos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002).

Já Pontes (1994) acredita que a dengue hemorrágica/síndrome de choque da dengue – DH/SCD, sendo a segunda forma a mais grave, pode ocorrer em dois grupos principais:

1. indivíduos primoinfectados, ou seja, apresentando a primeira infecção por qualquer um dos quatro sorotipos do vírus do dengue. Nesse grupo, são acometidas: crianças menores de um ano de idade durante epidemias de DH/SCD; crianças ou adultos, sob a forma de casos isolados e relativamente raros de DH/SCD, durante epidemias de dengue clássico (embora também tenham sido descritas epidemias de DH/SCD em populações sem experiência anterior com o vírus do dengue ou em locais onde esse vírus esteve ausente por várias décadas) (PONTES *et al*, 1994);

2. indivíduos com infecção secundária ou sequencial, ou seja, indivíduo já infectado anteriormente e desenvolvendo nova infecção por um sorotipo do vírus do dengue diferente do anterior. Constitui-se no principal grupo de risco para a ocorrência do DH/SCD, podendo os casos se apresentar de modo epidêmico ou endemo-epidêmico. Nessas circunstâncias, são acometidas principalmente crianças entre três e sete anos de idade, a maior parte dos casos ocorrendo abaixo dos 16 anos (PONTES *et al*, 1994).

## SOROTIPOS PREVALENTES NO BRASIL E CARACTERÍSTICOS DA FHD

São conhecidos atualmente quatro sorotipos, antigenicamente distintos: DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4, e sua distribuição no Brasil é variada, sendo que o DENV-4 não foi introduzido no Brasil, apenas foram relatados poucos casos em pacientes sem histórico de viagem internacional, contudo, há o risco de ser introduzido a partir de futuras epidemias (Figura 1) (ROMANO *et al*, 2010). Infecções em humanos por um sorotipo produzem imunidade para toda a vida, mas não impedem que ocorra uma reinfeção por outro sorotipo, que pode ser mais grave que a primeira (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999). O conhecimento dos sorotipos circulantes numa localidade é fundamental, pois se sabe que alguns vírus causam manifestações clínicas mais severas, fato observado mais comumente em locais com circulação simultânea de diferentes sorotipos (BALMASEDA *et al*, 2006).

É muito complexa a inter-relação dos fatores envolvidos na dinâmica da circulação dos quatro sorotipos do vírus da dengue, o que gera confusão e incertezas em vários campos do conhecimento, especialmente, no que diz respeito aos determinantes das suas apresentações clínicas e epidemiológicas que são pleomórficas. Assim, observam-se epidemias graves, como as ocorridas no Sudeste Asiático, onde as formas hemorrágicas têm sido frequentes (HALSTEAD, 2006); as epidemias clássicas consideradas benignas, como a de 1979, em Cuba, causada pelo sorotipo DENV-1, logo foram seguidas por outra, em 1981, vinculada ao sorotipo DENV-2, surpreendentemente grave, com milhares de casos hemorrágicos (KOURI *et al*, 1986).

Em contraponto, as primeiras epidemias dos grandes centros urbanos brasileiros foram seguidas de outras, nas mesmas áreas, provocadas por agentes pertencentes a sorotipos diferentes (DENV1 e DENV2), com poucos registros de dengue hemorrágica por mais de dez anos (TEIXEIRA *et al*, 2005).

A ocorrência das formas hemorrágicas da dengue tem sido, em parte, explicada pela presença de anticorpos devido às infecções sequenciais por diferentes sorotipos do vírus da dengue. De acordo com essa teoria, na presença de anticorpos contra um sorotipo, a resposta imunológica do indivíduo sensibilizado seria ampliada pela segunda infecção (Antibody dependent enhancement-ADE) (HALSTEAD, 2006). Embora existam algumas evidências clínicas e epidemiológicas (BRAVO *et al*, 1987) que corroboram essa hipótese, tem-se observado que outros fatores também podem estar relacionados com as manifestações clínicas das formas

hemorrágicas da dengue, tais como virulência das cepas do agente, comorbidade, genéticos, estado nutricional, entre outros (BRAVO *et al*, 1987; GUZMAN *et al*, 2002; BLANTON *et al*, 2008).

A infecção pelo sorotipo 3 apresenta significativa associação com exantema em relação àquelas infecções pelos sorotipos 1 e 2. A dor abdominal está mais associada aos indivíduos infectados pelo sorotipo 3 do que naqueles com o sorotipo 1. Segundo estudos de Passos *et al.*, esses observaram que os indivíduos com isolamento viral do sorotipo 3 tiveram uma chance 3,61 vezes maior de apresentar exantema em relação aos sorotipos 1 e 3,06 vezes maior de apresentar dor abdominal em relação aos mesmos infectados pelo sorotipo 1. A ocorrência de choque é significativamente maior na infecção pelo sorotipo 3 do que no sorotipo 2. Essas informações permitem constatar que indivíduos infectados pelo sorotipo 3 da dengue apresentam sintomatologia mais grave, sugerindo uma maior virulência deste (PASSOS *et al*, 2004).

Segundo o Ministério da Saúde, o Brasil passou por quatro grandes epidemias, nos últimos 20 anos, sendo que todas elas foram associadas à mudança do sorotipo viral predominante. A epidemia de 1998 foi causada pelo sorotipo 1; a de 2002, pelo sorotipo 3; a de 2008, pelo sorotipo 2 e a de 2010, pelo sorotipo 1. Em julho desse ano, o estado de Roraima notificou o primeiro caso suspeito de dengue causada pelo sorotipo 4, sendo que faz 28 anos que esse sorotipo circulou no país (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

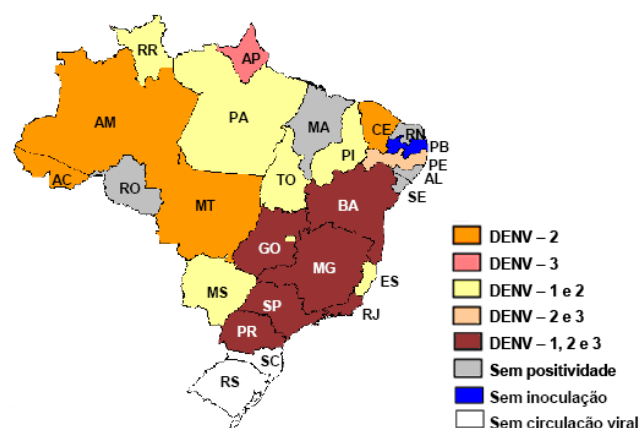
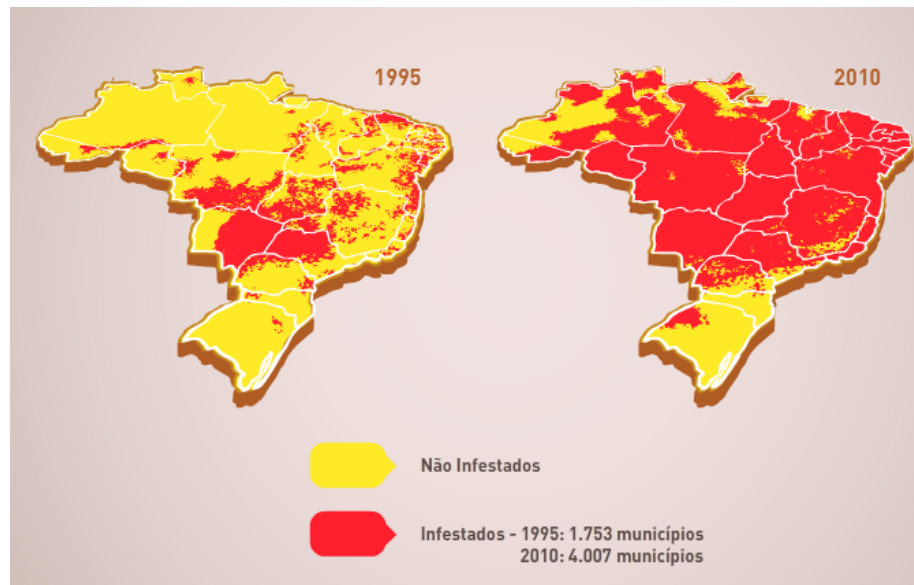


Figura 1 - Distribuição espacial por sorotipo circulante isolado, de acordo com a UF, Brasil, 2009.

**Figura 1 – Informe Epidemiológico da Dengue - Semanas de 1 a 52 de 2009**  
**Fonte: Ministério da Saúde, 2010**



**Figura 2 - Municípios infestados por *Aedes aegypti***  
**Fonte: Ministério da Saúde, 2010**

## DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

No quinto dia de infecção, a aparição de febre serve como um aviso para possível complicação do prognóstico, pois, antes disso, é difícil a realização de um diagnóstico, já que os sinais são inespecíficos (MARTÍNEZ-VEJA, 2009).

Os métodos utilizados para o diagnóstico de dengue incluem assimilação viral, detecção de anticorpos por ELISA, inibição da hemaglutinação, reação em cadeia da polimerase (PCR). Testes como histoquímica e imunofluorescência são utilizados em casos fatais (KANLAYA *et al*, 2010).

A dificuldade para se criar um diagnóstico mais específico para a dengue provém da falta de um modelo animal que seja reprodutível ao esperado em humanos, tendo em vista que os principais sintomas são o extravasamento vascular e a hemorragia (KANLAYA *et al*, 2010).

Recentes estudos demonstram o envolvimento das células endoteliais na infecção causada pela dengue através da ação dos antígenos virais, ocorrendo a liberação do fator de necrose alfa (induzindo a apoptose), além de interleucinas. Com isso, após a infecção primária, há relatos da alteração no proteoma das células endoteliais, havendo a diminuição da produção de proteínas de membrana responsáveis pela adesão, como zonula acludens e caderinas, afetando a

migração celular em um segundo contato com o vírus. A ubiquitina-proteassoma auxilia a replicação viral de outros vírus, como coxavírus, herpes simplex, sendo que, se for utilizado um inibidor dessa enzima, há o decréscimo da síntese protéica viral da dengue (KANLAYA *et al*, 2010).

A imunidade humoral contra o vírus da dengue começa a ser formada em aproximadamente seis dias após a picada pelo mosquito. São formados majoritariamente anticorpos contra o vírus contendo peptídeos das regiões virais E e PrM (RODENHUIS-ZYBERT *et al.*, 2010). Os testes sorológicos baseados em ELISA utilizam-se desse conhecimento, através da imunopurificação por anticorpos monoclonais. O sangue deve ser obtido por punção venosa, centrifugado e o plasma deve ser armazenado para o teste imunológico, possuindo, no mínimo, 10 microlitros, não devendo ser congelado, possuir coágulos ou ser lipêmico (MEDIVAX, 2010).

A reação da cadeia da polimerase (PCR) proporciona um resultado qualitativo específico sobre família e a cepa viral e quantitativo pela indicação da quantidade de vírus por mililitro de plasma. O método de PCR em tempo real requer RNA viral, que é isolado de uma cultura celular, na qual o vírus se replica, ou amostra sanguínea. Então, a transcriptase-reversa transforma essa sequência em cadeias de DNA e, após a amplificação, são adicionados os *primers* específicos para cada tipo característico de vírus da dengue. Após a clivagem, o material é colocado em poços em gel de agarose e colocado para correr em eletroforese, diferenciando as bandas pelo tamanho molecular onde esse DNA foi clivado (DOS SANTOS *et al*, 2003). A posterior análise dessas bandas oferece a identificação do subtipo viral dentro do grupo dos vírus da dengue, auxiliando no diagnóstico, principalmente, das cepas mais patogênicas.

O teste de captura de antígeno por ELISA realiza a captura de um antígeno específico viral, como o NS1, tendo como finalidade a detecção qualitativa no soro. Por isso, deve ser utilizado em conjunto com outros testes confirmatórios. Esse método permite a detecção da infecção antes da soroconversão. O antígeno NS1 pode ser detectado no soro um dia após o aparecimento da febre e até durante nove dias. Os anticorpos da dengue NS1 ligam-se aos anti-NS1 presentes na superfície de polietileno das cavidades das tiras da microplaca. Após a eliminação do soro residual por lavagens, adiciona-se o conjugado, incuba-se e realiza-se um novo processo de lavagem com posterior adição do sistema substrato tetrametilbenzina/ peróxido de hidrogênio (TMB), para haver a reação colorimétrica (gerando a cor azul). Para parar a reação, se utiliza ácido, o qual proporciona a cor amarela à reação. Se reagente, irá formar cor, indicando

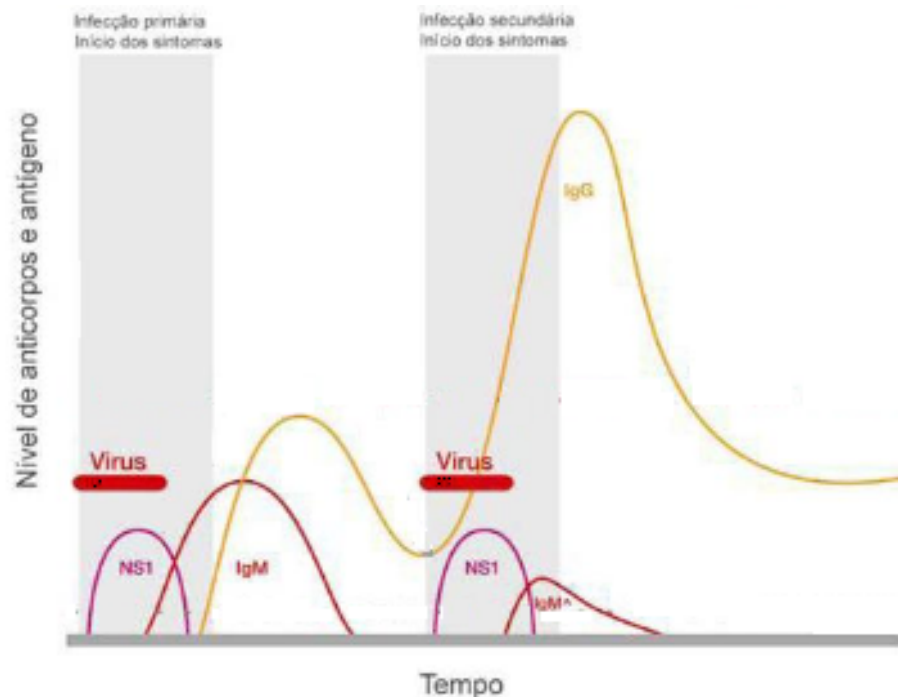
a presença do antígeno NS1 na amostra. A amostra deve sofrer pré-diluição. Esse teste possui sensibilidade de 64,8% a 85,1% e especificidade de 95,3% a 99,7%. Pode apresentar reatividade cruzada rara ao Epstein-barr, malária, anticorpo antinuclear, fator reumatoide, HAV, leptospirose e encefalite japonesa (MEDIVAX, 2010).

Já o teste baseado na reação de ELISA com captura IgM antidengue é útil para a detecção qualitativa de anticorpos IgM contra dengue, pois ele aparece na fase aguda da infecção, auxiliando no diagnóstico clínico laboratorial. Também é um teste que deve ser utilizado em conjunto com outros testes confirmatórios. Sua importância reside nos casos de infecções secundárias, em que o risco de complicações aumenta. Os anticorpos IgM podem ser detectados entre o terceiro e o quinto dia após o início da febre, podendo ser detectados em até oito meses pós-infecção. A reação do teste ocorre quando os anticorpos IgM com peptídeos virais da dengue se ligam a anticorpos anti-IgM ligados à superfície de poliestireno nos micropoços, que passam por processo de lavagem seguida da adição de cromógeno TBM, formando a cor azul. A reação é parada pela adição de ácido, gerando a cor amarela, que indica a presença de anticorpos IgM antidengue na amostra. Quando o teste for negativo, não exclui infecção por dengue, ou seja, deve-se fazer nova coleta em sete a 14 dias após, assim confirmando negatividade. Quando o teste for duvidoso, deve-se repeti-lo, sendo que, se continuar nessa etapa, deve-se usar outro método de confirmação ou coletar nova amostra. Por fim, se positivo, deve-se utilizar outro teste confirmatório. Na infecção primária, é esperada a elevação dos níveis de IgM aos 3-5 dias e, na infecção secundária, os níveis detectáveis de IgM podem ser baixos (MEDIVAX, 2008). Algumas pessoas demoram a produzir os anticorpos, por fatores genéticos e ambientais (como a desnutrição), comprometendo a eficiência do exame e um bom prognóstico (GUPTA et al., 2010). A sensibilidade sorológica primária varia entre 85,4% a 98,9% e a sensibilidade sorológica secundária varia entre 46,6% a 64,7%. Já a especificidade sorológica varia entre 93,7% e 99,6% e, nos casos de negativo, a especificidade encontra-se entre 95,7% a 100%. Pode possuir reação cruzada rara com malária, fator reumatoide e vírus do Nilo ocidental (MEDIVAX, 2008).

A detecção de IgG indireto destina-se à detecção qualitativa de anticorpos dos sorotipos 1, 2, 3 e 4 e, para a distinção entre a dengue primária e secundária, sofre os mesmos processos metodológicos da detecção de IgM. Os altos níveis de IgG são características da infecção secundária, tendo pico de detecção do 6º ao 15º dia. É necessário teste específico para a detecção de tais níveis de IgG, pois outros testes não conseguem detectar. Esse método apresenta

sensibilidade sorológica no segundo contato de 92,5% a 99,7% e especificidade de 96,6% a 100%. Pode ocorrer rara reação cruzada com vírus West Nilo (MEDIVAX, 2009).

A detecção de IgM e IgG em membrana permite avaliação quantitativa sobre a quantidade de anticorpos IgM e IgG antidengue no sangue total, plasma e soro humano. O teste tem boa aceitabilidade na diferenciação da infecção primária da secundária, sendo sua utilização recomendada em suspeita de infecção pelos achados clínicos. É necessária confirmação com outras metodologias, como PCR ou imunohistoquímica. Neste teste, IgG e IgM são determinadas simultaneamente, sem necessidade de diluições. Já que a IgM possui maior produção entre o terceiro dia de infecção até oito meses e a IgG possui pico na recidiva da doença, esse teste funciona melhor para identificar infecção primária, na qual será reagente somente a faixa da IgM, enquanto, se realizado em pacientes com infecção secundária, a faixa IgG irá reagir independentemente da reação da faixa da IgM. Na membrana do cassete, haverá a ligação específica das imunoglobulinas humanas aos seus respectivos anticorpos anti-IgM e anti-IgG recombinantes 1, 2, 3 e 4, gerando complexos com cor visível em uma ou mais linhas, tendo também linha controle que reage com IgG e IgM. Caso haja ligação nas linhas reagentes IgM e IgG sem reagir o controle, esse teste será considerado inválido. No soro, o teste possui sensibilidade de 79% a 91,1%, especificidade de 86,3% a 95,3%; no sangue total, sensibilidade 49,2% e especificidade de 95,3%; e, no plasma, sensibilidade de 90,3% a 100% e especificidade 35% a 55,3%. O teste em tira (PANBIO, Rapid Dengue Test) vem sendo utilizado em regiões endêmicas, como a Colômbia, possuindo sensibilidade entre 57% a 100%. Mas, para melhorar o diagnóstico, vem sendo substituído pelo teste em tira (PANBIO, Dengue duo IgM and IgG Rapid Cassette), o qual reage com as frações IgM e IgG, fornecendo dados sobre a fase aguda e fase de convalescença na infecção viral. Esse teste utiliza menos quantidade de soro e/ou sangue total do que seu antecessor, além de dispensar diluição. Por ser um teste rápido, pode ser realizado durante a própria consulta médica, assim contribuindo para o melhor prognóstico durante a fase aguda. Na fase aguda, que ocorre de 72 a 96h após a picada, o teste em tira (PANBIO, Dengue duo IgM and IgG Rapid Cassette) apresenta sensibilidade de 52-60%, segundo estudo Colombiano. Porém, possui limitações quando feito antes de 72 horas de replicação viral, podendo assim resultar em falsos negativos (MARTÍNEZ-VEJA, 2009; MEDIVAX, 2008).



**Figura 3 – Níveis de Ag e Ac presentes nas infecções por dengue**  
 Fonte: Dengue Early Elisa (MEDIVAX, 2010)

Para o diagnóstico da dengue, o hemograma não fornece dados específicos, porém é de extrema importância para a avaliação do tratamento, sendo um marcador para o risco hemorrágico do paciente. Em casos de dengue, a leucopenia é um achado usual, porém pode ocorrer leucocitose com atipia linfocitária. A trombocitopenia é observada com menos frequência, mas, quando o nível de plaquetas encontrado estiver entre  $50.000$  e  $100.000\text{mm}^3$ , deve-se realizar acompanhamento ambulatorial diário e, quando estiver menos que  $50.000\text{mm}^3$ , é necessária a internação hospitalar. A hemoconcentração avalia o estado de hidratação do paciente. Logo, em casos de aumento, deve-se manter o paciente internado. A contínua realização do hemograma revela se o tratamento está sendo eficaz e se o paciente deve permanecer hospitalizado (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002). Esse exame também não serve para o diagnóstico devido a fatores nutricionais, os quais são diferentes dentro da população (GUPTA et al., 2010). Em casos de dengue, podem também ser observados aumento nos tempos de protrombina, trombotina parcial e trombotina. Além disso, pode-se observar diminuição de fibrinogênio, protrombina, fator VIII, fator XII, antitrombina e antiplasmina. Porém, são testes inespecíficos para o diagnóstico (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002).

Durante os casos de dengue, já foram relatadas alterações metabólicas inespecíficas, como albuminúria e discreto aumento dos testes de função hepática: aminotransferase aspartato sérica e aminotransferase alanina sérica, não sendo útil para o diagnóstico de dengue (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2002).

A imunofluorescência é uma técnica que permite a visualização dos antígenos da dengue nos tecidos atingidos ou em suspensões celulares, na qual os anticorpos são conjugados com substâncias fluorescentes, permitindo que, em microscopia, seja possível observar e diferenciar os subtipos de dengue causadores da infecção (HENCHAL *et al*, 1983).

## DISCUSSÃO

A dengue, tratando-se de uma doença infecto-contagiosa causada por quatro diferentes sorotipos virais, ocasiona, anualmente, epidemias em diversas regiões do Brasil e no mundo. Levando em consideração que, ao ser infectado por um sorotipo viral específico, o indivíduo está imunizado para tal, qualquer indivíduo pode adoecer quatro vezes em função da dengue. Por isso, em países com um alto número de habitantes e também condições propícias para o desenvolvimento do mosquito *Aedes aegypti*, vetor da doença, o risco de uma epidemia é muito maior, quando comparado a outras localidades.

No Brasil, a distribuição dos sorotipos virais é bastante variada, sendo que DENV-1, DENV-2 E DENV-3 são os mais prevalentes. Quanto ao risco de infecção, pode-se dizer que não há um grupo específico, mas, sem dúvida, aqueles indivíduos que vivem em ambientes propícios para o desenvolvimento do vetor ou ainda próximos desses possuem um risco maior, quando comparados a outros indivíduos. A primeira epidemia de dengue no Brasil, com o isolamento viral, aconteceu em 1981 e, nas últimas duas décadas, o nosso país tem sido responsável por mais de 60% do total de casos registrados FHD na América.

O diagnóstico dessa infecção se dá, principalmente, por testes sorológicos e pelo quadro clínico. São utilizados testes de assimilação viral, detecção de anticorpos por ELISA, inibição da hemaglutinação e testes moleculares como a reação em cadeia da polimerase (PCR). O teste em tira, o qual reage com as frações IgM e IgG, fornece dados sobre a fase aguda e a fase de convalescença na infecção viral e tem se mostrado bastante aplicável em regiões endêmicas.

Atualmente, com a chegada de meses de calor e umidade no Brasil, vive-se uma realidade de preocupação a respeito do surgimento de uma nova epidemia de dengue. Segundo o Ministério da Saúde, 70% dos casos de dengue ocorrem entre os meses de janeiro e maio. Diversas campanhas vêm sendo desenvolvidas, principalmente por parte do Ministério da Saúde, a fim de conscientizar a população do seu papel, sendo esse fundamental no combate do vetor e na consequente prevenção dessa infecção. Todo esse receio é justificado pelo alto número de pessoas doentes a cada epidemia, o que leva a hospitais lotados e que, muitas vezes, não podem oferecer o tratamento ideal para todos os pacientes, já que o quadro clínico pode ser bastante variável, desde febre, dores no corpo e náuseas, a quadros hemorrágicos acompanhados de dor intensa e contínua no abdômen, vômitos, sangramentos, manchas avermelhadas, entre outros.

## REFERÊNCIAS

BALMASEDA, A. *et al.* Serotype-Specific differences in clinical manifestations of dengue. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Deerfield, v. 74, n. 3, p. 449-456, 2006.

BLANTON, R. *et al.* Genetic ancestry and income are associated with dengue hemorrhagic fever in a highly admixed population. **European Journal of Human Genetics**, v. 16, p.762-765, fev. 2008.

BRAVO, J.R.; GUZMAN, M.P.; KOURI, G.P. Why dengue hemorrhagic fever in Cuba? 1. Individual risk factors for dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome (DHF/DSS). **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, Londres, v. 81, n. 5 p. 816-820, 1987.

CAVALCANTI, L.P.G. Clinical and epidemiological characterization of dengue hemorrhagic fever cases in northeastern, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 43, n. 4, p. 355-358, jul./ago. 2010.

DA ROCHA, L.A.; TAUIL, P.L. Dengue em crianças: aspectos clínicos e epidemiológicos, Manaus, estado do Amazonas, no período de 2006 e 2007. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 42, n. 1, p. 18-22, jan./fev. 2009.

DE MELO, P.R.S. *et al.* The dynamics of dengue virus serotype 3 introduction and dispersion in the state of Bahia, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 102, n.8, p. 905-919, dez. 2007.

DOS SANTOS, C.L.S. *et al.* Molecular characterization of dengue viruses type 1 and 2 isolated from a concurrent human infection. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 45, n. 1, p. 11-16, jan./fev. 2003.

FAGUNDES, L. S. **Sequenciamento do genoma completo do Dengue vírus sorotipo 1 do DF e expressão de proteínas virais ME em *Pichia pastoris***. Dissertação de Mestrado em Ciências Genômicas e Biotecnologia, Universidade Católica de Brasília. Brasília, 2005.

FIGUEIREDO, L. B. *et al.* Dengue virus 3 genotype 1 associated with Dengue Fever and Dengue Hemorrhagic Fever, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 14, n. 2, p. 314-316, fev. 2008.

GUZMAN, M. G.; KOURI, G. Dengue: an update. **The Lancet Infectious Diseases**, Amsterdã, v. 2, n. 1, p. 33-42, jan. 2002.

GUZMAN, M.G.; KOURI, G. Dengue and dengue hemorrhagic fever in the Americas: lessons and Challenges. **Journal of Clinical Virology**, Amsterdã, v. 27, n.1, p. 1-13, 2003.

GUZMAN, A.; ISTÚRIZ, R.E. Update on the global spread of dengue. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Amsterdã, v. 36, sup.1 p. 40-42, nov. 2010.

GUPTA, P. *et al.* Assessment of World Health Organization definition of dengue hemorrhagic fever in North India. **Journal of Infection in Developing Countries**, v. 4, n. 3, p. 150-155, 2010.

HALSTEAD, S.B. Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. **Science**, Nova York, v. 239, p. 476–481, jan. 1988.

HALSTEAD, S. B. Dengue in the Americas and Southeast Asia: do they differ? **Revista Panamericana Salud Publica**, Washington, v. 20, n. 6, p. 407-415, 2006.

HAMMON, W.M.; RUDNICK, A.; SATHER, G.E. Viruses associated with epidemic hemorrhagic fevers of the Philippines and Thailand. **Science**, Nova York, v. 131, p. 1102–1103, abr. 1960.

HENCHAL, E. A. *et al.* Rapid Identification of Dengue Virus Isolates by using Monoclonal Antibodies in an Indirect Immunofluorescence Assay. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Deerfield, v. 32, n. 1, p. 164-169, 1983.

KANLAYA, R. *et al.* The Ubiquitin-Proteasome Pathway Is Important for Dengue Virus Infection in Primary Human Endothelial Cells. **Journal of Proteome Research**, v. 9, n. 10, p. 4960–4971, ago. 2010.

KOURI, G.; GUSMAN, M.G.; BRAVO, J. Dengue hemorrágico em Cuba: crônica de uma epidemia. **Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana**, Washington, v. 100, n. 3, p. 322-329, mar. 1986.

KURANE, I. Dengue hemorrhagic fever with special emphasis on immunopathogenesis. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, Amsterdã, v. 30, p. 329-340, set. 2007.

LUPI, O.; CARNEIRO, C. G.; COELHO, I. C. B. Manifestações mucocutâneas da dengue. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 82, n. 4, p. 291-305, jul./ago. 2007.

MARTÍNEZ-VEGA, R.A. Evaluación de la utilidad de la prueba rápida de casete por inmunocromatografía para el diagnóstico de dengue en una región endémica colombiana. **Biomédica**, Bogotá, v. 29, n. 4, p. 616-624, 2009.

MEDIVAX. Dengue IgM - IgG Teste Rápido. **Instruções de uso**, Medivax, 2008. Disponível em: <[http://www.medivax.com.br/uploads/Dengue\\_IgM\\_IgG\\_Testes\\_Rapido.pdf](http://www.medivax.com.br/uploads/Dengue_IgM_IgG_Testes_Rapido.pdf)> Acesso em: 17 nov. 2010.

MEDIVAX. Elisa de captura para IgM anti-dengue. **Instruções de uso**, Medivax, 2008. Disponível em: <[http://www.medivax.com.br/uploads/Dengue\\_IgM\\_captura\\_Rev.11.2008.pdf](http://www.medivax.com.br/uploads/Dengue_IgM_captura_Rev.11.2008.pdf)> Acesso em: 17 nov. 2010.

MEDIVAX. Dengue IgG indireto - Elisa. **Instruções de uso**, Medivax, 2009. Disponível em: <[http://www.medivax.com.br/uploads/Dengue\\_IgG\\_Indireto.pdf](http://www.medivax.com.br/uploads/Dengue_IgG_Indireto.pdf)> Acesso em: 17 nov. 2010.

- MEDIVAX. Dengue Early Elisa. **Instruções de uso**, Medivax, 2010. Disponível em: <[http://www.medivax.com.br/uploads/Dengue\\_NS1\\_2P.pdf](http://www.medivax.com.br/uploads/Dengue_NS1_2P.pdf)> Acesso em: 17 nov. 2010.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Dengue: aspectos epidemiológicos, diagnóstico e tratamento. **Série A. Normas e Manuais Técnicos**. Fundação Nacional de Saúde, Brasília, n. 176, p. 1-20, 2002.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Dengue - diagnóstico e manejo clínico. **Série A. Normas e Manuais Técnicos**. Programa Nacional de Dengue, Secretaria de Vigilância em Saúde, Brasília, 3º Ed., p. 1-33, 2007.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Balanço dengue janeiro a julho de 2007. **Secretaria de Vigilância em Saúde**, Brasília, p. 1-9, 2007. Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/balanco\\_dengue\\_jan\\_jul\\_2007.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/balanco_dengue_jan_jul_2007.pdf)>. Acesso em: 19 abr. 2011.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Informe Epidemiológico da Dengue - Semanas de 1 a 52 de 2009. **Secretaria de Vigilância em Saúde**, Brasília, p. 1-28, 2010. Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/informe\\_epidemiologico\\_semana\\_1a52\\_09\\_revisado.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/informe_epidemiologico_semana_1a52_09_revisado.pdf)>. Acesso em: 20 abr. 2011.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Cartilha da dengue. **Secretaria de Vigilância em Saúde**, Brasília, [2010]. Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/flash/cartilha\\_dengue.html](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/flash/cartilha_dengue.html)>. Acesso em: 18 nov. 2010.
- PASSOS, M. N. P. *et al.* Diferenças clínicas observadas em pacientes com dengue causadas por diferentes sorotipos na epidemia de 2001/2002, ocorrida no município do Rio de Janeiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 37, n. 4, p. 293-295, jul./ago. 2004.
- PONTES, R. J. S.; RUFFINO-NETTO, A. Dengue em localidade urbana da região sudeste do Brasil: aspectos epidemiológicos. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 28, n. 3, p. 218-227, 1994.
- ROMANO, C. M. *et al.* Characterization of dengue virus type 2: New insights on the 2010 Brazilian Epidemic. **PLoS One**, v. 5, n. 7 p. 1-5, jul. 2010.
- RODENHUIS-ZYBERT, I. A.; WILSCHUT, J.; SMIT, J. M. Dengue virus life cycle: viral and host factors modulating infectivity. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 67, n. 16, p. 2773–2786, 2010.
- SERUFO, J. C. *et al.* Dengue: uma nova abordagem. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 33, nº. 5 p. 465-476, set./out. 2000.
- TAUIL, P. L. Urbanização e ecologia do dengue. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, supl. 17, p. 99-102, 2001.

TEIXEIRA, M.G. *et al.* Dengue and dengue hemorrhagic fever epidemics in Brazil: what research is needed based on trends, surveillance, and control experiences? **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 21, n. 5, p. 1307-1315, set./out. 2005.

TEIXEIRA, M.G. *et al.* Dengue: Twenty-five years since reemergence in Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 25, sup.1, p. 7-18, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Strengthening implementation of the global strategy for dengue fever/dengue haemorrhagic fever prevention and control. **Organização Mundial da Saúde**, Genebra, p. 1-20, out. 1999.

YING, M. *et al.* Cystatin C, a novel urinary biomarker for sensitive detection of acute kidney injury during haemorrhagic fever with renal syndrome. **Biomarkers**, v. 15, n. 5, p. 410–417, ago. 2010.