



artigos breves_ n. 1

Diagnóstico laboratorial de dengue no Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge: casos autóctones na Madeira

Maria João Alves¹, Fátima Amaro¹, Hugo Osório¹, Teresa Luz¹, Paulo Parreira¹, Líbia Zé-Zé¹

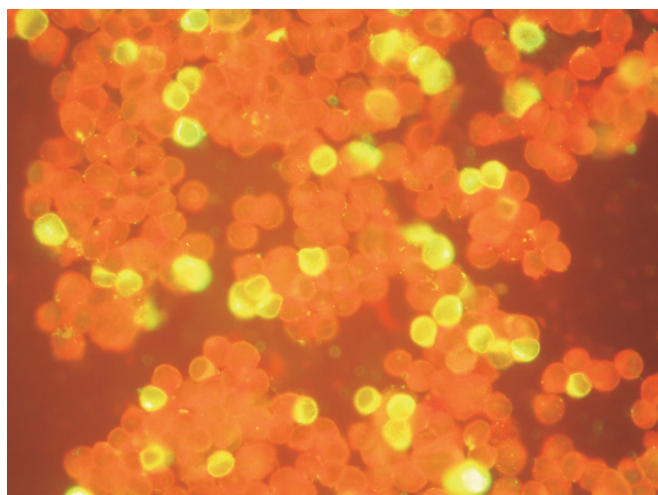
(1) Centro de Estudos de Vectores e Doenças Infecciosas Doutor Francisco Cambournac. Departamento de Doenças Infecciosas, INSA.

_O vírus dengue é um flavivírus transmitido por mosquitos do género *Aedes*, nomeadamente *Aedes aegypti* e *Ae. albopictus*.

_São conhecidos quatro serotipos de vírus dengue, designados DEN-1, 2, 3 e 4, que provocam um vasto espectro de doença no homem, desde casos assintomáticos, à febre de dengue clássica e a casos mais severos (1). A recuperação de uma infeção implica imunidade permanente contra o serotipo envolvido, no entanto confere uma proteção parcial e transitória contra os outros três serotipos. Existe uma evidência clara que uma infeção por serotipo heterólogo resulta em casos mais graves de dengue (2).

_O Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) realiza no Centro de Estudos de Vectores e Doenças Infecciosas (CEVDI) o diagnóstico laboratorial de referência de dengue. Para o diagnóstico indireto são utilizadas técnicas de identificação de anticorpos IgG e IgM por Imunofluorescência *in house* (Figura 1), e anticorpos IgM por Imunofluorescência comercial (Euroimmun). O diagnóstico direto para a deteção do RNA viral é feito por técnica de transcriptase reversa em reação de polimerase em cadeia (RT-PCR) convencional (com utilização de *primers* genéricos para flavivírus (3,4) e, específico de dengue, RT-PCR Multiplex dirigido à região CprM) (5,6) e por RT-PCR em tempo real (7). → *continua*

Figura 1: Imagem de Imunofluorescência IgM *in house* positiva para dengue (CEVDI/INSA).



_Anualmente são identificados, no laboratório do INSA, cerca de duas dezenas de casos humanos de importação, com origem, sobretudo, no Brasil, Timor, Índia, Cabo Verde, México, Tailândia, Angola, Paquistão e Vietname.

_Devido à ocorrência recente de casos autóctones de febre de dengue na ilha da Madeira, o INSA realizou o diagnóstico laboratorial confirmatório em amostras de doentes e dadores de sangue enviados pelo Hospital Dr. Nélio Mendonça, Funchal. Em doentes foram testadas por métodos indiretos 174 amostras de soro (79 positivas), por métodos diretos foram testadas 43 amostras de sangue total (15 positivas). Em dadores de sangue foram testadas 516 doações (407 do serviço de hemoimunoterapia e 109 do hospital) com identificação de 7 dadores de sangue, assintomáticos, infetados com vírus dengue.

_O laboratório identificou o agente etiológico do surto que está a ocorrer na Madeira como DEN1. A análise das sequências do genoma viral (454 nt) identificado indica 99% de semelhanças com o vírus DEN1 que circulou na Venezuela (2006-2007), Colômbia (2006-2009) e Roraima, norte do Brasil (2010). Conclui-se que o vírus de DEN1, detectado na Madeira, tem origem na América Latina, provavelmente na região do mar das Caraíbas.

_Desde o princípio de outubro até 9 de dezembro ocorreram 2050 casos de dengue na ilha da Madeira (8). Não foram identificados casos severos e o surto está tendencialmente a diminuir (9). O *European Center for Disease Control* (www.ecdc.europa.eu) e a Direção Geral de Saúde (www.dgs.pt) informam semanalmente sobre a evolução deste surto.

_Em casos de surtos de dengue, o laboratório tem um papel essencial para a deteção atempada dos primeiros casos de maneira a contribuir para a tomada de medidas de controlo vetorial, para a identificação exata do agente etiológico e da sua origem e para, no caso do laboratório de referência como o INSA, contribuir para a instalação de novas metodologias e controlo de qualidade em outros laboratórios.

Referências bibliográficas:

- (1) Horstik O, *et al.* Reviewing the development, evidence base, and application of the revised dengue case classification. *Pathogens and Global Health* 2012; 106, 2:94-101.
- (2) Halstead SB. Immunological parameters of togavirus disease syndromes. In *The togaviruses: biology, structure, replication* (Schlesinger RW, ed.). New York: Academic Press, 1980: 107-170.
- (3) Briese T, *et al.* Phylogenetic Analysis of a Human Isolate from the 2000 Israel West Nile virus Epidemic. *Emerging Infection Diseases*, 2002; 8: 528-531.
- (4) Briese T, *et al.* Identification of a Kunjin/West Nile-like flavivirus in brains of patients with New York encephalitis. *The Lancet*, 1999; 354: 1261-1262.
- (5) Lanciotti RS, *et al.* Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol.* 1992; 30: 545-5.
- (6) Saxena P, *et al.* Development and Evaluation of one step single tube multiplex RT-PCR for rapid detection and typing of dengue viruses. *Virology* 2008; 30(5): 20.
- (7) Domingo C, *et al.* 2nd International external quality control assessment for the molecular diagnosis of dengue infections. *PLoS Negl Trop Dis.* 2010; 4 (10):e833. doi:10.1371/journal.pntd.0000833
- (8) European Centre for Disease Prevention and Control. Epidemiological update: Outbreak of dengue in Madeira, Portugal. 2012 13 Dec.[Em linha]. Disponível em: http://ecdc.europa.eu/en/press/news/Lists/News/ECDC_DispForm.aspx?List=32e43ee8%2De230%2D4424%2D85742124029a&ID=809&RootFolder=%2Fen%2Fpress%2Fnews%2FLists%2FNews [consult. 13-12-2012].
- (9) Direção-Geral da Saúde. Febre de Dengue [Em linha]. Disponível em: <http://www.dgs.pt/?cn=683368347243AAAAA> [consult. 14-12-2012].