

## SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO .....	10
PREFÁCIO .....	13
<i>O Problema: Febre Hemorrágica do Dengue</i> .....	13
ARTIGO 1.....	21
<i>Mudanças no padrão epidemiológico da Febre Hemorrágica do Dengue no Brasil após a introdução do DENV3</i> .....	21
RESUMO.....	22
ABSTRACT .....	23
INTRODUÇÃO .....	24
MÉTODOS .....	25
RESULTADOS.....	28
DISCUSSÃO .....	31
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	34
REFERÊNCIAS .....	35
TABELAS E FIGURAS.....	37
Figura 1 - Coeficiente de incidência dos casos notificados de Dengue e Febre Hemorrágica do Dengue. Brasil, 2001 a 2008. ....	38
Figura 2. Coeficiente de incidência por 100.000 habitantes dos casos notificados de Febre Hemorrágica do Dengue, segundo a faixa etária. Brasil, 2001 a 2008.....	38
Tabela 1 - Número de casos notificados de Febre Hemorrágica do Dengue, razão absoluta, coeficiente de incidência, Risco Relativo e taxa de hospitalização, segundo faixa etária e ano de ocorrência. Brasil, 2001 a 2008.....	39
Tabela 2. Coeficiente de incidência de FHD e incidência média do período. Brasil e Regiões, 2001 a 2008.....	40
Tabela 3 - Número de óbitos notificados de FHD (critério Sinan), razão absoluta, coeficiente de mortalidade, risco relativo e letalidade, segundo faixa etária e ano de ocorrência. Brasil, 2001 a 2008.....	41
ARTIGO 2.....	42
<i>Uso de pareamento em estudos de caso-controle: limites e possibilidades</i> .....	42
RESUMO.....	43
ABSTRACT .....	44
INTRODUÇÃO .....	45
CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE O PAREAMENTO.....	47
TIPOS DE PAREAMENTO .....	48
VANTAGENS DO PAREAMENTO.....	50

PROBLEMAS E ALTERNATIVAS.....	51
ANÁLISE EM ESTUDOS PAREADOS .....	54
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	55
REFERÊNCIAS .....	56
<i>ARTIGO 3</i> .....	<i>59</i>
<i>Allergies and diabetes as risk factors for dengue hemorrhagic fever: results of a case control study</i> .....	<i>59</i>
RESUMO.....	60
ABSTRACT .....	61
INTRODUCTION.....	62
METHODS .....	63
RESULTS .....	66
DISCUSSION .....	68
REFERENCES .....	73
BIOGRAPHICAL SKETCH.....	75
ACKNOWLEDGEMENTS .....	75
TABLES and GRAPHICS .....	76
Table 1 - Distribution of DHF cases and according to demographic, ethnic, socio-economic variables and self reported comorbidities in the studied population .....	77
Table 2 - Crude and adjusted Odds Ratio of the association of DHF with skin colour, schooling and income .....	78
Table 3 - Crude and adjusted Odds Ratio of the association of DHF with chronic comorbidities .....	79
Table 4 - Crude and adjusted Odds Ratio of the association of DHF with chronic comorbidities stratified by number or type of drugs used .....	80
<i>CONCLUSÃO</i> .....	<i>81</i>

## APRESENTAÇÃO

Esta tese - mais do que o fruto de um trabalho desenvolvido como aluna do doutorado - representa a realização de uma etapa profissional há muitos anos desejada. Durante a sua construção pude mergulhar no campo da investigação científica, o que me possibilitou ver e compreender o mundo de uma forma mais ampla e bem diferente, sem, contudo, deixar de considerar a minha visão e valores anteriores. Esse processo, que denomino de transformação, fez-me sentir e viver a sensação de que não há limites para a expansão do conhecimento.

Meu percurso até aqui foi iniciado ainda como técnica da Diretoria de Vigilância Epidemiológica da Secretaria de Saúde do Estado da Bahia - Divep/Sesab. Na época, como coordenadora da vigilância das doenças transmitidas por vetores, senti necessidade por estudar o dengue mais aprofundadamente. Como enfermeira, me intrigava a gravidade dos casos clínicos da Febre Hemorrágica do Dengue - FHD e, como epidemiologista chamava a minha atenção o aumento da magnitude das epidemias do Dengue, e da própria FHD, no país.

Foi neste contexto que fui convidada pela Professora Glória Teixeira para integrar seu grupo de pesquisa e trabalhar em um projeto cujo objetivo era investigar fatores de risco para a FHD. Ao aceitar a proposta, percebi que teria um grande desafio pela frente e que as dificuldades encontradas me dariam a chance de um aprendizado inigualável na área que escolhi trabalhar - a epidemiologia.

Assim, ao tempo em que ia aprofundando meus conhecimentos sobre a FHD e coletando os dados primários desta tese na pesquisa de campo, senti necessidade de

buscar suporte teórico para entender os princípios e procedimentos necessários para conduzir um estudo de caso-controle - desenho indicado para investigar doenças baixa incidência como a FHD. Durante a realização da revisão da literatura sobre o tema, busquei focalizar minha atenção para os estudos pareados, uma vez que este seria o procedimento adotado para o recrutamento dos controles em nosso estudo. Nessa busca, percebi uma lacuna - a inexistência da sistematização do conhecimento disponível sobre o tema, que propiciasse aos interessados subsídios para compreender indicações, limites e possibilidades de um estudo de caso-controle pareado.

Já no terceiro ano do curso, tive a grande oportunidade de participar do Programa de Doutorado no País com Estágio no Exterior - PDEE, financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Capes, na London School of Hygiene and Tropical Medicine - LSHTM, sob a supervisão e orientação da professora-doutora Laura Rodrigues. Esta etapa foi fundamental para a análise do banco de dados do artigo principal desta Tese.

Assim, durante o meu caminhar no doutorado, sempre acompanhada de grandes mestres, construí, como em um *patch work*, os capítulos que hoje compõem a minha tese. À guisa de introdução, o prefácio desta Tese apresenta uma breve revisão sobre o meu objeto de estudo - a Febre Hemorrágica do Dengue. Os três capítulos seguintes estão apresentados sob a forma de artigos.

O primeiro intitulado **“Mudanças no padrão epidemiológico da Febre Hemorrágica do Dengue no Brasil após a introdução do DENV3”** tem como

objetivo avaliar a tendência da FHD no Brasil, nos anos 2001 a 2008, período pós-introdução do DENV3, visando avaliar a magnitude e compreender algumas mudanças na epidemiologia desta doença após a circulação simultânea dos três sorotipos, nas diversas regiões do país.

Como resultado da revisão conduzida sobre pareamento em estudos de caso-controle, na Disciplina Seminários Metodológicos, produzi o segundo artigo denominado **“Uso de pareamento em estudos de caso-controle: limites e possibilidades”**. O terceiro, **“Allergies and diabetes as risk factors for dengue hemorrhagic fever: results of a case control study”**, foi elaborado a partir dos resultados do material empírico da investigação conduzida e se constitui o principal produto do meu Doutorado.

Por oportuno, não posso deixar de registrar que a riqueza de conhecimento oferecido por este curso de doutorado fortaleceu meu projeto de dedicação à vida acadêmica. Assim, além das atividades docentes que já desenvolvo na Universidade do Estado da Bahia, pretendo continuar como pesquisadora do Instituto de Saúde Coletiva, particularmente em dengue, na expectativa de vir a contribuir para uma melhor compreensão dos processos individuais e coletivos que determinam a ocorrência das suas formas severas.

## PREFÁCIO

### O Problema: Febre Hemorrágica do Dengue

A infecção por qualquer um dos quatro sorotipos do arbovírus pertencente à família *flaviviridae* (DENV1-4) pode resultar em diferentes formas de uma enfermidade de grande magnitude no mundo, o dengue. Estas infecções ocorrem mediante transmissão indireta pelos mosquitos do gênero *Aedes*, sendo o principal transmissor a espécie *aegypti*, cuja presença é amplamente disseminada nos países de clima tropical e subtropical, situados entre os paralelos 35° N a 35° S. Todos os sorotipos produzem manifestações clínicas similares e resposta imunitária permanente e específica, todavia, por um curto período de tempo existe imunidade cruzada entre eles.<sup>1,2</sup>

Atualmente, a Organização Mundial de Saúde (OMS)<sup>3</sup> - classifica as formas clínicas do dengue como Febre do Dengue (FD) e Febre Hemorrágica do Dengue (FHD), com ou sem Síndrome do Choque do Dengue (SCD). De acordo com essa Organização e com a Organização Mundial de Saúde (OPAS), um caso de FHD é definido quando for encontrado: febre, alguma manifestação hemorrágica, trombocitopenia (<100.000 plaquetas), evidências de extravasamento de plasma por aumento da permeabilidade capilar, caracterizado pela hemoconcentração (aumento do hematócrito em 20% ou decréscimo desse valor, após infusão venosa), sinais de derrame pleural ou abdominal, ou hipoproteinemia. Quando a manifestação hemorrágica for induzida (prova do laço), a FHD será classificada como Grau I; se a

manifestação hemorrágica for espontânea, será classificada como Grau II; o Grau III corresponde aos casos com falência circulatória incipiente e o Grau IV quando o choque estiver instalado. Esta definição - derivada da experiência de Bangcoc, durante a epidemia de 1975 - vem sendo contestada por ser considerada inadequada para o uso na clínica e na epidemiologia, principalmente em países com dificuldades de suporte laboratorial<sup>4</sup>, contudo, até o momento, continua sendo utilizada em todo o mundo.

A patogenia da FHD ainda não é totalmente conhecida e, apesar da existência de várias teorias consistentes, estas só explicam parcialmente os complexos mecanismos que determinam a ocorrência desta grave enfermidade.

Desde a década de 60, Halstead vem defendendo a teoria sequencial, a qual se baseia na hipótese de que os casos de FHD se apresentam quando as pessoas que já têm anticorpos para um sorotipo de dengue (adquiridos de forma ativa ou passiva), em presença de uma segunda infecção por outro sorotipo, formariam um imunocomplexo com o novo vírus infectante, que facilitariam a penetração viral no fagócito mononuclear pelo receptor do monócito/macrófago, resultando nesta forma grave da doença <sup>5,6</sup>. As evidências que apoiam esta teoria foram acumuladas a partir de estudos realizados depois da grande epidemia em Cuba, em 1981. Um deles demonstrou um percentual de infecção secundária entre 95 e 98% dos pacientes com FHD/SCD estudados<sup>7</sup>. Também em Cuba, outro estudo envolvendo 124 crianças com FHD revelou que, dentre elas, 122 apresentavam infecção para mais de um sorotipo do vírus do dengue<sup>8</sup>. Em Mianmar, uma investigação evidenciou que 98% dos

pacientes com FHD eram casos de dengue secundário<sup>9</sup>. Até o momento esta teoria tem sido a mais aceita, embora outros autores tenham observado que a FHD pode ocorrer também na vigência de infecção primária, como descrito tanto em Cuba como no Brasil, onde pessoas expostas a apenas uma infecção desenvolveram FHD<sup>10, 11</sup>.

Uma outra teoria postula que os casos de FHD derivavam de infecções excepcionais por cepas muito virulentas, cuja intensidade poderia variar de uma cepa infectante para outra, para cada um dos quatro sorotipos conhecidos do vírus do dengue<sup>12</sup>. Outros autores apresentaram a hipótese de que a associação entre infecção por dengue e uma infecção parasitária preexistente com elevados números de imunoglobulinas IgE seria uma condição favorecedora de formas clínicas graves, todavia, não foram desenvolvidas investigações para demonstrar esta possibilidade patogênica<sup>13</sup>.

Após estudarem uma importante epidemia de FHD em Cuba, Kourí e cols.<sup>14</sup> propuseram a hipótese integral que considera a coexistência de indivíduos susceptíveis, a alta densidade vetorial, bem como a sequência e amplitude dos sorotipos circulantes, como fatores que aumentam a possibilidade de infecção dos indivíduos. Uma vez infectados, a virulência da cepa - fator ligado ao vírus - as características individuais, como idade, sexo, estado nutricional, doenças crônicas e intensidade da resposta imunológica - fatores relacionados ao hospedeiro - influenciariam no desfecho do agravo.

Com esta perspectiva de incluir várias dimensões na explicação da ocorrência de epidemias da FD, com conseqüente aumento das formas graves, outro autor<sup>15</sup>



considera que a existência de fatores macrodeterminantes - tanto físico (altitude inferior a 2.200 metros, temperatura entre 15°C a 40°C, umidade relativa do ar de alta a moderada), como social (densidade da população, migração, urbanização, qualidade do abastecimento de água, dentre outros) - contribui com a produção de espécies vetoras (*Aedes aegypti*), resultando em maior ocorrência de infecção pelo vírus do dengue. Por sua vez, os fatores microdeterminantes - ligados aos indivíduos e ao vírus - teriam uma relação direta com a patogenia da doença, influenciando na manifestação clínica e na apresentação das formas graves. Dentre as características dos indivíduos, estariam o estado nutricional, a idade, o sexo, a etnia, as enfermidades crônicas, a nutrição e os fatores genéticos. Em relação ao vírus, estariam influenciando o sorotipo circulante, a introdução de novos sorotipos, o nível de viremia, a virulência das cepas, o tipo de sequência dos sorotipos e a variação genética<sup>15</sup>.

Na verdade, essas hipóteses integralizadoras foram amadurecidas a partir das teorias de Halstead e Rosen, pois, sem deixar de considerar aspectos já apontados por estes dois estudiosos, incluíram outras dimensões, até então não abordadas, a fim de dar conta de toda a complexidade que envolve a ocorrência das formas graves do dengue.

Mais recentemente as doenças crônicas têm sido sugeridas como possíveis fatores de risco para a FHD. Em Cuba, a asma brônquica, a anemia falciforme e o diabetes *mellitus* foram identificados como fatores individuais de risco para as formas graves da doença<sup>7</sup>, enquanto no Brasil um estudo observou uma maior prevalência

de FHD entre indivíduos hipertensos<sup>16</sup>. Essas evidências foram resultantes de estudos de série de casos, portanto, são necessárias outras pesquisas - cujos desenhos sejam capazes de verificar a existência de risco para a FHD entre os portadores dessas comorbidades.

Outros autores demonstraram que indivíduos negros parecem ser menos susceptível a FHD, enquanto a raça branca se constitui um fator de risco para a doença<sup>17, 18,19</sup>. Para compreender essa associação entre cor da pele e risco de FHD é preciso observar a questão pelos diversos ângulos que envolvem os indivíduos, como as características biológicas, a genética, a ancestralidade e até mesmo o contexto social.

Assim, à luz do conhecimento até aqui acumulado, é possível afirmar que muitos são os fatores que contribuem para a ocorrência da FHD, entretanto, o que determina que alguns indivíduos infectados cursem com formas brandas da doença, enquanto outros desenvolvem as formas graves, permanece ainda desconhecido.

Embora o número de casos de FHD corresponda a no máximo 4% do total de pessoas com dengue, em números absolutos podem representar um quadro assustador, devido à gravidade do quadro clínico apresentado pelos pacientes. Em 1981, por exemplo, foram registrados em Cuba, 10.312 casos e 158 óbitos por FHD<sup>7</sup>. A partir de então, o número de FHD no continente apresentou um crescimento quase linear, com registro de milhares de casos apresentados sob a forma epidêmica ou de casos isolados. Presentemente, os países que mais vêm contribuindo com o maior

número de casos de FHD nas Américas são Venezuela, México, Cuba, Colômbia, Nicarágua e Brasil<sup>13</sup>.

No atual contexto epidemiológico do Brasil, até o ano 2000, quando circulavam no país apenas o DENV1 e o DENV2, foram registrados cerca de 900 casos de FHD, contudo, após a introdução do sorotipo DENV3, em 2002 o Brasil registrou um número de casos de FHD nunca antes observado - 2.234 em adultos e 409 em crianças. A partir de então, o número de casos de FHD diminuiu, contudo, a doença voltou a preocupar e, em 2008, o Brasil sofreu a maior epidemia de sua história, com 1.881 casos de FHD em adultos e 1.688 em crianças. Este fato representou a mais relevante epidemia de FHD ocorrida no Continente Americano nos últimos anos.

Neste contexto, esta Tese versa sobre a FHD, abordando, em sua essência, alguns fatores de risco individuais, bem como aspectos do atual contexto epidemiológico desta doença em nosso país.

## REFERÊNCIAS

1. World Health Organization (WHO). Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, and control. Geneva: WHO; 1986.
2. Pan American Health Organization (PAHO). Guidelines for prevention and control of dengue and dengue haemorrhagic fever in the Americas. Washington, DC: PAHO; 1994.
3. World Health Organization. Dengue Haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. 2 edn. Geneva: WHO; 1997.
4. Rigau-Pérez JG. Severe dengue: the need for new case definitions. Lancet Infect Dis 2006 may; 6(5): 297 - 302.

5. Halstead SB, Nimmannitya S, Cohen SN. Observations related to pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. IV. Relation of disease severity to antibody response and virus recovered. *Yale J Biol Med* 1970 apr; 42(5): 311-28.
6. Halstead SB, Chow J, Marchette NJ. Immunologic enhancement of dengue virus replication. *Nat New Biol* 1973; 243: 24-6.
7. Bravo, JR, Guzmán MG, Kourí GP. Why dengue haemorrhagic fever in Cuba? 1. Individual risk factors for dengue hemorrhagic fever/ dengue shock syndrome (DHF/DSS). *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1987; 81: 816-820.
8. Guzmán MG, Kourí G, Bravo J, Soler M, Martínez E. Sequential infection as risk for FHD; SSD during the 1981. Dengue Haemorrhagic Cuban epidemic. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1992; 86(3): 367.
9. Thein S, Aung MM, Shwe TN, Aye M, Zaw A, Aye K et al. Risk factors in Dengue shock syndrome. *Am J Trop Hyg* 1997; 56 (5): 566-572.
10. Kouri GP, Guzman MG, Bravo JR et al. Dengue Hemorrhagic fever/dengue shock syndrome: lessons from the Cuba epidemic. *Bul World Health Organ* 1989; 67: 375.
11. Cordeiro MT, Schatzmayr HG, Nogueira RMR, Oliveira VF, Melo WT, Carvalho EF. Dengue and dengue hemorrhagic fever in the State of Pernambuco, 1995-2006. *Rev Soc Bras Med Trop* 2007; 40(6): 605-11.
12. Rosen, L. The Emperor's new clothes revisited, or reflections on the pathogenesis of dengue hemorrhagic fever. *Am J Trop Med Hyg* 1977; 26: 337-43.
13. Torres EM. Dengue: a patogenia. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2005. Cap. 3.
14. Kourí GP, Guzmán MG, Bravo JR et al. Dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome: lessons from the Cuba epidemic. *Bul World Health Organ* 1989; 67: 375.
15. Organização Panamericana da Saúde (OPAS). Dengue y dengue hemorrágico em las Américas: guías para su prevención y control. Washington, D. C.: a Organização; 1995. 109p. (Publicación científica, 548)
16. Cunha, RV. Aspectos clínicos e epidemiológicos da infecção pelos vírus dengue em áreas endêmicas do Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina tropical* 1 (4): 409-410, jul-ago, 1998.

17. Sierra B de la C, Koury G, Guzmán, MG. Race: a risk factor for dengue hemorrhagic fever. *Arch Virol* 2007; 152: 533-4216.
18. Halstead SB, Streit TG, Lafontant JG, Putvatana R, Russel K, Sun W et al. Haiti: absence of dengue haemorrhagic fever despite hyper endemic dengue virus transmission. *Am J Trop Med Hyg* 2001; 65 (3): 180-3.
19. Blanton RE, Silva LK, Morato VG, Parrado AR, Dias JP, Melo PS et al. Genetic ancestry and income are associated with dengue hemorrhagic fever in a highly admixed population. *Eur J Hum Gen* 2008; 16: 762-765.

## **ARTIGO 1**

### **Mudanças no padrão epidemiológico da Febre Hemorrágica do Dengue no Brasil após a introdução do DENV3**

## RESUMO

**Introdução:** A partir da introdução do DENV3, no final do ano 2000, e a intensa circulação deste sorotipo nos anos subsequentes, algumas importantes mudanças na epidemiologia e expressão clínica do dengue passaram a ser observadas no Brasil.

**Objetivo:** Analisar a relação entre a introdução do sorotipo DENV3 no Brasil e as mudanças no padrão de ocorrência da FHD, no período de 2001 a 2008.

**Métodos:** Estudo ecológico, de agregados espaço-temporal, conduzido a partir dos casos, internamentos e óbitos por FHD no Brasil, entre 2001 a 2008, utilizando região geográfica e ano-calendário como unidades de análise. A evolução temporal da FHD foi analisada a partir da comparação da magnitude dos coeficientes anuais de incidência, hospitalização, mortalidade e letalidade, segundo a idade, por região geográfica. A existência de associação entre a variável de exposição (idade) e as variáveis de efeito (incidência, hospitalização, mortalidade e letalidade por FHD) foi avaliada mediante estimativa do Risco Relativo (RR), tomando como referência o grupo de menores de 15 anos. Os programas Epi-info (versão 6) e o SPSS (versão 13.0) foram empregados para a análise dos dados.

**Resultados:** A linha de tendência da incidência da FHD no Brasil foi semelhante à linha de tendência da incidência FD, embora com menor magnitude. Ambas apresentaram elevação em 2002, seguida de um declínio em 2004, voltando a crescer a partir de 2005. Entre 2001 e 2008, foram notificados no Brasil 11.064 casos de FHD. O Risco Relativo inicialmente caracterizado por associações negativas entre a ocorrência de FHD e idade inferior a 15 anos (RR=0,38 em 2001) aumentou linearmente, atingindo, em 2008, um valor quase cinco vezes maior entre as crianças (RR=3,16), quando comparado aos adultos, em relação ao mesmo período. A taxa de hospitalização por FHD foi mais elevada entre os indivíduos com idade igual ou superior a 15 anos até o ano de 2006, contudo, nos anos 2007 e 2008 o RR de hospitalização entre crianças foi 2,05 e 3,27, respectivamente, quando comparados aos adultos. Entre 2001 a 2006, o RR de óbitos por FHD foi maior entre os adultos, entretanto, a partir de 2007, as crianças passaram a ser o grupo de maior risco de morrer (RR = 1,20), alcançando RR= 2,20 em 2008. Com exceção do ano 2004, a letalidade foi maior entre os adultos em todo o período.

**Discussão:** Os resultados indicam um deslocamento do risco e da gravidade da FHD para os menores de 15 anos, seis anos após a introdução do DENV3 no país. O período entre 2001 a 2006 foi caracterizado pela predominância dos casos de FHD em adultos, enquanto os anos de 2007 e 2008 foram marcados por elevação da incidência, mortalidade e hospitalização em crianças que passaram a ser o grupo de maior risco. A diminuição dos casos de FHD entre adultos, observada nos anos 2007 e 2008, pode ter resultado da alta imunidade de grupo entre esses indivíduos. O atual cenário da FHD no Brasil parece sinalizar para uma tendência de permanência do maior risco entre crianças.

**Considerações finais:** As repercussões no perfil epidemiológico, mensuradas pela magnitude e gravidade da doença, apontam para a necessidade de aportar subsídios que venham contribuir no aprimoramento de protocolos de manejo dessas crianças, na perspectiva de redução da morbi-mortalidade por dengue severo.

Palavras-chave: incidência; mortalidade; letalidade; febre hemorrágica da dengue.

## ABSTRACT

**Introduction:** Following the introduction of DENV3 at the end of 2000 and the intense circulation of this serotype in the ensuing years, some important changes began to appear in the epidemiology and clinical expression of dengue in Brazil.

**Objective:** To analyze the relationship between the introduction of the DENV3 serotype in Brazil and the changes in the pattern of occurrence of dengue hemorrhagic fever (DHF) that took place between 2001 and 2008.

**Methods:** An ecological study of space-time aggregates, based on cases, hospitalizations and deaths resulting from DHF in Brazil between 2001 and 2008, using the geographical region and calendar year as analysis units. The temporal evolution of DHF was analyzed by comparing the magnitude of the annual coefficients of incidence, hospitalization, mortality and lethality according to age, by geographical region. The existence of an association between the exposure variable (age) and the effect variables (the incidence, hospitalization, mortality and lethality of DHF) was evaluated by calculating relative risk (RR), taking the group of individuals under 15 years of age as a reference. The Epi-Info software program, version 6, and the SPSS statistical software program, version 13.0, were used in the data analysis.

**Results:** The trend line of the incidence of DHF in Brazil was similar to the trend line of the incidence of dengue fever (DF), although the magnitude of the event was lesser. Both increased in 2002, then declined in 2004 and increased once again in 2005. Between 2001 and 2008, 11,064 cases of DHF were notified in Brazil. The relative risk initially characterized by negative associations between the occurrence of DHF and age under 15 years (RR=0.38 in 2001) increased linearly, reaching an almost five-fold higher figure among children in 2008 (RR=3.16) compared to adults for the same period. The hospitalization rate for DHF was higher among individuals aged  $\geq 15$  years up to 2006; however, in 2007 and 2008, the RR of hospitalization among children was 2.05 and 3.27, respectively, when compared to adults. Between 2001 and 2006, the RR of deaths from DHF was greater among adults; however, from 2007 onwards children became the group with the highest risk of death (RR=1.20), reaching an RR of 2.20 in 2008. With the exception of 2004, lethality was greater among adults throughout the entire period.

**Discussion:** Six years after the introduction of DENV3 into the country, findings show a change in severity of DHF and risk displacement towards the under 15-years age-group. The period between 2001 and 2006 was characterized by a predominance of DHF cases in adults, whereas in 2007 and 2008 incidence, mortality and hospitalization markedly increased in children, who then became the group at greatest risk. The reduction in the cases of DHF among adults seen in 2007 and 2008 may have resulted from the high group immunity of these individuals. The current scenario of DHF in Brasil appears to signal a trend towards maintaining this higher risk in children.

**Final comments:** Repercussions in the epidemiological profile measured by the magnitude and severity of the disease suggest a need to introduce subsidies that would contribute towards improving protocols for the management of these children with the objective of reducing morbidity and mortality resulting from severe dengue.

**Key words:** incidence; mortality; lethality; dengue hemorrhagic fever.



## INTRODUÇÃO

Registros da ocorrência de formas graves do dengue datam de antes do século XVIII, sob a forma de relatos esporádicos de uma doença hemorrágica acompanhada de febre, cefaléia, dores musculares, dores articulares, vômitos, astenia e manifestações hemorrágicas, que se apresentava sob a forma de severas epidemias. Contudo, somente a partir da Segunda Guerra Mundial - que favoreceu a circulação de vários sorotipos em uma mesma área geográfica, produzindo vários surtos de uma febre hemorrágica - a doença foi identificada como uma forma do dengue e denominada de Febre Hemorrágica do Dengue (FHD)<sup>1</sup>. Desde então, vem ganhando importância epidemiológica em vários países do mundo, devido ao crescente agravamento da situação evidenciado pelo incremento na magnitude da incidência e da letalidade<sup>2,3</sup>.

Atualmente a FHD atinge o Sudeste Asiático, China, Austrália, África, Oriente Médio e o Continente Americano, incluindo as ilhas do Caribe. Estima-se que cerca de 2,5 bilhões de pessoas vivem em áreas de risco para infecção pelos vírus do dengue e, embora apenas de 0,5% a 4% dos casos notificados de febre do dengue (FD) correspondam às formas graves da doença, anualmente são notificados, aproximadamente, 500.000 casos novos de FHD, dos quais cerca de 22.000 são fatais<sup>4</sup>.

Existem evidências de que o risco de ocorrência da FHD se eleva quando há circulação simultânea de mais de um sorotipo do vírus do dengue e consequente aumento da frequência de casos de infecção secundária. Isto ocorreria em função do

indivíduo sensibilizado pela segunda infecção poder ter ampliada sua resposta imunológica (Antibody Dependent Enhancement-ADE)<sup>5,6</sup>. Por outro lado, alguns estudos têm indicado que outros fatores também podem estar relacionados com as manifestações clínicas das formas hemorrágicas do dengue, tais como virulência das cepas do agente, comorbidade, genética, estado nutricional, entre outros<sup>7-9</sup>.

No Brasil, apesar da circulação simultânea dos sorotipos DENV1 e DENV2 e das sucessivas epidemias de dengue entre 1990 e 2000, houve relativamente poucos casos de FHD. Nesse período, foram registrados cerca de 900 casos desta forma da doença, com letalidade abaixo de 5%<sup>10,11</sup>. Contudo, a partir da introdução do DENV3, no final do ano 2000, e a intensa circulação deste sorotipo, nos anos subsequentes passaram a ser observadas algumas importantes mudanças na epidemiologia e expressão clínica do dengue neste país.

Considerando a relevância do conhecimento e da compreensão do padrão epidemiológico de uma doença para nortear a elaboração de estratégias e de medidas voltadas para redução da sua morbimortalidade, o presente artigo tem como objetivo analisar a relação entre a introdução do sorotipo DENV3 no Brasil e as mudanças no padrão de ocorrência da FHD, no período de 2001 a 2008.

## **MÉTODOS**

### Área do estudo

O Brasil ocupa 47% da extensão territorial da América do Sul. Em 2007, sua população era estimada em 183.987.291 habitantes, distribuída em 8.547.403 km de área geográfica, dividida em cinco regiões: Norte, Nordeste, Sul, Sudeste e Centro-

Oeste<sup>12</sup>. É um país de clima tropical e subtropical, cortado ao norte pela linha do Equador e ao sul pelo Trópico de Capricórnio, situado entre os paralelos 5° 16' de latitude norte e 33° e 44' de latitude sul<sup>13</sup>, ou seja, em uma área onde o principal transmissor da doença - *Aedes aegypti* - encontra-se amplamente disseminado.

#### Desenho do estudo

Estudo ecológico, de agregados espaço-temporal, conduzido a partir dos casos, internamentos e óbitos por FHD no Brasil, entre 2001 a 2008.

#### Fonte de dados

Do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan) foram obtidos os dados sobre os casos e óbitos por FD e FHD, utilizando as informações da Ficha Individual de Investigação. Dados de hospitalização por FHD - CID 10 A91 - foram coletados do Sistema de Informação Hospitalar (SIH-SUS), enquanto os dados populacionais foram procedentes do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE)<sup>12</sup>.

#### Critério de inclusão

Foram incluídos no estudo todos os casos encerrados no Sinan, pela vigilância epidemiológica, como FHD.

#### Variáveis do estudo

Os coeficientes anuais de incidência, hospitalização, letalidade e mortalidade por FHD foram as variáveis de efeito analisadas. A idade foi considerada como exposição (fator de risco e de gravidade). Para possibilitar a comparação dos

resultados deste estudo com aqueles da maior parte da literatura pesquisada, esta variável foi estratificada em menor de 15 anos (crianças) e maior ou igual a 15 anos (adultos). Para cálculo da incidência, considerou-se o número de casos de FHD registrados no Sinan, em relação a população total (por 100.000 habitantes). A mortalidade foi calculada pela proporção - número de óbitos registrados no Sinan, em relação a população total (por 100.000 habitantes). Para cálculo da letalidade, considerou-se o número de óbitos por FHD em relação ao total de casos confirmados por esta forma da doença, multiplicado por 100 (%). O coeficiente de hospitalização foi construído a partir do número de hospitalizações por FHD registrados no SIH/SUS, dividido pela população total, multiplicado por 100.000.

#### Unidades de análise

Utilizaram-se como unidades de análise o ano-calendário, a população total e dos grupos etários  $< 15$  e  $\geq 15$  anos, referentes ao Brasil e às suas cinco regiões.

#### Análise dos dados

A evolução temporal (2001 a 2008) da FHD foi analisada a partir da comparação da magnitude dos coeficientes anuais de incidência, hospitalização, mortalidade e letalidade, segundo a idade, por região geográfica. Além disso, foi feita inspeção visual das oscilações, porventura existentes, nas curvas de tendência.

A existência de associação entre a variável de exposição (idade) e as variáveis de efeito (incidência, hospitalização, mortalidade e letalidade por FHD) foi avaliada mediante estimativa do Risco Relativo (RR), tomando como referência o grupo de menores de 15 anos. Por se tratar de uma doença grave, considerou-se que os casos e

óbitos de FHD notificados nos referidos sistemas de informação representam a população total, desse modo não foi utilizado teste estatístico para verificar a existência de diferença nos indicadores analisados entre os dois grupos etários.

Os programas Epi-info 6-(versão 6.01) 2000 (Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Estados Unidos) e o SPSS (versão 13.0) foram empregados para a análise dos dados.

## RESULTADOS

Pode-se observar que, entre 2001 e 2008, a incidência da FHD no Brasil apresentou tendência semelhante à da FD, embora a primeira com magnitude bastante inferior. Ambas apresentaram elevação em 2002, seguida de um declínio em 2004, voltando a crescer a partir de 2005. Nesse período, a maior incidência da FD ocorreu em 2002 (360,0 casos /100.000 habitantes) enquanto a FHD atingiu o seu maior patamar em 2008 com cerca de 2,70 casos /100.000 habitantes (Figura 1).

Dos 11.064 casos de FHD notificados no Brasil no período analisado, 67,29% (7.445/11.064) ocorreram em indivíduos com idade igual ou superior a 15 anos. Entretanto, no período de 2001 a 2006 a proporção de adultos acometidos por FHD correspondeu a 82,46% (4.869/5.905) enquanto que em 2007 esta proporção foi reduzida para 49,93% (2.576/5.159). Considerando todo o período do estudo, nota-se que a razão de casos de FHD <15 anos/ $\geq$ 15 anos sofreu um aumento de cerca de 700%, passando de 0,16 crianças para cada adulto em 2001, para 1,11 em 2008. O Risco Relativo, inicialmente caracterizado por associações negativas entre a

ocorrência de FHD e idade inferior a 15 anos (RR=0,38 em 2001), aumentou exponencialmente, atingindo, em 2008, um RR=3,16 em 2008 (Tabela 1).

No Brasil como um todo, os anos de maior risco de FHD entre os menores de 15 anos foram observadas em 2007 (1,25) e 2008 (3,97), quando esses coeficientes ultrapassaram a média do período em estudo (0,87/100.000). Na Região Nordeste, apesar dos maiores coeficientes de incidência, neste grupo etário, terem ocorrido nos anos 2007 (1,13) e 2008 (2,90), nos anos 2003 (0,70) e 2004 (0,47) esses indicadores ultrapassaram os coeficientes do Brasil (0,29 e 0,05, respectivamente). Na Região Norte, com exceção dos anos 2002 e 2006, os coeficientes de incidência foram maiores do que os do Brasil em todos os anos, enquanto na Região Sudeste esse fenômeno somente ocorreu nos anos 2001 (0,27/0,23) e 2002 (1,33/0,79). A Região Sul registrou os índices mais baixos do país em todo o período, sendo o maior índice 0,04/100.000. Na Região Centro-Oeste os anos de maior risco para o grupo menores de 15 anos foram 2003 (0,68) e 2005 (0,41), anos que também ultrapassaram os coeficientes do país (0,29 e 0,17, respectivamente) (Tabela 2).

Entre os adultos, o maior coeficiente de incidência alcançado no país foi registrado na Região Sudeste, em 2002, com cerca de três casos /100.000 indivíduos com idade igual ou superior a 15 anos. Este ano também foi o de maior risco entre os adultos na Região Centro-Oeste (1,17/100.000). Na Região Nordeste, com exceção dos anos 2002 e 2005, estes coeficientes ultrapassaram os do país durante todo o período, sendo que o maior coeficiente (1,63/100.000) ocorreu em 2003. Na Região Sul o maior coeficiente de incidência entre indivíduos com idade igual ou superior a

15 anos ocorreu em 2007 (0,06/100.000) permanecendo abaixo de 0,10/100.000 em todo o período (Tabela 2).

Comparando a tendência da incidência da FHD no Brasil, entre os menores de 15 anos com a tendência desta doença entre os indivíduos com 15 anos e mais, verifica-se que, até 2006, apesar de ter havido um desenho semelhante na linha de tendência, a magnitude desse indicador foi sempre maior entre os adultos. Entretanto, a partir de 2006 a magnitude passa a ser claramente maior entre os menores de 15 anos, alcançando inclusive um patamar ainda não atingido no país (Figura 2).

Até o ano de 2006, o coeficiente de hospitalização por FHD foi mais elevado entre os adultos, variando de 0,16 a 0,86 internações/100.000 indivíduos com idade igual ou superior a 15 anos. A partir de 2007, esse indicador passou a ser mais elevado entre as crianças, registrando um incremento de 326%, (1,15 internações por FHD/100.000 < 15 anos), quando comparado ao ano de 2006 e de 483% em 2008 quando comparado com o ano 2007 (Tabela 1).

Do total de óbitos por FHD (571) ocorridos no período estudado, 76,2% (435/571) foram de indivíduos com idade igual ou superior a 15 anos. De 2001 a 2006, esta proporção permaneceu maior entre os adultos (89,2% ou 281/315), entretanto, em 2007 os óbitos entre maiores de 15 anos corresponderam a 60,1% (154/256). A razão número de óbito <15 anos/  $\geq$  15 anos variou de 0,14 crianças para cada adulto, em 2001, a 0,78 em 2008 representando um aumento de 457,1%. O coeficiente de mortalidade por FHD entre crianças alcançou o maior valor em 2008

(0,14 óbitos < 15 anos/100.000 indivíduos da mesma faixa etária), enquanto que entre os adultos o maior risco foi de 0,09/100.000 habitantes, em 2002. O Risco Relativo de morte por FHD entre os < de 15 anos foi maior nos anos 2004, 2007 e 2008 (1,19, 1,20 e 2,20, respectivamente). Com exceção do ano de 2004, a letalidade foi maior entre os adultos em todo o período, variando de 3,25% a 10,85% entre adultos e de 2,20% a 7,14% entre crianças (Tabela 3).

## DISCUSSÃO

O primeiro impacto observado na ocorrência da FHD no Brasil, após a introdução do DENV3, foi a abrupta elevação da magnitude da sua incidência no ano 2002, quando comparada aos níveis registrados no país na década de 1990. Também chama atenção a tendência deste indicador que, inicialmente manteve o padrão de maior incidência entre os adultos, a exemplo do que vinha sendo registrado até então<sup>10, 14</sup>, porém foi marcado por uma acentuada alteração na sua distribuição etária, de tal forma que, em 2007, as crianças passaram a se constituir no grupo de maior risco de ocorrência desta forma severa do dengue. Este fato, aliado ao expressivo aumento no coeficiente de hospitalização, vêm delineando um novo perfil etário da FHD no país. A epidemia de dengue que atingiu o Rio de Janeiro em 2008 - e que vitimou muitas crianças - sugere que este perfil está se estabelecendo e pode não ser transitório<sup>14, 15</sup>.

Estas mudanças podem ser entendidas ao se considerar a seqüência da circulação, no tempo, dos sorotipos do vírus do dengue no Brasil, visto que esta se reflete na susceptibilidade dos indivíduos em suas diferentes faixas etárias. Assim, ao



ser introduzido no país no final do ano 2000, quando mais 3.000 municípios estavam infestados pelo *Aedes aegypti*, o DENV3 encontrou a população brasileira totalmente susceptível a este sorotipo, com contingentes expressivos desta população com anticorpos para DENV1 e DENV2, que vinham co-circulando intensamente no país por mais de 11 anos<sup>16-18</sup>. Esta situação, de acordo com a teoria das infecções seqüenciais<sup>5</sup> é um dos principais fatores de risco para ocorrência de FHD e, portanto, pode explicar a sua súbita elevação da incidência observada em 2002.

No que se refere ao aumento brusco do risco de FHD entre crianças - observado a partir de 2007, após o recrudescimento da circulação do DENV2 em 2006 - é possível que tenha se dado devido à já existente imunidade contra este sorotipo em significativa parcela dos adultos, situação esta não observada na coorte de crianças nascidas a partir do ano 2000, as quais também tiveram pouco contato com o DENV2 e DENV1. No entanto, estas crianças tinham sido intensamente expostas ao DENV3, sorotipo que se expandiu rapidamente no período de 2001 a 2005, passando a representar mais de 94% dos isolamentos do vírus do dengue no país<sup>19</sup>. Com o recrudescimento do DENV2 a partir de 2006, este agente passou a circular com maior intensidade entre as crianças, tornando-as mais suscetíveis ao desenvolvimento da FHD, pois muitas delas, já possuíam anticorpos heterotípicos para o DENV3, naquela ocasião.

As diferenças regionais observadas na magnitude de incidência da FHD possivelmente refletem a velocidade de deslocamento do DENV3 pelo DENV2, em cada um desses espaços. Teixeira *et al.*<sup>15</sup> ao analisarem a tendência de internamentos

por FHD no Brasil de 1998 a 2007 observaram que, neste último ano, três cidades do Nordeste brasileiro foram as que mais contribuíram com as hospitalizações de crianças, fato que pode corroborar as diferenças na velocidade de deslocamento do vírus nos espaços urbanos.

Em 2002 o coeficiente de incidência da FHD foi quase duas vezes maior que o coeficiente de hospitalização. Considerando que pela gravidade da doença a quase totalidade dos casos necessita de internação hospitalar, este fato pode indicar que, ou a expressão da doença foi mais branda, ou foi utilizada outra classificação internacional de doença (CID 10) na causa da internação, registrada nas autorizações de internação hospitalar (AIH) que são a base do SIH/SUS. Todavia, em 2008, ocorreu um fenômeno oposto, quando o coeficiente de internação por FHD superou o coeficiente de incidência. É possível que naquele ano, marcado por uma grande epidemia de FHD, tenha havido uma maior sensibilidade para a classificação dos casos hospitalizados. Possivelmente as AIH registraram FHD, mas estes, não se enquadravam nos critérios utilizados pela vigilância epidemiológica para classificação final dos casos. Nos demais anos as diferenças entre esses coeficientes foram mais discretas. O aumento de quase cinco vezes no coeficiente de internamentos por FHD em crianças em 2007, quando comparado com a média dos anos anteriores, aponta para o aumento da gravidade dessa forma da doença neste grupo populacional.

Embora no presente estudo a letalidade por FHD entre crianças tenha sido menor que em adultos - exceto em 2004 - o aumento desse indicador, ainda que

discreto, bem como do coeficiente de mortalidade nos anos 2006 a 2008, indicam que, de fato, o dengue no Brasil está passando a se expressar de forma mais grave em idades mais precoces. Esta hipótese pode ser corroborada com a epidemia de 2008 no Rio de Janeiro, quando cada óbito de adulto correspondeu cinco óbitos em crianças.

Apesar das limitações e dos possíveis vieses decorrentes da utilização de dados secundários, tais como subnotificação e não uniformidade dos critérios diagnósticos<sup>20</sup>, por se tratar de um estudo que analisou uma série histórica - ainda que de apenas oito anos - seus resultados permitiram evidenciar as principais mudanças no padrão de ocorrência de FHD no Brasil, no início do século XXI. Isto foi possível porque a epidemiologia do dengue é muito dinâmica e a força de transmissão de cada um dos seus sorotipos - na medida em que são introduzidos em cada espaço geográfico - podem produzir sensíveis modificações possíveis de serem capturadas mesmo em pequenos períodos de tempo.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O atual cenário da FHD no Brasil - que sinaliza para uma tendência de maior risco e gravidade na população infantil - indica a necessidade de se adotar medidas de organização e melhoria da qualidade da assistência médica a este grupo populacional. Entretanto, estudos sobre possíveis fatores de risco associados à FHD, além da presença de anticorpos heterotípicos, precisam ser conduzidos no propósito de aportar subsídios que venham contribuir no aprimoramento de protocolos de manejo dessas crianças, na perspectiva de redução da morbi-mortalidade por dengue severo.

## REFERÊNCIAS

1. Gubler DJ. Dengue and dengue hemorrhagic fever: its history and resurgence as a global health problem. *In: Gubler D.J., Kuno G., editors. Dengue and dengue hemorrhagic fever. New York: CAB International; 1997. p.1-221.*
2. Chareonsook O, Foy HM, Teeraratkul A, Silarug N. Changing epidemiology of dengue hemorrhagic fever in Thailand. *Epidemiology Infection* 1999; 122:161-166.
3. Torres, Eric Martínez. Dengue. Rio de Janeiro: editora Fiocruz, 2005. 344p. Capítulo 3.
4. World Health Organization (WHO). Impact of Dengue <http://www.who.int/csr/disease/dengue/impact/en/index.html>, acessado em 30/12/2008.
5. Halstead SB. The pathogenesis of dengue. *Molecular Epidemiology in Infections Disease. Am J Epidemiol* 1981; 114 (5):632-48
6. Halstead SB, Dengue in the Americas and Southeast Asia: do they differ? *Rev Panam Salud Publica* 2006; 6:407-15.
7. Bravo, JR, Guzmán MG, Kourí GP. (1987). Why dengue haemorrhagic 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*, 81, 816-820.
8. Guzmán MG, Kouri G. Dengue:an update. *The Lancet Infect diseases* 2002; 2(1):33-42.
9. Blanton RE, Silva LK, Morato VG, Parrado AR, Dias JP, Melo PS, Reis EAG, Goddard KAB, Nunes MRT, Rodrigues SG, Vasconcelos PFC, Castro JM, Reis MG, Barreto ML, Teixeira MG. Genetic ancestry and income are associated with dengue hemorrhagic fever in a highly admixed population. *Eur J Hum Gen* 2008; 16, 762-765.
10. Siqueira-Jr. JB, Martelli CT, Coelho GE, Simplício ACR, Hatch DL. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever, Brazil, 1981-2002. *Emerg Infec Diseases* 2005; 11(1): 48-53.
11. Teixeira MG, Costa MCN, Barreto ML, Mota E. Dengue and dengue hemorrhagic fever epidemics in Brazil: what research is needed based on trends, surveillance, and control experiences? *Cad Saúde Pública* 2005; 21(5):109-18, 1307-15.
12. [http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/contagem2007/contagem\\_final/tabela1\\_1.pdf](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/contagem2007/contagem_final/tabela1_1.pdf)

13. <http://www.mundogeografico.sites.uol.com.br/brasil05.htm> acessado em 13 de dezembro de 2008
14. Teixeira M G, Costa MCN, Coelho GE, Barreto ML Recent Shift in Age Pattern of dengue Hemorrhagic Fever, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*, v. 14, n.10, p.1663, 2008.
15. Rio de Janeiro. Secretaria de Estado de Saúde e Defesa Civil. Relatório de casos de dengue-2008. Disponível: <http://www.saude.rj.gov.br/>. Acesso em: 1º out. 2008.
16. Vasconcelos PFC, Lima JWO, Travassos da Rosa PA, Timbó MJ, Travassos da Rosa, ES, Lima HR, Rodrigues SG, Travassos da Rosa, JFS. Epidemia de dengue em Fortaleza, Ceará: inquérito soro-epidemiológico aleatório. *Revista de Saúde Pública* 1998; 32 (5):447-454.
17. Teixeira, M. G. et al. Dynamics of dengue virus circulating: a silent epidemics in a complex urban area. *Tropical Medicine and International Health*, v.7, n.9, p.757-762, 2002.
18. Vasconcelos PFC, Lima JW, Raposo ML, Rodrigues S.G, Travassos da Rosa, JFS, Amorim SMC, Travassos da Rosa ES, Moura CMP, Fonseca AN, Travassos da Rosa, PA. Inquérito soro-epidemiológico na Ilha de São Luís durante epidemia de dengue no Maranhão. *Rev Soc Bras Med Trop* 1999; 32 (2):171-179.
19. Ministério da Saúde/Secretaria de Vigilância em Saúde/Programa Nacional de Controle de Dengue. Planilha de isolamentos do vírus da dengue no Brasil, por município, ano e sorotipos, de 2000 a maio de 2008 (dados cedidos).
20. Medronho, RA; Bloch, KV; Luiz, RR & Werneck, GL. *Epidemiologia*. São Paulo: Editora Atheneu, 2003.

## **TABELAS E FIGURAS**

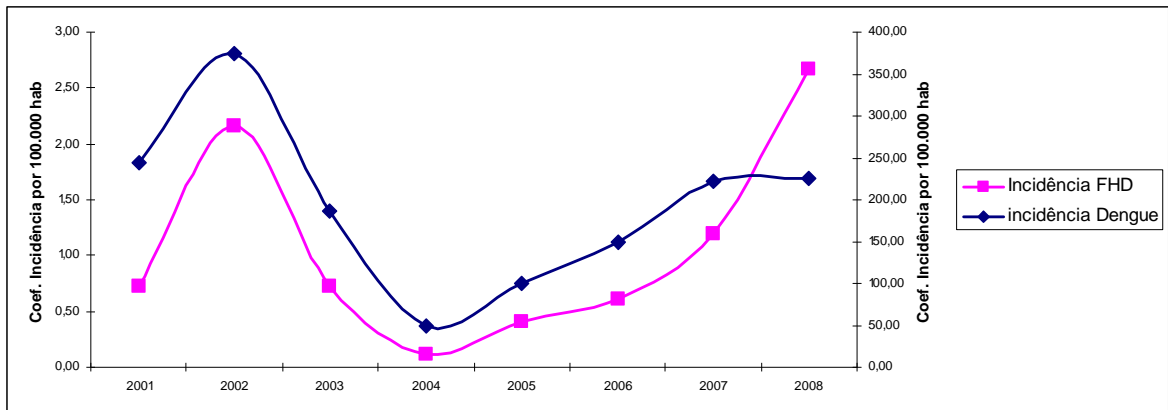


Figura 1 - Coeficiente de incidência dos casos notificados de Dengue e Febre Hemorrágica do Dengue. Brasil, 2001 a 2008.

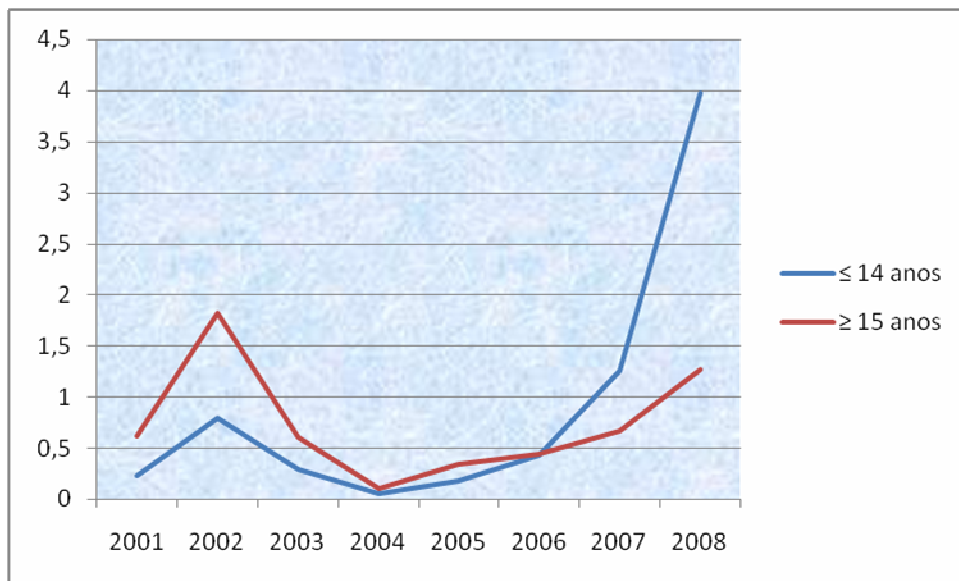


Figura 2. Coeficiente de incidência por 100.000 habitantes dos casos notificados de Febre Hemorrágica do Dengue, segundo a faixa etária. Brasil, 2001 a 2008.

**Tabela 1 - Número de casos notificados de Febre Hemorrágica do Dengue, razão absoluta, coeficiente de incidência, Risco Relativo e taxa de hospitalização, segundo faixa etária e ano de ocorrência. Brasil, 2001 a 2008.**

Ano	Faixa etária (anos)	Nº casos	Razão absoluta	Coeficiente de. Incidência <sub>1</sub>	Risco relativo	Coeficiente de Hospitalização <sup>1</sup>
2001	0 a 14	119	0,16	0,23	0,38	0,03
	≥ 15	753		0,62		0,94
2002	0 a 14	409	0,18	0,79	0,43	0,37
	≥ 15	2234		1,82	-	0,86
2003	0 a 14	154	0,21	0,29	0,49	0,27
	≥ 15	747		0,60	-	0,54
2004	0 a 14	28	0,23	0,05	0,54	0,09
	≥ 15	123		0,10	-	0,16
2005	0 a 14	93	0,21	0,17	0,50	0,18
	≥ 15	439		0,34	-	0,33
2006	0 a 14	233	0,41	0,42	0,96	0,27
	≥ 15	573		0,44	-	0,47
2007	0 a 14	702	0,79	1,25	1,87	1,15
	≥ 15	888		0,67	-	0,56
2008	0 a 14	1881	1,11	3,80	3,16	6,70
	≥ 15	1688		1,20	-	2,05

1 por 100.000 habitantes

2 percentual



**Tabela 2. Coeficiente de incidência de FHD e incidência média do período. Brasil e Regiões, 2001 a 2008.**

<b>Região/Faixa etária</b>	<b>2001</b>	<b>2002</b>	<b>2003</b>	<b>2004</b>	<b>2005</b>	<b>2006</b>	<b>2007</b>	<b>2008</b>	<b>Incidência Média</b>
<b>Brasil</b>									
0 a 14	0,23	0,79	0,29	0,05	0,17	0,42	1,25	3,97	0,87
≥ 15	0,62	1,82	0,60	0,10	0,34	0,44	0,67	1,27	0,73
<b>Norte</b>									
0 a 14	0,43	0,18	0,43	0,13	0,24	0,09	2,68	4,74	0,13
≥ 15	0,70	0,12	0,69	0,23	0,34	0,22	0,99	2,07	0,09
<b>Nordeste</b>									
0 a 14	0,23	0,69	0,70	0,47	0,00	0,37	1,13	2,90	0,14
≥ 15	0,70	1,61	1,63	1,35	0,16	0,82	0,90	1,33	0,11
<b>Sudeste</b>									
0 a 14	0,27	1,33	0,15	0,03	0,01	0,14	0,33	2,22	0,04
≥ 15	0,80	2,91	0,33	0,05	0,07	0,26	0,33	0,78	0,07
<b>Sul</b>									
0 a 14	0,00	0,04	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,001
≥ 15	0,01	0,05	0,02	0,01	0,01	0,01	0,06	0,02	0,002
<b>Centro-Oeste</b>									
0 a 14	0,22	0,58	0,68	0,05	0,41	0,20	0,22	0,08	0,04
≥ 15	0,46	1,17	0,70	0,25	1,00	0,97	1,11	0,14	0,91

**Tabela 3 - Número de óbitos notificados de FHD (critério Sinan), razão absoluta, coeficiente de mortalidade, risco relativo e letalidade, segundo faixa etária e ano de ocorrência. Brasil, 2001 a 2008.**

Ano	Faixa etária (anos)	N óbitos	Razão absoluta	Coeficiente de mortalidade <sup>1</sup>	Risco Relativo	Letalidade
2001	0 a 14	05	0,14	0,01	0,34	4,20
	≥ 15	35		0,03	-	4,65
2002	0 a 14	09	0,08	0,02	0,18	2,20
	≥ 15	116		0,09	-	5,19
2003	0 a 14	04	0,09	0,01	0,21	2,60
	≥ 15	45		0,04	-	6,02
2004	0 a 14	02	0,50	0,004	1,19	7,14
	≥ 15	04		0,003	-	3,25
2005	0 a 14	03	0,08	0,01	0,20	3,23
	≥ 15	36		0,03	-	8,20
2006	0 a 14	11	0,24	0,02	0,58	4,72
	≥ 15	45		0,03	-	7,85
2007	0 a 14	33	0,51	0,06	1,20	4,70
	≥ 15	65		0,05	-	7,32
2008	0 a 14	69	0,78	0,14	2,20	6,58
	≥ 15	89		0,06	-	10,85

<sup>1</sup> por 100.000 habitantes

<sup>2</sup> percentual

## **ARTIGO 2**

### **Uso de pareamento em estudos de caso-controle: limites e possibilidades**

## RESUMO

**Introdução:** O pareamento representa uma técnica que consiste em recrutar, para cada caso (pessoas portadoras de uma doença ou condição específica), um ou mais controles (grupo de pessoas que não sofrem dessa doença ou condição), semelhantes no que se refere a algumas características que não o fator sob investigação, contudo, dúvidas quanto à necessidade, limites e possibilidades de realizar o pareamento, podem surgir ao realizar estudos de caso-controle. **Objetivo:** Sistematizar o conhecimento sobre os problemas, alternativas, vantagens e desvantagens do pareamento em estudos de caso-controle. **Métodos:** Estudo de revisão bibliográfica com caráter eminentemente de atualização do conhecimento em busca de abordagens diferenciadas e questões controversas. Os dados foram coletados no Medline, utilizando as palavras chaves “*matching*” and “*case*” and “*control*”, no período de 1988 a 2009, além de livros e documentos sobre o tema. **Resultados:** Embora tenha sido criado para melhorar a validade dos resultados dos estudos de caso-controle, isto é ajustar as variáveis confundidoras, posteriormente, verificou-se que a principal propriedade do pareamento é aumentar, substancialmente, a eficiência do estudo (precisão da medida de efeito), por permitir uma distribuição homogênea dos fatores confundidores, cuja distribuição desigual entre casos e controles poderia interferir nas estimativas do efeito analisado. Classicamente, dois tipos de pareamento podem ser conduzidos: individual e por frequência. A vantagem de realizar um estudo pareado reside particularmente em situações onde não existem sujeitos suficientes para os estratos - em estudos com pequeno número de casos, ou quando existem muitos níveis na variável confundidora - ou estudos cujas variáveis potencialmente confundidoras são de difícil mensuração. Uma desvantagem é a clássica impossibilidade de se avaliar o papel da variável pareada no contexto do estudo. O superpareamento (*overmatching*) - quando a variável utilizada para a formação dos pares faz parte do processo causal entre exposição e doença (variável interveniente) ou quando a variável está associada muito fortemente à exposição, mas não com a doença - é outro problema que pode ocorrer em estudos pareados, caso alguns cuidados não sejam observados. A análise dos dados nesses estudos vai depender do tipo de pareamento realizado. Em estudos de caso-controle com pareamento individual cada par (formado pelo caso e seu controle) é tratado na análise como um único estrato individual, por isso, a análise deve ser condicional. No pareamento por frequência a análise deve ser não condicional. **Considerações finais:** Embora o pareamento seja uma estratégia factível, seu uso deve ser pensado cuidadosamente e alguns cuidados rigorosamente observados.

Palavras-chave: Estudos de caso-controle; pareamento.

## ABSTRACT

**Introduction:** Pairing is a technique in which for each case (individuals with a specific disease or condition), one or more controls (a group of individuals not suffering from this disease or condition) are recruited who are similar with respect to some characteristics other than the factor of investigation. However, some doubts exist regarding the need for pairing and the limits and possibilities of performing pairing when conducting case-control studies. **Objective:** To systematize knowledge on the problems, alternatives, advantages and disadvantages of pairing in case-control studies. **Methods:** A literature review performed for the purpose of updating knowledge by seeking different approaches and controversial issues. The data were collected on Medline using the key words "matching", "case" and "control" for the period ranging from 1988 to 2009, as well as books and documents on this subject. **Results:** Although this technique was created to improve the validity of findings in case-control studies, i.e. permitting adjustment for confounding variables, it was later found that the principal property of pairing is to substantially increase the efficacy of the study, i.e. the precision of the measurement of effect, since it permits the homogenous distribution of confounding factors whose unequal distribution between cases and controls could interfere with the estimates related to the effect under analysis. Classically, two types of pairing may be performed: individual or by frequency. The advantage of carrying out a paired study lies particularly in situations in which there are insufficient subjects for the strata - in studies with a small sample size or when there are many levels in the confounding variable - or studies whose potentially confounding variables are difficult to measure. One disadvantage is the classic impossibility of evaluating the role of the paired variable within the context of the study. Overmatching, when the variable used to form the pairs is part of the causal process between exposure and disease (intervenient variable) or when the variable is very strongly associated with exposure but not with the disease, is another problem that may occur in paired studies should some precautionary measures not be taken. Data analysis in these studies will depend on the type of pairing performed. In case-control studies with individual pairing, each pair (formed by the case and its control) is treated in the analysis as a single individual stratum; therefore, analysis should be conditional. In frequency pairing, analysis should be non-conditional. **Final comments:** Although pairing is a feasible strategy, its use should be carefully evaluated and some precautionary measures rigorously observed.

**Key words:** case-control studies; pairing.

## INTRODUÇÃO

Desde a segunda metade do século XX que os estudos de caso-controle vêm desempenhando um importante papel na pesquisa observacional. Na década de 1970 passaram a se constituir no principal desenho dos estudos epidemiológicos, contribuindo sobremaneira para o avanço do conhecimento<sup>1</sup>. Desenvolvidos originalmente para investigar causalidade de doenças não infecciosas, especialmente doenças raras, foram gradativamente, sendo utilizados na identificação de fatores de risco de ocorrência de doenças infecciosas. Trata-se de estudos observacionais, individuados, de caráter retrospectivo, onde os autores comparam pessoas portadoras de uma doença ou condição específica (casos) a outro grupo de pessoas que não sofrem dessa doença ou condição (controles), com o propósito de identificar características (exposições ou fatores de risco) que ocorrem em maior ou menor frequência entre esses grupos, estimando uma medida de associação entre a exposição e o desfecho de interesse, a *odds ratio* (OR). Em estudos de doenças raras (prevalência menor do que 10%) essa medida se aproxima do Risco Relativo (RR). Todavia, quando a prevalência da doença é alta este tipo de estudo tende a aumentar a estimativa da associação, levando a um viés na estimativa do risco. Além de serem muito apropriados para a investigação de associações etiológicas, os estudos de caso-controle têm sido aplicados na Saúde Pública, particularmente, em avaliações de impacto de intervenções, conduzidas pelos serviços de saúde. Suas principais vantagens consistem no baixo custo e menor período de tempo para obtenção de resultados, quando comparado aos estudos de seguimento<sup>2,3</sup>.

As estratégias e os critérios utilizados para identificação dos casos, seleção dos controles e obtenção da história de exposição são processos fundamentais que devem ser orientados pelos pressupostos exigidos para este particular desenho de estudo, evitando que se incorra em problemas metodológicos que poderão tornar vulneráveis a validade dos resultados obtidos<sup>4</sup>.

Reconhecidamente, no delineamento dos estudos de caso-controle, a etapa de definição dos critérios de elegibilidade e seleção dos controles se constitui a mais complexa e, muitas vezes, a mais difícil de ser conduzida. As principais dificuldades decorrem da necessidade de estabelecer critérios de seleção baseados no conhecimento existente sobre o problema sob estudo e, obrigatoriamente, serem oriundos da população que deu origem aos casos. Assim, ao se buscar controles na mesma população de origem dos casos, alguns obstáculos podem emergir. Quando os controles são hospitalares, ou seja, oriundos do mesmo hospital onde os casos foram identificados, a própria hospitalização pode ter modificado a exposição devido à doença ou ao tratamento a que foram submetidos, como por exemplo, a mudança prévia de hábitos alimentares, introduzindo assim um viés no estudo. Por outro lado, se os controles forem selecionados da população em geral, esses indivíduos podem não ter motivação suficiente para cooperar com o estudo, pois teoricamente estão saudáveis<sup>5</sup>. Embora haja relato do uso de controles hospitalares e de base populacional em um mesmo estudo, para avaliar a existência de possíveis vieses<sup>6</sup>, na maioria das vezes essa prática pode não ser factível.

O pareamento representa uma técnica que consiste em recrutar, para cada caso, um ou mais controles semelhantes no que se refere a algumas características que não o fator sob investigação (exposição)<sup>2</sup>, contudo, algumas dúvidas quanto à necessidade, limites e possibilidades de realizar o pareamento, podem surgir ao realizar este tipo de estudo de caso-controle. Neste sentido, este artigo tem como objetivo sistematizar o conhecimento sobre este particular desenho de investigação.

### **CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE O PAREAMENTO**

O pareamento pode ser utilizado em vários desenhos de estudo, contudo, é mais comum em estudos de caso-controle. Embora tenha sido criado para melhorar a validade dos resultados desses estudos, isto é, ajustar as variáveis confundidoras, posteriormente, verificou-se que a principal propriedade do pareamento é aumentar, substancialmente, a eficiência do estudo, ou seja, a precisão da medida de efeito, a OR, por permitir uma distribuição homogênea dos fatores confundidores, cuja distribuição desigual entre casos e controles poderia interferir nas estimativas do efeito analisado. Contudo, essa melhora não se dá automaticamente e alguns cuidados devem ser rigorosamente observados<sup>7, 8,9,10</sup>.

À *priori*, o pesquisador deve selecionar os atributos a serem pareados (idade, sexo, vizinhança etc.), considerando o estado da arte, objetivos e características do estudo, atentando para o fato de que o pareamento deve ser sempre feito pela variável de confundimento. Ademais, o pareamento jamais poderá ser realizado pela variável da exposição sob investigação, uma vez que este procedimento tornará os casos semelhantes aos controles e, conseqüentemente, impossibilitará verificar a



associação entre a exposição e o desfecho, independentemente da real direção da associação, pois a OR obtida será igual a 1<sup>8</sup>.

Estudos cuja sazonalidade se constitui um fator importante para a ocorrência do evento, o pareamento deve considerar características da exposição sazonal. Já para as doenças cuja incidência não tem este tipo de comportamento, a variável tempo só será necessária se a população de expostos/não expostos mudar por outras circunstâncias, a exemplo de expressivo movimento de migração<sup>3</sup>.

## **TIPOS DE PAREAMENTO**

Classicamente, dois tipos de pareamento podem ser conduzidos: individual e por frequência. No pareamento individual, os controles são selecionados para cada um dos casos e devem ter exatamente ou aproximadamente a mesma condição e/ou valor do fator de pareamento que os casos<sup>2, 7,8</sup>. Figueiredo *et al.*<sup>11</sup> ao conduzirem um estudo sobre co-morbidades como fatores de risco para Febre Hemorrágica do Dengue (em indivíduos infectados pelo vírus do dengue), consideraram que as doenças crônicas estão distribuídas de forma heterogênea entre as idades, então parearam cada caso selecionado com controles que tinham a mesma idade ou, no máximo, cinco anos a mais ou a menos. Um artigo de revisão avaliando a associação entre exposição aos fatores da dieta e a ocorrência de tumores de cérebro no adulto, identificou 14 artigos de caso-controle pareados, todos realizaram o pareamento por sexo e idade<sup>12</sup>.

Como alternativa, existe o pareamento por frequência ou cota de pareamento que também resulta em uma distribuição igual dos casos e controles, em relação ao

fator a ser pareado, contudo, o processo de recrutamento é conduzido monitorando-se o número de casos e controles em cada estrato da variável de pareamento, de maneira que garanta a mesma proporção de ambos em cada estrato<sup>2, 8,9</sup>. Por exemplo, em um estudo no qual o hábito de fumar foi considerado uma variável confundidora, selecionam-se os controles de acordo com a frequência dos casos em cada um dos níveis da variável (não fuma, fuma até 2 cigarros/ dia, fuma entre 3 a 5 cigarros/dia, fuma mais de 5 cigarros/dia)<sup>9</sup>.

Tipicamente idade, sexo, etnicidade, *status* sócioeconômico, hospital de origem são variáveis usadas para o pareamento individual ou por frequência, por serem potencialmente confundidoras na maioria dos estudos. Contudo, algumas variáveis como relacionamento por sangue e ancestralidade, por exemplo, só podem ser utilizadas nos pareamentos individuais<sup>7</sup>.

Sturmer *et al.*<sup>13</sup> avaliaram o poder e eficiência da medida estimada em estudos de caso-controle. Para tal, os autores compararam resultados de desenhos não pareados com resultados de desenhos pareados por frequência, cujos controles tinham diferentes graus de pareamento. Em todos os cenários investigados a eficiência aumentava ao se utilizar o tradicional pareamento por frequência, havendo maior ganho quando as variáveis a serem pareadas tinham frequência rara e, redução da mesma ou até mesmo desaparecimento, quando a frequência era alta. Todavia, o pareamento por frequência é considerado, por alguns autores, emparelhamento “grosseiro”, visto que qualquer controle desde que do mesmo sexo e faixa etária, por exemplo, está apto a compor um par com o respectivo caso. Esta

situação difere do pareamento “fino”, observado em estudos com pareamento individual, quando os atributos considerados - parentesco, vizinhança, raça - restringem os controles elegíveis a indivíduos específicos<sup>14</sup>.

## VANTAGENS DO PAREAMENTO

A vantagem de realizar um estudo pareado reside particularmente em situações onde não existem sujeitos suficientes para os estratos - estudos com pequeno número de casos, ou muitos níveis na variável confundidora - ou em estudos cujas variáveis potencialmente confundidoras têm distribuição desigual entre os estratos, ou são de difícil mensuração<sup>8, 15, 16</sup>.

Apesar da consagração da análise multivariada para o ajuste das variáveis confundidoras em estudos observacionais, nos estudos de caso-controle o número de variáveis com necessidade de ajuste na modelagem pode ser reduzido devido ao pareamento. Em estudos cujo número de variáveis confundidoras é grande, ou tem muitos níveis, os dados podem ser esparsos em um dado estrato. Ignorar essas variáveis, ou mesmo agrupar os indivíduos em categorias mais amplas, poderá introduzir sérias *bias*, então, a decisão de realizar o estudo pareado irá garantir a distribuição equitativa dos casos e controles em cada célula resultando no aumento da precisão da OR e do intervalo de confiança<sup>8, 10, 14, 17</sup>.

Em estudos epidemiológicos cujos fatores são difíceis de serem quantificados, a exemplo dos ambientais, estilo de vida ou acesso a serviços de saúde, ao se lançar mão do pareamento por controles da vizinhança ou membros da mesma família, torna-se possível o ajuste dessas variáveis que de outra forma seriam de difícil

controle<sup>15, 18</sup>. Em um estudo para avaliar fatores de risco para o tétano neonatal em uma na zona rural do Paquistão, Ahsan *et al.*<sup>19</sup> precisaram ajustar o efeito das possíveis variações nas práticas de parto então, parearam os casos e controles pela área de residência, obtendo maior semelhança entre casos e controles em relação às diferentes práticas de parto e aspectos culturais, que dificilmente poderiam ser mensuradas e ajustadas em um modelo. Em algumas situações, o pareamento será necessariamente requerido para ajustar o confundimento, como por exemplo, os estudos sobre diferenças étnicas e fatores de risco - se existem poucos indivíduos brancos com nível sócioeconômico baixo e poucos indivíduos hispanicos com nível sócioeconômico alto, o pareamento será imprescindível<sup>8</sup>.

Outra conveniência do pareamento ocorre quando não se tem a lista de todos os controles elegíveis, pois na ausência de uma base populacional, esse procedimento pode assegurar a semelhança entre casos e controles por variáveis potencialmente confundidoras desconhecidas<sup>18</sup>.

## **PROBLEMAS E ALTERNATIVAS**

A decisão pelo pareamento deve considerar a eficiência estatística e operacional do estudo. A primeira está relacionada ao poder do estudo ( $1 - \beta$ ) que pode ser alcançada quando o pareamento é feito de forma adequada, ou seja, com base em respaldo teórico que identifique os potenciais confundidores que podem influenciar na medida de associação estimada. Por outro lado, a eficiência operacional diz respeito aos custos, tempo e energia gastos para selecionar os controles.

O pareamento pode ser difícil, caro e demorado para identificar controles com as características necessárias para cada caso. Na medida em que se utiliza maior número de variáveis como critério para a formação dos pares as dificuldades aumentam, podendo levar a ineficiência do estudo. Hansen<sup>20</sup> cita um estudo realizado em 1947 que começou com 671 casos e 523 controles, mas na medida em que o pareamento foi sendo feito por muitas variáveis, apenas 23 controles permaneceram elegíveis para o pareamento. Isto acontece quando o critério é muito rigoroso tornando limitado o número de sujeitos potencialmente elegíveis para o pareamento, conseqüentemente, reduzindo o número de pessoas para compor os estratos e inviabilizando o estudo. Portanto, para evitar exclusão de casos devido ao grande número de variáveis a serem pareadas, recomenda-se não usar mais que três variáveis no pareamento<sup>21</sup>.

Quando os fatores a serem pareados são subdivididos em atributos muito amplos, a exemplo de raça, se classificada apenas em branco e não branco, o confundimento intra-estrato pode ser introduzido no estudo. Nesses casos, ao se utilizar um critério aberto para buscar aumentar as possibilidades dos indivíduos serem pareados, o viés ocorre por impedir a comparação sobre fatores de confundimento embutidos em cada uma das duas categorias. A comparabilidade entre os grupos pode ser alcançada com o uso de critérios de pareamento mais estreitos (brancos, pardos, índios, amarelos, pretos etc.), cuja vantagem consiste, principalmente, em aumentar a similaridade entre casos e controles o que minimiza a possibilidade de confundimento dentro do estrato.

Uma desvantagem que deve ser mencionada nos estudos com pareamento individual é a clássica impossibilidade de se avaliar o papel da variável pareada no contexto do estudo. Por exemplo, em estudos exploratórios, não seria possível estimar a associação entre o desfecho com a variável que foi pareada, enquanto que nos estudos confirmatórios, não seria possível avaliar como ela intervém (modificadora de efeito ou confundidora) na relação entre a exposição principal e o desfecho, uma vez que não existem diferenças entre casos e controles em relação à variável pareada.

O superpareamento (*overmatching*) é outro problema que pode ocorrer em estudos pareados, caso alguns cuidados não sejam observados. MacMahon e Pugh<sup>22</sup> consideram uma situação de superpareamento quando a variável utilizada para a formação dos pares faz parte do processo causal entre exposição e doença (variável interveniente). Nesta situação, a associação entre exposição e doença poderá ficar obscurecida pelo estágio intermediário do processo saúde-doença, por exemplo, a associação entre uso de estrógeno e câncer de endométrio pode ficar obscurecida pela variável intermediária, hiperplasia endometrial, uma vez que esta é fortemente influenciada pelo uso do estrógeno<sup>10, 23</sup>. Miettinen<sup>24</sup> considera outra situação de superpareamento - quando a variável está associada fortemente à exposição, mas não com a doença - e assimila que, nesses casos, há uma diminuição na eficiência do estudo, pois poderá aumentar a variância da estimativa de risco. Por exemplo, ao se estudar a relação entre uso de contraceptivo oral e infarto agudo do miocárdio o acesso ao serviço de saúde está associado à variável de exposição (contraceptivo

oral), mas não se constitui fator de risco para a doença, portanto, acarretará dificuldades operacionais ao estudo<sup>9, 14, 23</sup>.

Outra questão enfrentada pelo pesquisador é a decisão de quantos controles devem ser selecionados por caso. Quando a proporção de controles por caso é de 4:1, ocorre um ganho importante no poder do estudo, se comparado com razões menores (3:1; 2:1; 1:1). Entretanto, o ganho estatístico obtido com um número superior a quatro controles por caso não se justifica em termos de custo benefício<sup>10, 25</sup>. Em estudos com grande número de casos, a proporção 1:1 tem sido considerada a melhor opção, já que o número de participantes seria suficiente para garantir o poder do estudo, sem acarretar custos adicionais<sup>26</sup>.

## **ANÁLISE EM ESTUDOS PAREADOS**

A análise dos dados em estudos de caso-controle pareados vai depender do tipo de pareamento realizado. Em estudos de caso-controle com pareamento individual cada par (formado pelo caso e seus controles) é tratado na análise como um único estrato individual, por isso, a análise deve ser condicional. Apesar de ser considerada mais complexa do que a análise dos estudos não pareados (análise não condicional), a utilização de análise não condicional em estudos pareados leva a um enviesamento da OR em direção à hipótese nula<sup>2, 7, 9</sup>.

Por outro lado, no pareamento por frequência a análise deve ser não condicional<sup>2, 9</sup>. Publicações de estudos de caso-controle pareados por frequência relatam a utilização da análise não condicional, realizando inclusive o ajuste das variáveis pareadas na regressão logística<sup>27, 28</sup>.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora o pareamento seja uma estratégia factível de seleção dos controles, cujo uso melhora a validade e a eficiência do estudo, seu uso deve ser pensado cuidadosamente<sup>7</sup>. Ao parear é possível introduzir outros vieses desconhecidos no estudo, uma vez que o critério de escolha dos controles pode estar imbuído de certa tendenciosidade (ao torná-los semelhantes aos casos em relação ao fator de exposição) e, dessa forma, podem não mais representar a distribuição do fator pareado na população que originou os casos.

Os métodos para recrutamento dos controles têm sido um dos pontos mais polêmicos nos estudos de caso-controle<sup>29</sup> e, quando pareados, tornam-se ainda mais controversos, sobretudo quando não são observados pressupostos relativos à escolha das variáveis a serem pareadas (que devem ser reconhecidamente confundidoras), do número de variáveis a serem pareadas (não ultrapassar mais que três, ou parear pela variável confundidora mais importante, ajustando as demais na análise)<sup>16</sup> e do tipo de análise estatística a ser realizada (logística condicional para os estudos com pareamento individual), uma vez que, quando não observados, poderá incorrer um enviesamento da OR em direção à hipótese nula.

Em uma breve observação de estudos de caso-controle pareados publicados, percebeu-se que os autores não referem o motivo do pareamento, nem as possíveis implicações deste procedimento para o estudo, fato que facilitaria a compreensão do leitor sobre a sua aplicabilidade e limitações. Por isso, acredita-se que ao submeterem seus artigos aos periódicos científicos os autores devem expressar com maior



transparência os passos metodológicos percorridos, com destaque para a estratégia de condução do pareamento, quando couber, pois, a credibilidade dos resultados depende da avaliação crítica de seus pares. Nesse sentido, ressaltamos a iniciativa de um grupo de epidemiologistas que apresenta recomendações para a elaboração de artigos científicos, o *Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology* (STROBE)<sup>30</sup>, na perspectiva de subsidiar a qualidade dos relatos de pesquisas observacionais, visando auxiliar o autor a apresentar seus resultados aos periódicos.

## REFERÊNCIAS

1. Rêgo MAV. Aspectos históricos dos estudos de caso-controle. *Cad Saúde Pública* 2001; 17(4): 1017-1024.
2. Rodrigues LC, Werneck GL. Estudos de caso-controle. In: Medronho, RA et al. *Epidemiologia*. São Paulo: Atheneu; 2003. 493p.
3. Rodrigues LC, Kirkwood BR. Case-control designs in the study of common disease: updates on the demise of the rare disease assumption and the choice of sampling scheme for controls. *Int J Epidemiol* 1990; 19(1): 205-213.
4. Squires BP, Elmslie TJ. Reports of case-control studies: What editors want from authors and peer reviewers. *Can Med Assoc J* 1990; 143(1): 17-18.
5. Wacholder S, Silverman DT, McLaughlin JK, Mandel JS. Selection of controls in case-control studies. II. Types of controls. *Am J Epidemiol* 1992; 135(9): 1029-1041.
6. Moraes SA, Souza JMP. Metodologia caso-controle em epidemiologia de doenças cardiovasculares. I - Delineamento. *Rev Med Ribeirão Preto* 1996; 29: 460-7.
7. Costanza MC, Theoretical epidemiology: matching. *Prev Med* 1995; 24: 425-433.
8. Rothman KJ, Greenland S. Case-control studies. In: Rothman KJ, Greenland S. *Modern Epidemiology*. 2. ed. Philadelphia (USA): Library of Congress; 1998. Cap. 10.

9. Newman TB, Browner WS, Hulley SB. Fortalecendo a inferencial causal em estudos observacionais. In: Hulley SB, Cummings SR, Browner WS, Grady D, Hearst N, Newman TB. Delineando a pesquisa clínica. Uma abordagem epidemiológica. 2. ed. Porto Alegre: Artmed; 2003. p.147-161.
10. Wacholder S, Silverman DT, McLaughlin JK, Mandel JS. Selection of controls in case-control studies. III - Designs options. *Am J Epidemiol* 1992; 135(9): 1043-1049.
11. Figueiredo MAA, Rodrigues LC, Barreto ML, Lima JWO, Costa MCN, Morato V et al. Allergies and diabetes as risk factors for dengue hemorrhagic fever: results of a case control [tese]. Salvador: ISC-UFBA; 2009.
12. Pereira RA, Koifman S. Associação entre fatores da dieta e tumores de cérebro em adultos: uma revisão da literatura. *Cad Saúde Pública* 2001; 17(6): 1313-1334.
13. Sturmer T, Brenner H. Degree of matching and gain in power and efficiency in case-control studies. *Epidemiol* 2001; 12(1): 101-108.
14. Schlesselman JJ. Case- control studies. New York: Oxford University Press; 1982.
15. le Cessie S, Nagelkerke N, Rosendaal FR, van Stralen KJ, Pomp ER, van Houwelingen HC. Combining matched and unmatched control groups in case-control studies. *Am J Epidemiol* 2008; 168: 1204-10.
16. Mandrekar JN, Mandrekar SJ. An introduction to matching and its application using SAS®. *Statistics and Data Analysis (Paper 208-29)*. Proceedings of the 29th SAS Users Group International Conference (SUGI) 2004. Disponível em: [www2.sas.com/proceedings/sugi29/208-29.pdf](http://www2.sas.com/proceedings/sugi29/208-29.pdf). Acessado em: 23 jan. 2009.
17. Yanagawa T. Designing Case - Control Studies. *Environ Health Perspect* 1979; 32: 143-156.
18. Wunsch-Filho V, Zago MA. Modern cancer epidemiological research: genetic polymorphisms and environment. *Rev Saude Publica* 2005; 39(3): 490-7.
19. Ahsan RS, Akhtar S, Avan BI, Hamza H, Rahbar MH. A matched case-control study of risk factors for neonatal tetanus in Karachi, Pakistan. *J Postgrad Med* 2004; 50: 247-251.
20. Hansen, BB. Full matching in an observational study of coaching for the SAT. *J Am Stat Assoc* 2004; 99(467): 609-618.

21. Greenland S, Morgenstern H, Thomas DC. Considerations in determining matching criteria and stratum sizes for case-control studies. *Int J Epidemiol* 1981; 10 (4): 389-392.
22. MacMahon B, Pugh TF. *Epidemiology: principles and methods*. Boston: Little, Brown & Co.; 1970.
23. Breslow NE, Day NE. *Statistical methods in cancer research: the analysis of case-control studies*. Lyon: International agency for research on cancer, 1980. v.1.
24. Miettinen OS. Matching samples in epidemiologic studies. *Biometrics* 1964; 20: 840.
25. Cologne JB, Sharp GB, Neriishi K, Verkasalo PK, Land CE, Nakachi K. Improving the efficiency of nested case-control studies of interaction by selecting controls using counter matching on exposure. *Int J Epidemiol* 2004; 33: 485-492.
26. Hennekens CH, Buring JE. *Epidemiology in Medicine*. Boston: Little, Brown, 1987: 295-304.
27. Marchioni DML, Fisberg RM, Góis Filho JF, Kowalski LP, Carvalho MB, Abrahão M et al. Fatores dietéticos e câncer oral: estudo caso-controle na Região Metropolitana de São Paulo, Brasil. *Cad Saúde Pública* 2007; 23(3): 553-564.
28. Sartor SG, Eluf-Neto J, Travier N, Wünsch Filho V, Arcuri ASA, Kowalski LP et al. Riscos ocupacionais para o câncer de laringe: um estudo caso-controle. *Cad. Saúde Pública* 2007; 23(6): 1473-1481.
29. Gefeller O, Pfahlberg A, Brenner H, Windeler J. An empirical investigation on matching in published case-control studies. *Eur J Epidemiol* 1998; 14(4): 321-5.
30. von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gotsche PC, Vandenbroucke JP. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. *J Clin Epidemiol* 2008; 61: 344-349.

## **ARTIGO 3**

**Allergies and diabetes as risk factors for dengue hemorrhagic fever:  
results of a case control study**

## RESUMO

**Introdução:** A fisiopatologia de febre hemorrágica do dengue (FHD), forma grave do dengue, ainda é pouco compreendida. Somos incapazes de identificar os pacientes que podem progredir para a FHD para intervir precocemente durante epidemias, quando a maior parte dos casos é atendida e encaminhada para casa. Este estudo investigou se pacientes com co-morbidades selecionadas têm maior risco de desenvolver FHD. **Métodos:** Um estudo de caso-controle pareado foi realizado em uma população de soro-positivos para dengue, em duas cidades brasileiras. Para cada caso de FHD, sete controles soro-positivos foram selecionados. Casos e controles foram entrevistados. Informações sobre status demográfico, sócio-econômico, co-morbidades (diabetes, hipertensão, alergias) e uso de medicação foram coletadas. A regressão logística condicional foi utilizada para calcular a força da associação entre as co-morbidades e ocorrência de FHD. **Resultados:** Foram incluídos 170 casos de FHD e 1.175 controles. Associações estatisticamente significantes foram encontradas entre FHD e etnia branca (OR = 4,7; 2,1-10,2), renda alta (OR = 6,8; 4,0-11,4), escolaridade alta (OR = 4,7; 2,35-9,27), diabetes (OR = 2,6; 1,1-6,9) e alergia tratada com esteróides (OR = 3,0; 1,0-9,0). Indivíduos de cor preta que referiram serem tratados para hipertensão tinham 13 vezes mais risco de FHD, quando comparados com indivíduos pretos sem hipertensão. **Discussão:** Este é o primeiro estudo para encontrar uma associação entre FHD e diabetes, alergias e hipertensão. Dada a elevada taxa de letalidade de FHD (1-5%), sugerimos que essas evidências foram suficientemente fortes para justificar a implementação de protocolos a serem utilizados durante epidemias de dengue, a fim de identificar pacientes com maior risco de FHD intervindo precocemente. Acredita-se que estas ações poderiam ter um grande impacto sobre a mortalidade da doença.

Palavras-chave: Febre Hemorrágica do Dengue; caso-controle.

## ABSTRACT

**Background:** The pathophysiology of dengue hemorrhagic fever (DHF), severe form of Dengue Fever, is poorly understood. We are unable to identify patients likely to progress to DHF for closer monitoring and early intervention during epidemics, so most cases are sent home. This study explored whether patients with selected comorbidities are at higher risk of developing DHF. **Methods:** A matched case-control study conducted in a dengue sero-positive population in two Brazilian cities. For each case of DHF, 7 sero-positive controls were selected. Cases and controls were interviewed and information collected on demographic and socio-economic status, reported co-morbidities (diabetes, hypertension, allergy) and use of medication. Conditional logistic regression was used to calculate the strength of the association between the co-morbidities and occurrence of DHF. **Findings:** 170 cases of DHF and 1,175 controls were included. Significant associations were found between DHF and white ethnicity (OR=4.7; 2.1-10.2), high income (OR=6.8; 4.0-11.4), high education (OR=4.7;2.35-9.27), reported diabetes (OR=2.6;1.1-6.9) and reported allergy treated with steroids (OR=3.0;1.0-9.0). Black individuals who reported being treated for hypertension had 13 times higher risk of DHF than black individuals reporting no hypertension. **Interpretation:** This is the first study to find an association between DHF and diabetes, allergy and hypertension. Given the high case fatality rate of DHF (1-5%), we suggest this evidence is strong enough to warrant implementation of protocols to be used during dengue epidemics to identify patients at a greater risk of DHF for closer monitoring and early intervention. This could have a marked impact on mortality.

Key words: Dengue Hemorrhagic Fever; case-control

## INTRODUCTION

Dengue is the most important viral vector-transmitted disease worldwide in terms of the total number of cases, disease morbidity and mortality<sup>1</sup>. This arboviral disease affects large areas of countries in tropical and subtropical regions of the world. As the physiopathology of the severe presentations, dengue hemorrhagic fever (DHF) / Dengue Shock Syndrome (DSS), remains poorly understood, there are no effective means to predict or prevent progression to this severe clinical expression of the infection<sup>2,3</sup>.

According to the World Health Organization (WHO)<sup>4</sup>, around 500,000 cases of DHF/DSS, occur annually, with 22,000 deaths. Until the second half of the twentieth century, dengue remained almost exclusively restricted to Southeast Asia; then it spread to Central and South America and now it is present from the 35<sup>th</sup> parallel north to the 35<sup>th</sup> parallel south<sup>2</sup>. In Southeast Asia the incidence of DHF/DSS is high and the disease typically affects mainly children<sup>5</sup>. Until last year, the clinical pattern of dengue was very different in Brazil (currently the country that reports most cases of dengue fever to the WHO). In fact, in Brazil, the majority of cases had occurred among adults and the percentage of the severe forms of the disease was low; but since the 2008 epidemic in Rio de Janeiro, the risk of morbidity and mortality due DHF/DSS began to rise in children<sup>6-7</sup>.

It is not clear why some cases of dengue progress to DHF; understanding this process is essential for preventing it. There is evidence that sequential infections by

different dengue viral serotypes plays an important role in the process since it has been demonstrated that it increases the risk of progression to DHF<sup>8</sup>. Nonetheless, even during widespread epidemics of dengue fever, in populations with high levels of antibodies against dengue virus (indicating a previous infection), the proportion of cases that progress to DHF is small, ranging from <0.5% to 4% of all cases<sup>9,10</sup> indicating that other factors are certainly involved in disease severity. Several hypotheses have been raised but so far none of them has been supported by strong evidence. It has been suggested that some preexisting chronic diseases such as diabetes, hypertension and bronchial asthma increase the risk of progression to severe forms of dengue<sup>11,12</sup> based on case series with no control group. The objective of the case-control study reported here was to evaluate the contribution of comorbidities to the development of DHF.

## **METHODS**

This is a matched case-control study carried out in two coastal cities in the northeast of Brazil, Salvador and Fortaleza with populations of roughly two and a half million each. The required sample size, of 159 cases and 636 controls was determined to be able to detect an increase of 2.3 fold in the risk of DHF in cases of dengue who also had diabetes (prevalent in 7% of the controls, the least common of comorbidities studied), with 95% precision, 80% power and a ratio of 4 controls for each case.

Cases of DHF registered in the national surveillance system (SINAN) for residents of these two cities between 2003 and 2005 were identified. Based on the



data on the surveillance records, two physicians selected those meeting the WHO definition of DHF: (i) fever and (ii) at least two signs or symptoms of dengue fever (headache or retroorbital pain, myalgia, arthralgia, prostration, exanthema and pruritus) and (iii) all of the following signs: a) hemorrhagic manifestations (at least one type); b) hemoconcentration with an increase of 10% in basal hematocrit level and/or hematocrit values >38% in the case of a child, >40% in the case of an adult female and >45% in the case of an adult male; c) thrombocytopenia ( $\leq 100,000/\text{mm}^3$ ); and d) positive serology for anti dengue virus IgM and/or viral isolation and characterization by cell culture or RT-PCR<sup>13</sup>.

In Salvador, of the 91 cases of DHF notified to SINAN in 2002 and 2003, 65 met the criteria for inclusion in this study. Of these 65 cases, 55 agreed to participate in the study. In this city, no deaths resulting from DHF were recorded during the study period. Between 2003 and September 2005, 294 cases of DHF were notified to SINAN in Fortaleza, of which 139 met the criteria. Of these, 19 refused to participate and 5 had died; the remaining 115 were included in the study.

In the period 1995 to 2001 all dengue serotypes isolated in Fortaleza and Salvador were DENV1 and DENV2, and both circulated intensively. However, in the studied period (2002- 2005) over 95% of isolates were DENV3 in these same cities. This fact allowed us to accept both the DHF cases and controls (individuals residing in the same neighborhood who reported having had dengue fever in the same period), were infected by DENV3. Thus, for each case, 7-8 potential controls living in the same neighborhood, and paired for sex and age ( $\pm 5$  years) were selected

resulting in a total of 1,239 individuals. Blood was drawn from cases and controls by venous puncture. The serum was separated by centrifugation and stored at -20°C. The Department of Arbovirology and Hemorrhagic Fevers of the Evandro Chagas Institute performed ELISA for anti-dengue IgG antibodies, results being considered positive when titers were above 1:40<sup>14</sup>.

Only cases and controls who tested positive (IgG) for the anti-dengue antibodies were included in the study whether they reported a history of clinical manifestations of the infection, since we wanted to investigate reasons for progression to DHF, not variables associated with infection. Following the exclusion of those with a negative serology (5.2%) 1,175 controls and 170 cases remained in the study.

Cases and controls were interviewed at home by teams of trained interviewers using a previously tested, standardized questionnaire, collecting the following types of information: demographic (name, address, age, sex and self-reported skin color), socio economic (years of schooling, family income expressed as a multiple of the minimum salary, which was US\$120 at the time of the interview) and clinical: (signs and symptoms of dengue and reported morbidity with respect to diabetes, hypertension, allergy, asthma, kidney failure, liver failure and sickle-cell anemia, and the use of medication for these illnesses). When the individual reported having one of these conditions, he/she was asked whether the diagnosis had been made by a doctor and the interviewer asked to see the prescription and/or packaging of the medication.

To describe the study population, cases and controls were grouped according to their ethnic and social characteristics and the frequency of self-reported chronic diseases. Reported kidney failure, liver failure and sickle-cell anemia were not considered in this analysis because they were either not reported or reported by very few cases or controls. Conditional logistic regression was used to estimate the association between the selected factors and the occurrence of DHF, adjusting for potentially confounding variables. Since black skin color has been reported to be a protective factor against DHF <sup>15,16</sup>, and is also associated with hypertension <sup>12</sup>, a specific analysis was carried out on cases and controls who described themselves as being black. The STATA® software program, version 10, was used to perform data processing and analysis.

Ethical approval was granted by the Research Ethics Committee, Instituto de Saúde Coletiva, Federal University of Bahia, Salvador, Brazil. All the individuals who agreed to participate in the study gave written informed consent.

## **RESULTS**

Of the 170 cases of DHF included in the study, 55.9% were women and around 80% occurred in individuals over 15 years of age. With respect to skin color, 50% of cases considered themselves white, 43.3% mixed race and 6.5% black. Over 51% of cases had 11 years or more of schooling and 47.1% had an income of at least four minimum salaries. Of the 1,175 controls, 54.6% were female, 80.9% were over 15 years of age; 64.5% considered themselves white, 27.1% mixed race and 8.4% black; 31.5% had 11 years or more of schooling; and 17.5% had an income of at least 4

minimum salaries. Of these demographic variables, statistically significant differences ( $p < 0.05$ ) were found between the two groups only with respect to skin color, years of schooling and family income. Statistically significant differences ( $p < 0.05$ ) were also found between the cases and controls with respect to self-reported diabetes and allergy (Table 1).

The likelihood (crude, matched OR) of a white individual having been affected by DHF was 4.6 times higher than that of a black participant. Family income  $\geq 4$  minimum salaries (OR=7.0) and  $\geq 11$  years of schooling (OR=4.6) were also found to be risk factors for this clinical form of dengue. There was little variation in the values of these measurements of association following adjustment for chronic diseases, differences remaining statistically significant (Table 2).

When each one of the self-reported chronic diseases was adjusted for the ethnic and social variables, only diabetes remained associated with DHF (adjusted OR = 2.62; 95% CI: 1.15 - 6.92) (Table 3).

When the self-reported diseases were classified according to use of the respective medications, with the category "absence of disease" as reference, the use of medication (steroids and no steroids) by allergic individuals was found to be positively associated with DHF; however, following adjustment for the ethnic and social variables, the association was maintained only for allergy treated with steroids (OR=3.04; 95%CI: 1.02 - 9.05). Of the individuals who reported hypertension, an increasing gradient was found in the crude and adjusted OR when the use of

medication was considered (no treatment, treatment with only one antihypertensive drug or treatment with more than one hypertensive drug); however, these differences were not statistically significant (Table 4).

In the subgroup analysis of the cases and controls who described themselves as black, the individuals who had hypertension and used more than one antihypertensive medication were found to have a 13-fold greater likelihood of having DHF (95%CI: 1.42 - 118.8) compared to black individuals who did not have hypertension. Black individuals with hypertension who did not use medication or who used only one type of antihypertensive medication were around four times more likely to have had DHF when compared to black individuals without hypertension; however, this difference was not statistically significant (data not shown on tables).

## **DISCUSSION**

The results of this study showed that individuals who reported having allergies (and for which they used steroids), or those who reported diabetes, were two and a half times as likely to have DHF. DHF is known to be more common in repeat dengue infections. Current knowledge about the pathophysiology of DHF emphasizes the importance of the role of amplification of the immune response due to the presence of heterotypic antibodies against a serotype of the dengue virus at the time of new infection<sup>8,11</sup>. The immune system in allergic individuals may be persistently activated with signs of inflammation in tissues and capillaries<sup>17,18</sup>, and if we consider the use of steroids for allergy as a marker of the severity of the allergy,

one can conclude that severe allergy is even more likely to lead to inflammation and liberation of pro inflammatory cytokines in tissues, particularly in the endothelium. Steroid use itself may also present a risk since they also can produce capillary fragility. A possible biological mechanism for the increase in risk of DHF with allergy is therefore through amplification of the immune response and inflammation. Similarly, type II diabetes, a metabolic disorder of adults that reduces the use of glucose by the organism, changes the anatomical and physiological integrity of the endothelium due to a permanent inflammatory condition caused by activation of T-lymphocytes in this process leads to the release of some types of pro-inflammatory cytokines such as gamma interferon (IFN $\gamma$ ) and TNF $\alpha$ .<sup>19,20</sup> These cytokines are known to a fundamental role in one of the main phenomena responsible for the clinical manifestations of DHF, the third space fluid shift<sup>21</sup>, which is a consequence of endothelial dysfunction and results in hemoconcentration, hypotension and shock. It appears that triggering endothelial dysfunction may be the biological mechanism by which allergy and diabetes increase the risk of progression to DHF, by increasing the intrinsic permeability of the endothelial surface of hosts who have been previously infected by another serotype, permitting the occurrence of fluid shift.

Although no statistically significant association was found between hypertension and DHF, it is interesting that when individuals without hypertension were taken as a reference group, a clear trend was found for an increased likelihood of DHF among those who reported having hypertension but did not use any antihypertensive medication followed by hypertensive individuals who used more

than one antihypertensive drug. On the other hand, the thirteen-fold higher association between individuals who consider themselves black and use an antihypertensive drug and DHF, when compared with non-hypertensive black individuals, strengthens the hypothesis that preexisting diseases in which physiopathology detrimentally affects endothelial function may help trigger the phenomenon of fluid shift resulting from the increased vascular permeability that characterizes DHF.

The increase in DHF in subjects with white skin color is well described,<sup>11,15</sup> and recent *in vivo* studies associated these differences with genetic markers of African ancestry<sup>16</sup>. In the cities where the study was conducted the proportion of individuals of African descent is over 68%, the majority belonging to a lower socioeconomic stratum than the white population, with lower family income and poorer education<sup>22</sup>. The greater likelihood of DHF in white individuals with higher education levels and higher family income is consistent with both a mixed ancestry subjects being more likely to call themselves white if they are rich and well educated or the presence of some other undetected lifestyle factors associated with an increase the risk of DHF.

The growth in the frequency of allergic and atopic diseases that has been observed in recent decades has emphasized the need for research studies capable of explaining the mechanisms involved in this phenomenon. Changes in lifestyle, initially in countries of Eastern Europe, have occurred in parallel with a growth in the rate of asthma and other allergic diseases<sup>23,24,25</sup>. There is evidence that individuals

living in cleaner environments, who are consequently less exposed to infections, are at a greater risk of developing some allergic diseases (“the hygiene hypothesis”). Although this hypothesis has been the target of many controversies, evidence has been accumulated that some infections early in life may protect individuals against allergic and atopic diseases years later <sup>26,27</sup>. It is therefore feasible to speculate that white individuals with higher education levels and family income, who in this study were found to have a 7-fold greater risk of having been affected by DHF, would also constitute the segment of the population with the highest risk of suffering from allergies or of having higher levels of allergic sensitization, which may act as triggers of the mechanisms of amplification of the immune response. This hypothesis should be the object of new studies designed to clarify the issue.

Since this study was retrospective, and based on reported illness, these findings must be interpreted with some caution. The validity of DHF diagnosis is likely to be good: two physicians independently analyzed the data recorded in the clinical epidemiological investigation records, applying the clinical and laboratory criteria for DHF defined by the WHO rigorously. To increase the validity of reported comorbidities and medication, the investigators requested to see medical prescriptions and drug packaging to ensure that the information obtained indirectly was as reliable. The data collection procedures were standardized and identical for the two comparison groups.

The exclusion of seronegative made sure that all cases and controls, had dengue infection in the past. DENV1 and DENV2 have been circulating intensely in



the two cities since the 1990s and the populations of these cities have high levels of antibodies against these serotypes<sup>27,28</sup>. Most cases of DHF included in this study were caused by DENV3, which was introduced into these cities only in 2002<sup>10</sup>. Therefore, it was assumed that the variables investigated here constitute additional factors to the presence of preexisting heterotypical antibodies.

This is the first study to investigate the association between DHF and diabetes and allergy, and potentially hypertension and the results reported here are the initial evidence for this very important association. In dengue epidemics most dengue fever cases are sent home, as there are too many for all to be kept under observation, in spite of the potential for progression to DHF. If it were possible to identify those with higher risk of progression to DHF, and to keep them for observation, for to early detection of signs, symptoms and alterations in laboratory tests suggestive of DHF, this would enable timely and effective clinical management. Early intervention in such cases will reduce mortality substantially, since the case fatality rate of DHF is high (1-5%)<sup>10</sup>. We believe the evidence produced in this study is strong enough to warrant implementation of healthcare protocols for dengue epidemics that establish screening criteria to identify patients at a greater risk of developing DHF, to remain under observation and monitoring at the healthcare facilities.

We also recommend further clinical studies to define a new consensus on the medical management of patients with diabetes, allergies and hypertension, (particularly with respect to drugs used) following development of the first symptoms of dengue fever. Finally, cross immunologic-epidemiologic studies based

on the associations between diabetes and allergy and DHF, and on high socio economic status and DHF are urgently needed to investigate the intricate mechanism determining the severe forms of dengue.

## REFERENCES

1. Dengue fever climbs the social ladder [editorial]. *Nature* 2007 Aug; 448: 734-35.
2. Gibbons R, Vaughn D W. Dengue an escalating problem. *BMJ* 2002; 324: 1563-6.
3. Guzman MG, Kourí G. Dengue: an update. *Lancet Infect Dis* 2002; 2(1): 33-42.
4. World Health Organization. Impact of dengue. [on line] 2008. Accessed in: <http://www.who.int/csr/disease/dengue/impact/en/index.html>.
5. Halstead SB, Dengue in the Americas and Southeast Asia: do they differ? *Rev Panam Salud Publica* 2006; 6: 407-15.
6. Teixeira MG, Costa MCN, Coelho G, Barreto M. Recent Shift in Age Pattern of dengue Hemorrhagic Fever, Brazil. *Emerg Infect Dis* 2008; 14(10): 1663.
7. Barreto M, Teixeira MG. Dengue fever: a call for local, national, and international action. *Lancet* 2008; 372(9634): 205.
8. Halstead SB. The pathogenesis of dengue. *Molecular Epidemiology in Infections Disease. Am J Epidemiol* 1981; 114(5): 632-48.
9. Halstead SB. Dengue. *Lancet* 2007; 370: 1644-52.
10. Teixeira MG, Costa MCN, Barreto ML, Mota E. Dengue and dengue hemorrhagic fever epidemics in Brazil: what research is needed based on trends, surveillance, and control experiences? *Cad Saúde Pública* 2005; 21(5): 1307-15.
11. Kourí GP, Guzman MG, Bravo JR. Why dengue haemorrhagic fever in Cuba? An integral analysis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1987; 81(5): 821-23.
12. Cunha RV, Schatzmayr HG, Miagostovich MP, Barbosa AMA, Paiva FG, Miranda RMO, et al. Dengue epidemic in the State of Rio Grande do Norte, Brazil, 1997. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1999; 93: 247-49.
13. World Health Organization. Dengue Haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control, 2edn. Geneva: World Health Organization; 1997.
14. Chungue E, Marche´ R, Plichart J, Bovin JP, Roux J. Comparison of immunoglobulin G enzyme-linked immunosorbent assay (IgG-ELISA) and hemagglutination inhibition (HI) test for the detection of dengue antibodies. Prevalence of dengue IgG-ELISA antibodies in Tahiti. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1989; 83(5): 708-711.

15. Sierra B de la C, Koury G, Guzmán, MG. Race: a risk factor for dengue hemorrhagic fever. *Arch Virol* 2007; 152: 533-42.
16. Blanton RE, Silva LK, Morato VG, Parrado AR, Dias JP, Melo PR, et al. Genetic ancestry and income are associated with dengue hemorrhagic fever in a highly admixed population. *Eur J Hum Genet* 2008; 13: 15-8.
17. Brown JM, Wilson TM, Metcalfe DD. The mast cell and allergic diseases: role in pathogenesis and implications for therapy. *Clin Exp Allergy*. 2008 Jan; 38(1): 4-18.
18. Trivedi SG, Lloyd CM. Eosinophils in the pathogenesis of allergic airways disease. *Cell Mol Life Sci* 2007 May; 64(10): 1269-89.
19. Hsueh WA, Lyon CJ, Quiñones MJ. Insulin resistance and the endothelium. *Am J Med* 2004; 117: 109-17.
20. Dandona P, Alijada A, Chaudhuri A, Mohanty P. Endothelial dysfunction, inflammation and diabetes. *Rev Endocr Metab Dis* 2004; 5: 189-97.
21. Stephenson JR. Understanding dengue pathogenesis: implications for vaccine design. *Bull World Health Organ* 2005 Apr; 83(4): 308-14.
22. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. [on line] 2008. Accessed in: <http://www.ibge.gov.br/home/estatística/população/default-censo>.
23. Woolcock AJ, Peat JK. Evidence for the increase in asthma worldwide. *Ciba Found Symp* 1997; 206: 122-34.
24. Upton MN, McConnachie A, McSharry C, Hart CL, Smith GD, Gillis CR, et al. Intergenerational 20 year trends in the prevalence of asthma and hay fever in adults: the Midspan family study surveys of parents and offspring. *BMJ* 2000; 321: 88-92.
25. Williams HC. Is the prevalence of atopic dermatitis increasing? *Clin Exp Dermatol* 1992; 17: 385-391.
26. Von Hertzen LC, Haahtela T. Asthma and atopy - the price of affluence? *Allergy* 2004; 59(2): 124-37.
27. Schaub B, Lauener R, von Mutius E. The many faces of the hygiene hypothesis. *J. Allergy Clin Immunol*. 2006; 117(5): 969-78.

## **BIOGRAPHICAL SKETCH**

Dr. Figueiredo is PhD in epidemiology. She is Professor at the Universidade do Estado da Bahia, Brazil and her research interest is in the field of infectious diseases epidemiology and control, in special dengue.

## **ACKNOWLEDGEMENTS**

The authors acknowledge the financial and technical support number 506395/2003-0 of the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) and Health Ministry Brazil/SVS.

## **TABLES and GRAPHICS**

**Table 1 - Distribution of DHF cases and according to demographic, ethnic, socio-economic variables and self reported comorbidities in the studied population**

<i>Exposure</i>	<i>Cases</i>		<i>Controls</i>		P value
	<i>N°</i>	<i>%</i>	<i>N°</i>	<i>%</i>	
Sex					
Male	75	44.1	534	45.4	0.74
Female	95	55.9	641	54.6	
Total	170	100.0	1175	100.0	
Age					
≤ 15 years	35	20.6	224	19.1	0.64
≥ 16 years	135	79.4	951	80.9	
Total	170	100.0	1175	100.0	
Skin colour					
Black	11	6.5	99	8.4	0.00
Mixed	74	43.5	318	27.1	
White	85	50.0	758	64.5	
Total	170	100.0	1175	100.0	
Schooling (years of study)					
≤ 3	19	11.1	210	17.9	0.00
4 a 7	27	15.9	333	28.3	
8 a 10	37	21.8	263	22.3	
≥ 11	87	51.2	369	31.5	
Total	170	100.0	1175	100.0	
Income (minimum salary)					
≤ 1	38	22.4	471	40.1	0.00
2 & 3	52	30.5	498	42.4	
≥ 4	80	47.1	206	17.5	
Total	170	100.0	1175	100.0	
Hypertension					
No	150	88.2	1027	87.4	0.75
Yes	20	11.8	148	12.6	
Total	170	100.0	1175	100.0	
Diabetes					
No	161	94.7	1144	97.4	0.05
Yes	09	5.3	31	2.6	
Total	170	100.0	1175	100.0	
Allergy					
No	112	65.9	896	76.3	0.04
Yes	58	34.1	279	23.4	
Total	170	100.0	1175	100.0	
Asthma					
No	160	94.1	1113	94.7	0.74
Yes	10	5.9	62	5.3	
Total	100.0	100.0	1175	100.0	

**Table 2 - Crude and adjusted<sup>1</sup> Odds Ratio of the association of DHF with skin colour, schooling and income**

<i>Exposure</i>	<i>OR crude</i>	<i>95% CI</i>	<i>OR adjusted</i>	<i>95% CI</i>
Skin colour				
Black	*	*	*	*
Mixed	1.88	0.91 - 3.89	1.96	0.94 - 4.10
White	<b>4.60</b>	<b>2.13 - 9.90</b>	<b>4.70</b>	<b>2.17 - 10.20</b>
Schooling				
≤ 3 years	*	*	*	*
4 a 7 years	1.07	0.55 - 2.08	1.09	0.55 - 2.15
8 a 10 years	<b>2.35</b>	<b>1.17 - 4.74</b>	<b>2.45</b>	<b>1.20 - 4.99</b>
≥ 11 years	<b>4.66</b>	<b>2.37- 9.15</b>	<b>4.67</b>	<b>2.35 - 9.27</b>
Income (minimum salary)				
≤ 1	*	*	*	*
2 & 3	<b>1.70</b>	<b>1.06 - 2.72</b>	<b>1.70</b>	<b>1.06 - 2.72</b>
≥ 4	<b>7.02</b>	<b>4.21 - 11.6</b>	<b>6.84</b>	<b>4.09 - 11.43</b>

<sup>1</sup> adjusted by chronic diseases

**Table 3 - Crude and adjusted<sup>1</sup> Odds Ratio of the association of DHF with chronic co-morbidities**

<b>Exposure</b>	<b>FHD</b>	<b>OR crude</b>	<b>95% CI</b>	<b>OR Adjust</b>	<b>95% CI</b>
<b>Hypertension</b>					
No	150	*		*	
Yes	20	0.90	0.50 1.62	0.96	0.51 1.78
<b>Diabetes</b>					
No	161	*		*	
Yes	9	<b>2.46</b>	<b>1.03 5.87</b>	<b>2.82</b>	<b>1.15 6.92</b>
<b>Allergy</b>					
No	112	*		*	
Yes	58	<b>1.59</b>	<b>1.11 2.28</b>	1.25	0.84 1.86
<b>Asthma</b>					
No	160	*		*	
Yes	10	0.93	0.46 1.89	0.76	0.35 1.66

<sup>1</sup> adjusted by skin colour, schooling and income



**Table 4 - Crude and adjusted<sup>1</sup> Odds Ratio of the association of DHF with chronic co-morbidities stratified by number or type of drugs used**

Exposure	OR crude	95% CI	OR Adjust	95% CI
No hypertension	*	*	*	*
Hypertension no drugs	0.48	0.16 1.38	0.45	0.14 1.37
Hypertension with 1drug	0.95	0.39 2.27	1.12	0.04 2.8
Hypertension with > 1 drug	1.76	0.74 4.19	1.82	0.72 4.57
No diabetes	*	*	*	*
Diabetes no drugs	1.55	0.18 13.3	1.94	0.20 18.7
Diabetes 1 drug	2.32	0.74 7.24	2.93	0.93 9.21
Diabetes with insulin or more than 1 drug	3.53	0.83 14.9	3.12	0.68 14.2
No allergy	*		*	
Allergy no drugs	1.41	0.94 2.09	1.13	0.73 1.74
Allergy drugs anti allergic	<b>2.34</b>	<b>1.05 5.23</b>	1.33	0.53 3.32
Allergy drugs steroids	<b>2.77</b>	<b>1.04 7.39</b>	<b>3.04</b>	<b>1.02 9.05</b>
No Asthma	*		*	
Asthma no drugs	0.63	0.23 1.68	0.50	0.17 1.45
Asthma drug no steroids	2.15	0.68 6.73	1.98	0.56 6.98
Asthma drug with steroids	0.77	0.90 6.63	0.54	0.04 6.51

<sup>1</sup> adjusted by skin colour, schooling and income

## CONCLUSÃO

O dengue foi incluído na agenda de prioridades de pesquisa das autoridades de saúde devido à rápida expansão da circulação do seu agente, dificuldades de controle, elevação da magnitude da incidência, gravidade das epidemias, bem como lacunas no conhecimento da fisiopatologia e dos fatores envolvidos na ocorrência da expressão clínica mais grave da doença - a FHD.

Desafortunadamente, o conhecimento científico acerca dos determinantes da doença ainda não tem sido suficiente para prevenir as infecções pelo vírus do dengue ou impedir a evolução da FD para a FHD. Neste sentido, esta tese buscou compreender como alguns aspectos clínicos e epidemiológicos relacionavam-se com a ocorrência desta forma grave do dengue. O desenho de estudo aqui adotado - caso controle - foi capaz de identificar um aumento no risco de ocorrência da FHD em pacientes diabéticos e em indivíduos alérgicos em uso de esteróides, até então, evidenciados apenas por estudos de séries de casos. Assumindo-se que a população aqui estudada foi previamente infectada por outro sorotipo diferente do DENV3, nossos resultados coadunam com a teoria das infecções seqüenciais proposta por Halstead.

Em que pese as limitações do nosso estudo, acreditamos que as evidências foram suficientemente fortes para respaldar a implementação de protocolos capazes de identificar mais precocemente indivíduos com maior risco de FHD, nos serviços de saúde. Desse modo, a relevância dos resultados desta Tese consiste na identificação do risco de FHD nestes indivíduos, além das evidências de que as

crianças necessitam de atenção especial em virtude do deslocamento da magnitude e da gravidade da FHD para este grupo etário.

Espera-se que a partir das discussões e argumentos aqui colocados sejam adotadas medidas precoces nos serviços de saúde, como, a triagem adequada dos indivíduos com maior risco (diabéticos e alérgicos em uso de esteróides), dos potencialmente em risco (hipertensos em uso de medicamento), visando garantir a permanência desses indivíduos sob rigorosa observação, bem como das crianças, que ora são o grupo com maior magnitude e gravidade da FHD em nosso país.

Por fim, recomendamos que sejam desenvolvidos outros estudos individualizados capazes de aprofundar a avaliação do risco dessas comorbidades para a ocorrência da FHD, bem como estudos que dêem conta de avaliar o risco de FHD em crianças, no nosso país.