

Inquérito sorológico, após epidemia de Dengue. Paraíso – São Paulo.

Serological survey after Dengue outbreak Paraíso city – São Paulo state

Sirle A. S. SCANDAR^{1*}
Rubens P. CARDOSO JUNIOR¹
Paulete GOLDENBERG²
Ivani B. FERREIRA³
Luiza T. M. DE SOUZA³

RIALA6/943

Scandar, S. A. S. et al - Inquérito sorológico, após epidemia de Dengue. Paraíso – São Paulo. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 62(2): 83 - 89,2003.

RESUMO. O estudo em questão teve como objetivo dimensionar a incidência da infecção de dengue, no município de Paraíso – SP, por ocasião da epidemia ocorrida em abril de 1993. O inquérito sorológico apresentou uma incidência de 3,7% indicando que aproximadamente 180 pessoas teriam sido infectadas pelo vírus durante a epidemia, mostrando assim uma relação de 1:12, isto é, para cada caso diagnosticado laboratorialmente, existiram 11 sem diagnóstico. Detectou-se relação entre sintomatologia e sorologia positiva, sendo os sintomas mais referidos a febre, dor de cabeça e dor no corpo. Não foram constatadas diferenças estatisticamente significativas, em relação à idade, sexo, ocupação e nível sócio-econômico. Destaca-se ainda que, dos indivíduos positivos detectados pelo inquérito sorológico, 33,0% não referiram sintomas.

PALAVRAS-CHAVE. Dengue, *Aedes aegypti*, epidemia, sorologia, ELISA.

Endereço para correspondência:

1 – Superintendência de Controle de Endemias

* Av. Philadelpho M. Gouveia Neto, 3101, 3º andar, São José do Rio Preto, SP 15060-040, Brasil.

2 – Universidade Federal Paulista de Medicina. Rua Pedro de Toledo, 675 Vila Clementino,

CEP – 04039032, São Paulo – Brasil

3- Instituto Adolfo Lutz. Av. Dr. Arnaldo, 355 – Cerqueira Cesar, São Paulo Brasil.

INTRODUÇÃO

Dengue é uma infecção viral aguda provocada por um dos quatro sorotipos de vírus (DEN 1, 2, 3 e 4) e transmitida pela picada de mosquitos do gênero *Aedes*, principalmente das espécies *aegypti* e *albopictus*.

Clinicamente, manifesta-se como uma doença infecciosa aguda caracterizada por um amplo quadro de sinais e sintomas que variam desde infecção assintomática ou febre indiferenciada até gravíssimos casos de diátese hemorrágica e choque, de elevada letalidade¹. A doença pode apresentar-se sob duas formas: Dengue Clássico e Dengue Hemorrágico (FHD)/ Síndrome de Choque do Dengue (SCD). O Dengue clássico caracteriza-se por febre alta de início abrupto, cefaléia severa, dor retro-orbital, dores musculares e articulares e erupção cutânea, podendo ocorrer alguns fenômenos hemorrágicos sem maiores conseqüências^{11,16}. O FHD / SCD é caracterizado por febre alta, inicialmente indiferenciável e apresentando, com frequência, insuficiência circulatória com ou sem choque^{11,6}.

No Estado de São Paulo houve a introdução do Dengue tipo 1, confirmado laboratorialmente, a partir do verão de 1990/1991.

O Serviço Regional – 08 da Sucen, que abrange 101 municípios, tem sede no município de São José do Rio Preto, e setores (unidades menores ligada à sede regional) sediados nos municípios de Catanduva, São José do Rio Preto, Votuporanga e Jales vêm registrando epidemias de dengue desde 1991. No final de 1992 havia uma grande preocupação em saber exatamente a dimensão das epidemias que vinham ocorrendo, prevenindo-se tendência de aumento no número de casos. De um lado essa preocupação se justificava devido ao caráter explosivo da doença, diante da falta de tratamento específico, da não-existência de vacinas e das dificuldades de combater os vetores e, de outro, a possibilidade da população já sensibilizada pela exposição se tornar vulnerável a FHD / SCD.

Diante dessas preocupações, nos propusemos a realizar inquérito sorológico com o objetivo de identificar casos positivos assintomáticos e/ou aqueles que, tendo apresentado sintomas durante a vigência da transmissão, não procuraram o serviço de saúde. Outro objetivo foi estimar a incidência da infecção por Dengue, caracterizando a frequência da mesma segundo sexo, idade, ocupação, sintomas e valor imobiliário na população estudada.

Tal investigação que se constitui no objeto do presente estudo se circunscreveu ao município de Paraíso - SP, com população de 4900 habitantes, o qual registrou pela primeira vez transmissão de Dengue em abril de 1993, com 15 casos positivos detectados pela vigilância clínica – epidemiológica e confirmados por laboratório.

MATERIAL E MÉTODOS

As coletas de sangue e informações dos participantes, foram realizadas na segunda quinzena do mês de maio e primeira

semana de junho de 1993.

Nos 90 quarteirões existentes no município, foi sorteada uma casa em cada quarteirão, para se obter maior dispersão das amostras. Em média, cada quarteirão tinha 10 casas, e a média de indivíduos por casa era de 4,5. O sorteio das casas, para se obter uma maior aleatoriedade, foi realizado em campo no momento da pesquisa.

As técnicas laboratoriais utilizadas na pesquisa de anticorpos para Dengue foram o teste imunoenzimático (Enzyme Linked Immunosorbent Assay – ELISA) e a reação de inibição da hemaglutinação (HI).

O ELISA de captura de anticorpos IgM (MAC-ELISA) apresenta vantagens sobre o HI, é de fácil execução, necessita apenas de uma amostra de soro/sangue dos pacientes e evidencia infecções recentes (até no máximo 90 dias). O HI, no caso de inquérito sorológico, uma amostra de sangue/soro é suficiente, na medida em que aponta a presença de anticorpos IgG, indicando que o indivíduo teve contato com a doença. A reação é considerada uma técnica clássica, ainda muito utilizada em inquéritos sorológicos^{10,13}.

Microplacas de poliestireno com 96 orifícios, de fundo chato, (Costar - Corning, NY, USA) foram sensibilizadas com anti - IgM humano (Sigma, Chemical, St Louis, USA). As amostras de soros humanos em teste foram diluídas a 1/40 em *phosphate buffer saline* (PBS) pH 7,4 com 0,5 % de albumina bovina (Sigma, Chemical, St Louis, USA). A seguir um “pool” de antígenos, dos vírus do Dengue sorotipos 1 e 2, contendo 16 unidades hemaglutinantes, foi adicionado. Esses antígenos foram produzidos a partir de cérebro de camundongos albinos Swiss lactentes infectados e preparados pelo método de extração da sacarose – acetona. O sistema de revelação da reação foi constituído de um conjugado anti-flavivírus marcado com peroxidase (Jackson Immuno Research Laboratories) e do cromógeno ABTS (2,2 – azino- di-3-ethyl-benzothiazoline sulfonic acid, Kirkegaard & Perry Laboratories – KPL, Gaithersburg, MD, USA). Para leitura de DO utilizou-se um ELISA Titertek Multiskan, filtro 414 nm⁹. O Valor do Limite de Reatividade (“cut off”) foi 0,200. Toda amostra de soro cujo valor de DO¹⁴ fosse maior ou igual a 0,200, foi considerada positiva. O Limite de Reatividade foi calculado utilizando-se a média dos valores de DO de amostras negativas somada a três vezes o desvio padrão.

Para a pesquisa total de anticorpos principalmente IgG, utilizou-se HI, com 4 unidades hemaglutinantes de antígenos para Dengue 1 e 2. Todas as amostras em teste foram tratadas com acetona PA e adsorvidas com hemácias de ganso. Considerou-se positiva a amostra que apresentou título maior ou igual a 1/20 para um dos antígenos de Dengue¹⁷.

A presença de reações positivas por MAC-ELISA e HI permitiu selecionar o participante como soropositivo.

Também coletou-se dados dos participantes tendo em vista identificar o padrão de distribuição de dengue na população estudada. Nesse sentido, obteve-se idade, sexo, ocupação, nível sócio-econômico e sintomatologia dos participantes de acordo

com recomendações preconizadas pela Organização Mundial de Saúde^{12, 14}.

As coletas de sangue e a obtenção das informações foram realizadas pelos funcionários da Unidade Básica de Saúde local.

A classificação por idade, foi codificada de 5 em 5 anos e para efeito de análise, de 20 em 20 anos.

Quanto à ocupação, os participantes foram inquiridos buscando, identificar se estavam ou não inseridos no mercado de trabalho. As ocupações foram categorizadas segundo a Classificação Brasileira de Ocupações (CBO), de acordo com os grandes grupos, posteriormente reagrupados, tendo em vista destacar o exercício profissional relacionado com atividades rurais, urbanas, bem como as atividades domésticas.

Procurando identificar a ocorrência de casos sintomáticos e assintomáticos, não detectados pela vigilância epidemiológica, foi registrada a presença de pelo menos um dos seguintes sintomas: febre, dor de cabeça, dor no corpo, vermelhidão, dor nas juntas, dor retro-ocular e fraqueza, no período de epidemia entre indivíduos que não procuraram a Unidade Básica de Saúde. Essas informações foram obtidas no caso das crianças, junto às mães ou aos responsáveis.

No intuito de identificar a existência da relação com o nível econômico dos indivíduos acometidos por Dengue, verificou-se o padrão de moradia dos indivíduos que participaram de pesquisa, levando-se em conta o valor imobiliário, em reais. As casas foram classificadas nos seguintes níveis:

- A acima de R\$ 100.000
- B de R\$ 60.000 a R\$ 99.000
- C de R\$ 30.000 a R\$ 59.000
- D abaixo de R\$ 29.000

A estimativa da ocorrência de dengue na amostra, para o período de abril a maio, foi calculada através da fórmula: número de casos positivos divididos pela população amostral vezes 100.

A incidência da infecção por Dengue foi caracterizada segundo idade, sexo, ocupação, nível sócio-econômico e sintomatologia. A relação entre positividade no teste sorológico e os outros dados foi aferida utilizando-se a estatística X^2 e teste exato Fisher aceitando-se $P < 0,05$.

Também, comparou-se a estimativa de Dengue obtida pelo inquérito sorológico com as informações da vigilância epidemiológica.

Expandindo-se os dados de positividade para a população do município em 1993, estimou-se a ocorrência total para o município, tendo em vista dimensionar a magnitude da epidemia.

RESULTADOS

Na tabela 1 mostramos a positividade no teste sorológico associado a dados dos participantes. Observa-se a presença de 42,1% de integrantes do sexo masculino, ou seja, uma relativa supremacia da proporção de mulheres.

Quanto à faixa etária, 30,1% da população amostral tinha menos de 19 anos; 33,0% entre 20 a 39 anos; 25,9% entre 40 a 59 anos; e, 11,0% entre os integrantes com 60 anos e mais.

Com relação à ocupação, integravam a amostra 21,8% de trabalhadores urbanos; 23,2% de trabalhadores rurais e 55,0% de aposentados e donas de casa, constituindo o segmento da população não economicamente ativa.

No que diz respeito ao valor imobiliário das habitações, 74,8% dos indivíduos viviam em imóveis com valor menor ou igual a R\$ 60.000 reais e 25,2% viviam em imóveis acima desse valor.

A presença de sintomas sugestivos de Dengue foi referida por 13 (3,2%) dos 409 indivíduos integrantes da amostra.

O levantamento sorológico, conforme a tabela 2, revelou positividade de 3,7%.

Relacionando a positividade da reação sorológica com as variáveis estudadas (tabela 1) constatamos distribuição semelhante por gênero, ou seja, a soropositividade foi de 3,5% no segmento masculino e 3,8% no feminino, ressaltando-se que essas diferenças não foram estatisticamente significantes.

No que concerne à idade, a porcentagem de soropositividade variou em torno de 2,0% na população com menos de 40 anos de idade; este valor dobrou (4,7%) na faixa de 40 a 59 anos; e, subiu para 8,9% entre os participantes da amostra com 60 anos e mais. Apesar das variações observadas, não foram encontradas diferenças significantes entre as porcentagens de soropositividade nas faixas de idade mencionadas.

Com relação à ocupação, a soropositividade entre os indivíduos que trabalhavam na zona urbana foi de 4,5%; entre os que trabalhavam na zona rural a proporção foi de 3,1%; e, entre os aposentados e donas de casa essa proporção foi de 3,6%. As diferenças encontradas de soropositividade não foram estatisticamente significantes ($p = 0,882$).

Constatamos pequenas variações de soropositividade segundo o nível sócio-econômico, considerado a partir do valor imobiliário (em reais) da habitação: 3,9% de positividade entre moradores de imóveis com valor menor que 60.000 reais e 3,7% entre moradores de imóveis acima desse valor. Aqui também não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes, evidenciando que a doença ocorreu de forma imparcial na população do município.

Do total dos indivíduos investigados, 13 apresentaram sintomas e, destes, 10 (76,9%) eram soropositivos, enquanto entre os 396 integrantes da amostra que não referiram sintomas, somente 1,3% apresentaram sorologia positiva para Dengue. Essas diferenças foram estatisticamente significantes ($p < 0,0001$), evidenciando um número substancial de indivíduos (66,7%) com soropositividade e sintomatologia presentes na amostra, que não utilizaram os serviços de saúde.

Os sintomas registrados na tabela 3, (febre, dor de cabeça, dor nas juntas, dor retro-ocular, exantema e fraqueza), embora comuns a várias doenças, apresentaram associação estatisticamente significativa com a positividade sorológica.

Tabela 1 - Soropositividade (%) para dengue segundo sexo, idade, ocupação, valor imobiliário e sintomas. Município de Paraíso, 1993

Variáveis	Total de Examinados		Positivos		Teste	Valor de p
	Nº	%	Nº	%		
Sexo						
Masculino.	172	42,1	6	3,5	Fisher	P=0,869
Feminino	237	57,9	9	3,8		
Total	409	100,0	15			
Idade						
Até 19 anos	123	30,1	3	2,4	qui-quadrado	p=0,1628
De 20 a 39	135	33,0	3	2,2		
De 40 a 59	106	25,9	5	4,7		
+ de 60 anos	45	11,0	4	8,9		
Total	409	100	15			
Ocupação						
Trabalhador urbano	89	21,8	4	4,5	qui-quadrado	p=0,882
Trabalhador rural	95	23,2	3	3,1		
Aposentados/domésticos	225	55,0	8	3,6		
Total	409	100	15			
Valor Imobiliário (em reais)						
< 60.000 reais	306	74,8	11	3,9	Fisher	p=0,5476
> 60.000 reais	103	25,2	4	3,7		
Total	409	100	15			
Sintomas						
Sim	13	3,2	10	76,9	Fisher	p<0,0001*
Não	396	96,8	5	1,3		
Total	409	100	15			

* Valor significativo ao nível de 5%

DISCUSSÃO

No inquérito sorológico, os 15 casos diagnosticados pelos testes de Mac-Elisa e Inibição da Hemaglutinação na amostra (409 indivíduos), permitiram estimar uma taxa de soropositividade de 3,7%. Supondo que a proporção de infecção da população geral seria igual à proporção de infecção dos indivíduos incluídos no estudo, a projeção desses valores indicaria a presença de 180 pessoas infectadas pelo vírus do Dengue durante a epidemia no município de Paraíso. Dando conta da real extensão da infecção, esses resultados apontariam para um valor muito acima do número de doentes que acessaram os serviços convencionais de saúde (que foram 28 indivíduos,

dos quais 15 foram positivos, e nenhum desses indivíduos participou deste inquérito sorológico). Portanto, no município de Paraíso (4900 hab.) observou-se uma relação de 1:12, entre casos diagnosticados e sem diagnóstico.

Em países asiáticos a positividade encontrada entre grupo de mulheres de maneira geral era superior ao observado entre os homens^{2,15}. No Brasil, alguns estudos têm mostrado essa diferença como o inquérito em Araguaína – TO¹⁸, que identificou maior positividade em mulheres do que em homens, em outros onde essa diferença não foi observada, como no estudo realizado em Ribeirão Preto³. O presente estudo, à semelhança desse último, também, não mostrou diferença de positividade entre homens e mulheres.

Tabela 2 – Soropositividade na população amostral (%). Município de Paraíso, 1993.

Resultado	Nº	%
Positivo	15	3,7
Negativo	394	96,3
Total	409	100

Da mesma forma, no que concerne à idade, era esperado que ocorresse maior positividade em crianças do que em adultos, como aconteceu em Cuba e em outros países^{6,7,8}. No presente estudo, observou-se um aumento de positividade com o avanço da idade, embora as diferenças observadas não fossem estatisticamente significantes.

De forma correlata, em relação a atividade ocupacional, esperava-se que fosse maior a incidência de positividade entre os aposentados, crianças e donas de casas, dado o hábito domiciliar do vetor, porém, esta expectativa não se confirmou, talvez por se tratar de município de pequeno porte, onde o local de residência e local de trabalho apresentavam características semelhantes no que se refere as condições que favoreceram a proliferação do vetor.

A incidência da infecção neste estudo não apresentou relação com o nível sócio-econômico, aferido pelo valor imobiliário, provavelmente por ser o município de pequeno porte, com casas de nível sócio-econômico distintas, mas inseridas de forma aleatória dentro da área urbana.

O estudo detectou relação entre sintomatologia e sorologia positiva, sendo os sintomas mais referidos, febre, dor de cabeça e dor no corpo. Esses dados põem em evidência a presença de um grande contingente de doentes que não são detectados pela rede de saúde, conforme referido anteriormente. Se o caráter pouco específico desses sintomas pudesse ser aventado na explicação do fato, ressalta-se a importância de explorar tal eixo na divulgação de informações aos serviços de saúde e população, visando maior sensibilidade do sistema de vigilância.

Destaca-se que dos 15 indivíduos positivos detectados pelo inquérito sorológico, cinco(33,0%) não referiram sintomas. Esse aspecto é de importante consideração, uma vez que a vigilância epidemiológica passiva existente no Estado de São Paulo¹⁶ está apoiada no diagnóstico clínico, e, neste caso, a presença de casos assintomáticos não seja detectada prejudicando a implementação das ações de controle do vetor com abrangência mais ampla possível em municípios com transmissão da doença.

Considerando o percentual de assintomáticos verificado no inquérito, dos 180 casos estimados de infecção para a população do município de Paraíso, 60 não teriam apresentado sintomas, contingente este nada desprezível, levando-se em

conta, particularmente, a dificuldade de cobrir cidades de grande porte com ações de vigilância epidemiológica e controle do vetor.

CONCLUSÕES

A realização do inquérito sorológico em 409 indivíduos, terminada a epidemia, possibilitou estimar uma taxa de soropositividade de 3,7% indicando que aproximadamente 180 indivíduos foram infectados pelo vírus do Dengue, enquanto apenas 15 casos foram confirmados pela vigilância epidemiológica (8,3% dos indivíduos infectados). Os 91,7% não notificados, provavelmente, foram assintomáticos, ou não procuraram os serviços de saúde.

Esses dados indicam que a maioria da população de Paraíso continua vulnerável à Dengue. Se uma epidemia de Dengue com outro sorotipo viral atingir o município de Paraíso, os 180 indivíduos que tiveram Dengue correrão um risco maior de apresentar Dengue Hemorrágico, se vierem a se infectar.

O estudo apontou para uma relação entre positividade e a presença de sintomas (particularmente febre, dor no corpo e dor de cabeça), que sinalizou para a presença de 67% de casos sintomáticos não detectados pela vigilância clínico-epidemiológica, além de significativa (33%) proporção de casos assintomáticos. A importância epidemiológica dessas infecções assintomáticas é grande, pois esses indivíduos são fonte de infecção para *Aedes aegypti*, isto é, ajudam na dispersão do vírus e, como não procuram atendimento médico, esses casos obviamente não são notificados, dificultando o direcionamento adequado das ações que visam interromper a transmissão.

Não foram encontradas diferenças significativas de positividade segundo sexo, idade, ocupação e nível sócio-econômico na amostra da população trabalhada no inquérito sorológico, o que indica que a exposição dos diferentes grupos ao vetor deve ter sido semelhante.

Destaca-se a relevância da realização de inquéritos sorológicos, no sentido de melhor conhecer a real extensão de infectados, como recurso adicional de monitoramento em períodos interepidêmicos, permitindo uma avaliação mais adequada dos resultados do programa de prevenção e controle da doença, bem como do risco de dengue hemorrágico a que a população está submetida.

Tabela 3 - Positividade Sorológica segundo sintomatologia (fraqueza, dor retro ocular, dor nas juntas, exantema, dor no corpo, dor de cabeça e febre). Município de Paraíso, 1993.

Variável	Total de Examinados		Positivos		Teste	Valor de p
	Nº	%	Nº	%		
Fraqueza						
Sim	1	0,24	1	6,67	Fisher	0,0366
Não	408	99,76	14	93,33		
Dor retro-ocular						
Sim	3	0,73	2	13,33	Fisher	0,0036
Não	406	99,27	13	86,67		
Dor nas juntas						
Sim	3	0,73	3	20	Fisher	0,0000
Não	406	99,27	12	80		
Exantema						
Sim	5	1,22	5	33,33	Fisher	0,0000
Não	404	98,78	10	66,67		
Dor no corpo						
Sim	10	2,44	7	46,67	Fisher	0,0000
Não	399	97,56	8	53,33		
Dor de cabeça						
Sim	9	2,2	7	46,67	Fisher	0,0000
Não	400	97,8	8	53,33		
Febre						
Sim	12	2,93	9	60	Fisher	0,0000
Não	397	97,07	6	40		

AGRADECIMENTOS

Aos funcionários da Seção de Vírus Transmitidos por Artrópodos do Instituto Adolfo Lutz – Central pelo apoio técnico e principalmente à técnica de laboratório Sandra Regina Mayer pela colaboração na realização dos testes MAC-

ELISA e HI.

Aos funcionários da Unidade Básica de Saúde do município de Paraíso pela colaboração na coleta do material encaminhado para exame.

A bolsista da FUNDAP Samara Hernandez e ao funcionário da SUCEN José Luiz de Souza pela colaboração na coleta de dados.

Scandar, S. A. S. et al - Serological survey after dengue outbreak Paraíso City – São Paulo state. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 62(2): 83 - 89,2003.

ABSTRACT. This study aims at measuring the dengue fever infection incidence in Paraíso City in the state of São Paulo due to an outbreak occurred in April, 1993. The serological survey showed an incidence of 3,7%, which indicates that approximately 180 people could have been infected by the virus during the outbreak. These data show that the symptomatic ratio is of 1:12, that is, for each case laboratorially diagnosed there were 11 without any diagnosis. A relationship between symptomatology and positive serology was found. Symptoms such as fever, headache and sore muscles were the most recalled ones. There was no statistically significant difference regarding age, sex, occupation and social-economical level. It is also important to highlight that 33% of the positive individuals detected by the survey didn't report any symptom.

KEY WORDS. Dengue, *Aedes aegypti*, epidemic, serology, ELISA

REFERÊNCIAS

1. Bravo, T.C. et al. Ecologia del Dengue y el *Aedes aegypti*. Investigación Preliminar. **Salud Pública Méx.**, 26(suppl. 1): 63-76, 1984.
2. Fan, W.F. et al. The Reemergence of Dengue in China. **Rev. Infect. Dis.**, 4: 847-53, 1989.
3. Figueiredo, L.T.M. et al. Encuesta Serológica sobre el Dengue en Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil. **Bol. Of. Sanit. Panam.**, 118(suppl. 6): 499 – 509, 1995.
4. Gubler, D. J. Vigilancia Activa del Dengue y de la Fiebre Hemorrágica del Dengue. **Bol. of Sanit. Panam.**, 107(suppl. 1): 22 - 31. 1989a.
5. Gubler, D.J.; Costa-Valez, A. A Program for Prevention and Control Epidemic Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever in Puerto Rico and the U.S. Virgin Islands. **Bull. PAHO**, 25(suppl. 3): 237-47, 1991.
6. Guzman, M. G. et al. Dengue Hemorrhagic Fever in Cuba I. Serological Confirmation and Clinical Diagnosis. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, 78(suppl. 2): 235-8, 1984.
7. Guzman, M. G. et al. Dengue en Cuba : Historia de una epidemia. **Rev. Cubana Med. Trop.**, 40(suppl. 2): 29-49, 1988.
8. Kouri, G. et al. Dengue hemorrágico en Cuba. Crónica de una epidemia. **Bol. Of. Sanit. Pan.**, 100: 322-8, 1986.
9. Kuno, G.; Gomez, I.; Gubler, D.J. Detecting artificial anti-dengue IgM immune complexes using an enzyme-linked immunosorbent assay. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, 36: 153 -59, 1987.
10. Monath, T. P.; Heinz, F.X. **Flaviviruses**. 3rd. ed. Philadelphia, Lippincott - Raven Publishers, 1996. p.961-1054: Fields Virology.
11. Organização Mundial da Saúde. **Dengue Hemorrágico: Diagnóstico, Tratamento e Controle**. Genebra, 1987.
12. Organización Mundial de la Salud. **Encuestas Serológicas múltiples y Bancos de la OMS para Sueros de Referencia**, 454: 104 , 1970. (Serie de Informes Técnicos).
13. Organização Panamericana de la Salud. Resurgimiento del dengue en las Américas. **Boletín Epidemiológico**, 18(suppl. 2), 1997.
14. Orenstein, W. A., et al. Field Evaluation of Vaccine Efficacy. **Bull. W.H.O** , 639(suppl. 6): 1055 - 68, 1985.
15. Qiu, F. X. et al. The First Epidemic of Dengue Hemorrhagic Fever in the Peoples Republic of China. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, 44(suppl. 4): 364 - 70, 1991.
16. Secretaria de Estado da Saúde. Centro de Vigilância Epidemiológica. **Manual de Vigilância Epidemiológica do dengue**. São Paulo, 1987a.
17. Shope, R. E. The use of micro – hemagglutination - inhibition test to follow antibody response after arthropod – borne virus infection in a community of forest animals. **An. Microbiol.**, 11: 167-71, 1983.
18. Vasconcelos, P.F.C. et al. Epidemia de Febre Clássica de Dengue causada pelo sorotipo 2 em Araguaina, Tocantins, Brasil. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, 35(suppl. 2): 141-48, 1993.

Recebido em 13/09/2002 ; Aprovado em 15/05/2003