



Textos para Discussão

OLHAR CONTEMPORÂNEO AO PROBLEMA
SECULAR DAS ARBOVIROSES NO BRASIL



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

GOVERNO FEDERAL

Presidente da República
Jair Bolsonaro

Ministro da Saúde
Luiz Henrique Mandetta

Secretaria-Executiva
João Gabbardo dos Reis

Presidente da Fundação Oswaldo Cruz
Nísia Trindade Lima

SAÚDE AMANHÃ

Coordenação geral
Paulo Gadelha

Coordenação Executiva
José Carvalho de Noronha

Coordenação Editorial
Telma Ruth Pereira

Apoio técnico
Natalia Santos de Souza Guadalupe

Normalização bibliográfica
Monique Santos

Projeto gráfico, capa e diagramação
Robson Lima — Obra Completa Comunicação

TEXTOS PARA DISCUSSÃO

Publicação cujo objetivo é divulgar resultados de estudos desenvolvidos no âmbito do Projeto Saúde Amanhã, disseminando informações sobre a prospecção estratégica em saúde, em um horizonte móvel de 20 anos.

Busca, ainda, estabelecer um espaço para discussões e debates entre os profissionais especializados e instituições do setor.

As opiniões emitidas nesta publicação são de exclusiva e de inteira responsabilidade das autoras, não exprimindo, necessariamente, o ponto de vista da Fiocruz/MS.

O projeto Saúde Amanhã é conduzido pela Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) no contexto da “Estratégia Fiocruz para a Agenda 2030”/Fiocruz.

É permitida a reprodução deste texto e dos dados nele contidos, desde que citada a fonte. Reproduções para fins comerciais são proibidas.

URL: <http://saudeamanha.fiocruz.br/>

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

S729o Souza, Thiago Moreno L.

Olhar contemporâneo ao problema secular das arboviroses no Brasil / Thiago Moreno L. Souza. – Rio de Janeiro: Fundação Oswaldo Cruz, 2019. 38 p. – (Textos para Discussão; n. 37)

Bibliografia: p. 32-37.

I. Arbovirose. 2. Brasil. 3. Agenda 2030. 4. Doenças negligenciadas. I. Souza, Thiago Moreno L. II. Fundação Oswaldo Cruz. III. Título. IV. Série.

CDU: 614.44:578.833.1/2(81)

Textos para Discussão
Nº 37

OLHAR CONTEMPORÂNEO AO PROBLEMA SECULAR DAS ARBOVIROSES NO BRASIL

Discussão da agenda 2030, dentro do objetivo:

“Até 2030, acabar com as epidemias de AIDS, tuberculose, malária e doenças tropicais negligenciadas, e combater a hepatite, doenças transmitidas pela água, e outras doenças transmissíveis”.

Thiago Moreno L. Souza, PhD

Centro de Desenvolvimento Tecnológico em Saúde (CDTS)
Fundação Oswaldo Cruz

Documento apresentado durante o Seminário “Doenças Negligenciadas e a Agenda 2030”,
realizado em 31 de julho de 2019, na Fiocruz.

Rio de Janeiro, agosto 2019

AUTOR

Thiago Moreno L. Souza

Graduação em Ciências Biológicas pela Universidade Federal Fluminense (2003) e doutorado (2008) em Química Biológica pela Universidade Federal do Rio de Janeiro. Atualmente é Especialista em Saúde Pública da Fundação Oswaldo Cruz. Atua no Centro de Desenvolvimento Tecnológico em Saúde (CDTS) e grupo de pesquisa no desenvolvimento pré-clínico de novas drogas antivirais no Instituto Oswaldo Cruz.

SUMÁRIO

Apresentação	7
Resumo	11
Os alertas epidêmicos	11
Arboviroses que impactam a saúde pública brasileira	14
Dengue	16
Febre Amarela	18
Zika	20
Chikungunya	23
Vigilância e Diagnóstico	25
Controle de Vetor	26
Vacinas	27
Antivirais	29
Considerações Finais	31
Referências Bibliográficas	32

APRESENTAÇÃO

CARLOS MOREL, Coordenador do Centro de Desenvolvimento Tecnológico em Saúde/Fiocruz.

JOSÉ CARVALHO DE NORONHA, Coordenador Executivo da Iniciativa Brasil Saúde Amanhã/Fiocruz

A Agenda 2030 tem como seus objetivos ser uma ferramenta para orientar esforços direcionados ao alcance do desenvolvimento sustentável. Busca-se o equilíbrio entre a prosperidade humana e a proteção do planeta, com os seguintes princípios básicos: acabar com a pobreza e a fome; lutar contra as desigualdades; e, combater mudanças climáticas. Dentre os 17 Objetivos do Desenvolvimento Sustentável, há um diretamente relacionado à saúde: ODS 3 – Saúde e Bem-Estar – assegurar uma vida saudável e promover o bem-estar para todos, em todas as idades.

O estabelecimento pelas Nações Unidas dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) para 2030 como compromissos globais constituem um marco legítimo de referência. A Fundação Oswaldo Cruz estabeleceu uma estratégia em relação a esses ODS, denominada Estratégia Fiocruz para a Agenda 2030. Como instituição estratégica de Estado para a Saúde, a Fiocruz assume o compromisso de protagonizar a superação dos desafios que hoje se impõem ao sistema de saúde do país, buscando soluções efetivas para os problemas atuais e antecipando questões futuras.

O Seminário “Doenças Negligenciadas e a Agenda 2030” relaciona-se com o Objetivo do Desenvolvimento Sustentável nº 3 (“Assegurar uma vida saudável e promover o bem-estar para todas e todos, em todas as idades”) e em particular com a meta 3.3 (“Até 2030, acabar com as epidemias de AIDS, tuberculose, malária e doenças tropicais negligenciadas, e combater a hepatite, doenças transmitidas pela água, e outras doenças transmissíveis”). Como a meta 3.3 se refere a um conjunto heterogêneo de entidades - epidemias, doenças tropicais negligenciadas, doenças transmitidas pela água, outras doenças transmissíveis, propõe-se neste documento abordar os diferentes enfoques conceituais.

Doenças Tropicais Negligenciadas: qual definição adotar?

Em artigo de 2011 no Valor Econômico¹ Morel analisou a evolução do conceito de “doenças negligenciadas” identificando quatro estágios ou pontos de vista:

- Doenças negligenciadas pelas agências financiadoras de C&T, como defendido por Kenneth Warren durante seu período como Diretor do Programa *The Great Neglected Diseases of Mankind* da Fundação Rockefeller (Warren, 1986; Keating, 2017);
- Doenças negligenciadas pelas grandes companhias farmacêuticas (Trouiller et al, 2002);

¹ “Promotoras da pobreza”, Valor Econômico 22 de agosto de 2011.

- Doenças resultantes do subdesenvolvimento (para uma revisão desta visão consultar Camargo, 2008 (Camargo, 2008));
- Doenças promotoras da pobreza; a revista *PLOS Neglected Tropical Diseases* tem sido uma propagadora desta visão, como inscrito em seus objetivos².

A visão que essas enfermidades são, ao mesmo tempo, consequência e causa do subdesenvolvimento econômico e social está presente em diversos relatórios e estudos internacionais como os organizados pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 2001) e pelos Médicos Sem Fronteiras (Médecins Sans Frontières, 2001).

E quais são estas doenças? A lista não é unânime e reflete, necessariamente, o perfil da organização, instituição ou governo responsável pela elaboração da mesma, como demonstram as listas da OMS e da *PLOS Neglected Tropical Diseases*. Além dessas listas globais ou internacionais, é comum cada governo estabelecer suas próprias prioridades, que podem variar ao longo do tempo.

Em 2005 o Ministério da Saúde do Brasil lançou um programa de pesquisa e desenvolvimento em doenças negligenciadas que incluía seis doenças: dengue, doença de Chagas, leishmanioses, hanseníase, malária e tuberculose. Em 2008, na segunda edição do Edital, foi adicionada esquistossomose na lista das doenças negligenciadas que eram prioritárias para a instituição (Morel et al, 2009). Já no “Relatório Saúde Brasil 2017: uma análise da situação de saúde e os desafios para o alcance dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável”, o Ministério da Saúde lista as seguintes doenças como negligenciadas: doença de Chagas, esquistossomose mansoni, hanseníase, filariose linfática, leishmaniose tegumentar, leishmaniose visceral, oncocercose, raiva humana, tracoma (Brasil, 2018).

No quadro abaixo constam as doenças tropicais negligenciadas segundo visão da OMS³:

Buruli ulcer	Mycetoma, chromoblastomycosis and other deep mycoses
Chagas disease	Onchocerciasis (river blindness)
Dengue and Chikungunya	Rabies
Dracunculiasis (guinea-worm disease)	Scabies and other ectoparasites
Echinococcosis	Schistosomiasis
Foodborne trematodiasis	Soil-transmitted helminthiasis
Human African trypanosomiasis (sleeping sickness)	Snakebite envenoming
Leishmaniasis	Taeniasis/Cysticercosis
Leprosy (Hansen's disease)	Trachoma
Lymphatic filariasis	Yaws (Endemic treponematoses)

Para a revista PLOS as doenças tropicais negligenciadas são definidas como um grupo de doenças infecciosas crônicas promotoras da pobreza, que ocorrem principalmente em áreas rurais e áreas urbanas pobres de países de baixa e média renda. Elas promovem a pobreza por causa de seu impacto na saúde e desenvolvimento infantil, gravidez e produtividade do tra-

² A Public Library of Science (PLOS), fundada como uma alternativa às crescentes restrições das publicações científicas tradicionais, é uma organização sem fins lucrativos comprometida em tornar a literatura médica científica mundial um recurso público acessível a todos (<https://journals.plos.org/plosntds/s/journal-information>).

³ https://www.who.int/neglected_diseases/diseases/en/

balhador, bem como por suas características estigmatizantes. As principais doenças tropicais negligenciadas dentro do âmbito de atuação da PLOS constam no quadro abaixo:

Protozoan infections	Amebiasis, Balantidiasis, Chagas Disease, Giardiasis, Human African Trypanosomiasis, Leishmaniasis
Helminth Infections	Taeniasis-Cysticercosis, Dracunculiasis, Echinococcosis, Food-borne Trematodiasis, Loiasis, Lymphatic Filariasis, Onchocerciasis, Schistosomiasis, Soil-transmitted Helminthiasis (Ascariasis, Hookworm Diseases, Trichuriasis, Strongyloidiasis), Toxocariasis and other Larva Migrans
Viral Infections	Dengue, Japanese encephalitis, Jungle yellow fever, Other arboviral infections, Rabies, Rift Valley fever, Viral hemorrhagic fevers
Bacterial infections	Bartonella, Bovine Tuberculosis in Humans, Buruli Ulcer, Cholera, Enteric pathogens (Shigella, Salmonella, E. coli), Leprosy, Leptospirosis, Relapsing Fever, Trachoma, Treponematoses (Bejel, Pinta, Syphilis, Yaws)
Fungal infections	Mycetoma, Paracoccidiomycosis
Ectoparasitic Infections	Scabies, Myiasis

HIV/AIDS, malária e tuberculose não são geralmente consideradas pela PLOS como doenças negligenciadas.

Uma recente mudança de paradigma se refere à questão: deve-se tratar de doenças negligenciadas ou de doenças de populações negligenciadas? Essa questão permeou as discussões e conclusões de quatro interessantes oficinas de trabalho promovidas em 2004-2005 pelo Ministério da Saúde de Uganda, em colaboração com a OMS, quando se buscou a integração de serviços de saúde de base populacional em vez de implementação de programas verticais focados em doenças específicas (WHO, 2005).

A falta de consenso entre pesquisadores, gestores, fomentadores, entre outros atores, tem imputado a várias organizações a responsabilidade pela omissão de determinadas doenças em listas de prioridades. Por exemplo, a própria OMS e a revista padrão no assunto, a *PLOS Neglected Tropical Diseases*, foram acusadas de negligência com a meningite criptocócica, doença tão negligenciada que nem consta nas listas dessas organizações (Molloy et al, 2017); em janeiro deste ano o pesquisador japonês Yuki Furuse demonstra como algumas doenças negligenciadas são negligenciadas pelos próprios pesquisadores (ex: ascaridíase e ancilostomíase) enquanto outras são objeto de tantos estudos que chega a ser paradoxal receberem este rótulo (ex: doença de Chagas, leishmanioses e hanseníase) (Furuse, 2019).

Embora a abordagem conceitual da iniciativa Brasil Saúde Amanhã consistente com a Agenda 2030 implique na adoção de doenças negligenciadas como aquelas que afetam populações “negligenciadas”, que foram “deixadas para trás”, o Seminário buscou se concentrar nas doenças transmissíveis que afetam predominantemente essas populações no Brasil, focando na epidemiologia, nas razões porque essas doenças persistem e nas intervenções que precisam ser desenvolvidas, melhoradas ou tornadas mais acessíveis aos pacientes.

Nesta série de Textos para Discussão, serão apresentados os quatro trabalhos elaborados por pesquisadores da Fiocruz para o Seminário:

1. “Uma estratégia integrada para eliminação das doenças tropicais negligenciadas”, por Fabio Zicker, Priscila Costa Albuquerque e Bruna de Paula Fonseca e Fonseca;
2. “Negligenciadas entre as mais negligenciadas: as doenças causadas por fungos”, por Marcio L. Rodrigues;

3. “Olhar contemporâneo ao problema secular das arboviroses no Brasil”, por Thiago Moreno L. Souza;
4. “Carga das Doenças Negligenciadas: Avanços e Dilemas”, por Laura Cristina Simões Viana, Letícia Barreiro Gomes e Joyce Mendes de Andrade Schramm.

Referências Bibliográficas

- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Doenças negligenciadas no Brasil: vulnerabilidade e desafios. In BRASIL. Ministério da Saúde. **Saúde Brasil 2017**. Uma análise da situação de saúde e os desafios para o alcance dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável. Brasília: Ministério da Saúde, 2018. Disponível em: <http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/saude_brasil_2017_analise_situacao_saude_desafios_objetivos_desenvolvimento_sustentavel.pdf>.
- CAMARGO, ERNEY P. Doenças tropicais. **Estud. av.**, São Paulo, v. 22, n. 64, p. 95-110, Dec. 2008 .
- FURUSE, Y. Analysis of research intensity on infectious disease by disease burden reveals which infectious diseases are neglected by researchers. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 116(2):478{483, January 2019.
- KEATING, CONRAD. **Kenneth Warren and the Great Neglected Diseases of Mankind Programme: The Transformation of Geographical Medicine in the US and Beyond**. Berlin: Springer Biographies, 1st edition, 2017.
- MÉDECINS SANS FRONTIÈRES. Access to Essential Medicines Campaign and the Drugs for Neglected Diseases Working Group. **Fatal Imbalance: The Crisis in Research and Development for Drugs for Neglected Diseases**. Brussels: Medecins Sans Frontieres, 2001.
- MOLLOY, S. F., et al. Cryptococcal meningitis: A neglected NTD? **PLOS Neglected Tropical Diseases**, 11(6):e0005575, June 2017.
- MOREL, CARLOS M. et al. Co-authorship network analysis: A powerful tool for strategic planning of research, development and capacity building programs on neglected diseases. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, 3(8):e501, 2009.
- TROUILLER, P. et al. Drug development for neglected diseases: a deficient market and a public-health policy failure. **The Lancet**, 359 (9324): 2188 - 2194, June 2002.
- WARREN, KENNETH S. The great neglected diseases of mankind, or All the world's an orphanage. In SCHEINBERG & WALSH (Ed.). **Orphan diseases and orphan drugs**. Manchester: Manchester University Press e The Fulbright Commission, 1986.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO Commission on Macroeconomics and Health. **Macroeconomics and Health: Investing in Health for Economic Development**. Report of the Commission on Macroeconomics and Health. Geneva: World Health Organization, 2001.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **From neglected diseases to neglected populations: to reach the un-reached: report of the regional sensitization workshops on implementation of integrated disease prevention and control interventions.** / Compiled by M. Nanyunja, WHO Uganda ,D. Mbulamberi, MoH Uganda and N.Zagaria, WHO Geneva. Geneva: World Health Organization, 2005. Disponível em <<https://apps.who.int/iris/handle/10665/69859>>.

OLHAR CONTEMPORÂNEO AO PROBLEMA SECULAR DAS ARBOVIROSES NO BRASIL

1. RESUMO

Há cerca de 120 anos, Oswaldo Cruz engajava-se em campanhas contra a febre amarela, peste bubônica e varíola, um marco nas políticas de saúde pública baseadas em evidências. Apesar do sucesso de Oswaldo Cruz naquele momento e dos incontáveis avanços na medicina e biotecnologia, o início do século XXI é marcado pela reemergência de febre amarela e de outras doenças causadas por arbovírus (vírus transmitidos por artrópodes, sobretudo mosquitos do gênero *Aedes*). Os quatro sorotipos do vírus da dengue apresentam marcante circulação no Brasil desde as décadas de 1980, tornando-se hiperendêmicos. Ainda, nos últimos 5 anos, observamos a emergência dos vírus Zika e chikungunya. A patogênese da Zika foi associada a malformações congênitas, como a microcefalia, cujo impacto de longo prazo no SUS é imensurável. Além disso, a infecção pelo vírus Zika pode disparar casos atípicos de paralisia neuromuscular em adultos, tanto na fase aguda, quanto na convalescente, associando-se, neste último caso, com a síndrome de Guillain-Barré. O vírus Zika pode ser transmitido sexualmente e ser encontrado, na sua forma infectiva, em vários fluidos biológicos. Chikungunya se associa a dores articulares, que podem se tornar crônicas, e distúrbios neuromusculares incapacitantes. Neste texto, revisaremos a epidemiologia, as características dos principais arbovírus, sua patogênese e manifestações clínicas. Ainda, revisaremos as informações contemporâneas sobre vigilância/diagnóstico, vacinas, controle de vetores e antivirais.

2. OS ALERTAS EPIDÊMICOS

Os arbovírus são transmitidos aos seres humanos através da picada de um artrópode infectado, mais comumente por mosquitos. Globalmente, o tema tem tido baixa prioridade de fomento internacional, por se tratar de doença de caráter tropical. Há a percepção contemporânea de mudança deste cenário, devido a vários fatores que denotam que os agentes infecciosos tropicais podem causar epidemias em países temperados. O vírus Zika (ZIKV) exemplifica bem esta percepção. Por ter mais de um modo de transmissão, pela picada de mosquitos e via sexual, o ZIKV despertou maior interesse por parte de países desenvolvidos. Enquanto o uso da palavra-chave “Zika” era comum a 4 trabalhos em 2013 no pubmed (plataforma de busca de artigos científicos), contemporaneamente mais de 1900 registros são encontrados. Alinhado com raciocínio de que o impacto no hemisfério norte faz diferença no interesse sobre o tema arboviroses; hoje, o número de pesquisas sobre a Zika supera as buscas pela palavra-chave “dengue”. Por sua vez, a dengue, nunca foi associada à transmissão sexual, sendo transmitida somente pela picada

do mosquitos e, portanto, é infrequente em países de clima temperado. Além disso, como registrado pela OMS, o ZIKV passou do quase anonimato à emergência de saúde pública, de preocupação internacional. Isso traz mais exposição ao problema das arboviroses.

Diversas são as causas para as epidemias de arbovírus, as quais temos vivenciado nos últimos anos (Quadro 1). Além do ZIKV, passamos a conviver com o vírus chikungunya (CHIKV), com o risco de reurbanização do vírus da febre amarela (YFV) e com a hiperendemicidade dos 4 sorotipos do vírus dengue (DENV). O mau manejo de lixo urbano, formando reservatórios de água parada após episódios de chuvas e a destruição de coberturas florestais pelos humanos expõe-nos ao ciclo silvestre dos arbovírus. O intenso tráfego de pessoas, que pode conduzir rapidamente indivíduos infectados, em período de incubação, entre países e sistemas de saúde mal organizados, sendo despreparados para responder a epidemias de doenças tropicais, também tornam as arboviroses, doenças virais de especial interesse global.

Atualmente, as áreas de incidência de vetores são mais extensas na América do Norte e Europa. Mais de 3 bilhões de pessoas vivem em regiões de prevalência do *Aedes spp.* O risco das arboviroses se associa com a capacidade reprodutiva do vetor, que começa a ser real a partir de 15.5 °C, com pico em 29 °C. O aumento de décimos de graus Celsius, coloca populações de países temperados também em risco de transmissão. Não existem estudos desta natureza para o Brasil ou para o restante do continente sul-Americano.. Podemos ponderar, entretanto, que regiões mais ao sul do Brasil e das Américas estariam mais sujeitas a epidemias de arbovírus atualmente do que no passado.

Quadro 1 – Causas, consequências e impactos associados a epidemia de arbovírus

Causa	Consequência	Impacto
Mau manejo de lixo urbano	Reservatórios de água parada	Aumento de atividade do Vetor
Destruição de cobertura florestais	Exposição a ciclo silvestre viral	Aumento de atividade do Vetor
Intenso tráfego de pessoas	Disseminação de pessoas em período de incubação	Ampliação em escala global da cadeia de transmissão
Sistemas de saúde mal organizados	Identificação tardia de casos	Aumento de hospitalização/ morbi-mortalidade e ampliação na cadeia de transmissão
Aquecimento Global	Aumento nos territórios de prevalência de mosquitos	Aumento do espectro de humanos expostos em potencial aos arbovírus

Fonte: Burt *et al.*, 2017; Shaily e Upadhy, 2019; Wilder-Smith *et al.*, 2019.

Podemos citar alguns exemplos da surtos de proporções mundiais das arboviroses, como referência. Em 2016, ocorreu surto de YFV na África, com exportação de casos para Ásia, colocando em risco quase 50% da população mundial. A Ásia possui os vetores *Aedes aegypti* e *A. albopictus*, além de uma grande quantidade de pessoas não vacinadas para febre amarela. O CHIKV provocou substancial impacto econômico e de saúde pública em 2013–14 no Caribe e na América Latina. A dispersão do CHIKV nas Américas aconteceu em velocidade e escala sem precedentes. Hoje o CHIKV é uma das principais arboviroses brasileiras, causando mortalidade de 1-5 casos a cada 1000 confirmados. Além disso, provoca debilidades de longo prazo aos pacientes. O vírus do Nilo Ocidental (WNV), introduzido nos EUA em 1999, espalhou-se rapidamente pela América do Norte e do Sul em poucos anos. O vírus da encefalite japonesa (JEV) se espalhou ainda mais para o oeste, norte e sul da Ásia, com intenso risco de afetar a saúde humana e veterinária no Brasil. Soma-se a este cenário o caráter hiperendêmico do vírus da dengue (DENV) que ocorreu nas últimas quatro décadas em vários países tropicais.

Elencamos a (re)emergência de vários arbovírus, de interesse contemporâneo para saúde pública, a fim de ilustrar o aumento do interesse global sobre o tema, dentre estes destacam-se os *Flavivirus* (YFV, DENV, ZIKV, WNV, JEV) e *Alphavirus* (CHIKV). Contudo, mais de 500 arbovírus presentes na natureza são conhecidos, muitos destes com patogênese imponderável e representando potencial ameaça à saúde pública. A Zika exemplifica bem o problema que poderemos enfrentar com outros arbovírus; enquanto havia expectativa de ser uma doença branda e auto-limitada, a realidade mostrou associação com teratogênese.

Dentre estes mais de 500 arbovírus, listamos aqueles que já representam algum tipo de ameaça da saúde global (Quadro 2). Estes apresentam atividade limitada a certos territórios, mas têm grande potencial de impactar a saúde global nos próximos anos. Por nos concentrarmos nas arboviroses contemporâneas brasileiras, que já demandam substanciais recursos do Ministério da Saúde, não serão discutidos em profundidade, neste capítulo, os arbovírus restritos a territórios mais específicos. Mesmo assim, damos destaque àqueles que podem se tornar problemas globais em breve: i) outros *Alphavirus*, Família *Togaviridae*, representado pelo vírus Mayaro (MAYV) nas Américas, e ii) membros da família *Bunyaviridae*, representado pelos vírus oropouche (OV), Rift Valley (RVV) e da síndrome da doença febril e trombocitopenica grave (SFTSV) nas Américas, África e Ásia, respectivamente. Mais importante do que colocar alguns agentes infecciosos no radar da vigilância, é construir estratégias para detecção precoce de potenciais ameaças a saúde pública. Por isso, mencionamos a insígnia doença X, que passou a ser utilizada pela Organização Mundial de Saúde (OMS), desde 2018, para alertar sobre a potencial emergência de doenças infecciosas. A doença X deve figurar no imaginário daqueles que lidam com respostas a emergências de saúde pública. Assim, estratégias para vigilância/diagnóstico, combate ao vetor, desenvolvimento de vacinas e antivirais deverão ser desenhadas de maneira integrada, atacando os arbovírus em sua totalidade.

Quadro 2* – Principais arbovírus com potencial epidêmico

Família Viral	Nome Vírus	Distribuição	Doença
Bunyaviridae	Vírus La Crosse	EUA Central e Oriental	Febre Arboviral
	Vírus da febre do vale do Rift	África	Febre Arboviral
	vírus síndrome febre e trombocitopenia (SFTSV)	Ásia	Febre Arboviral
	Vírus Oropouche	América Latina	Febre Arboviral
	Vírus de febre hemorrágica da Crimeia Congo	África, Ásia, Europa	Febre hemorrágica
Flaviviridae	Dengue vírus tipo 1	Em todo o mundo	Febre Arboviral
	Vírus da dengue do tipo 2	Em todo o mundo	Febre Arboviral
	Vírus da dengue do tipo 3	Em todo o mundo	Febre Arboviral
	Vírus da dengue do tipo 4	Em todo o mundo	Febre Arboviral
	Vírus do Nilo Ocidental	Em todo o mundo	Febre Arboviral
	Vírus da febre amarela	EUA, África	Febre Arboviral
	Vírus da encefalite japonesa	Ásia, Austrália	Encefalite
	Vírus da encefalite de St. Louis	América do Norte	Encefalite
	Vírus Zika	África do Sul, Tailândia	Dano neurológico, SGB
Togaviridae	Vírus Chikungunya	Ásia, África	Febre Arboviral
	Vírus Mayaro	América do Sul	Febre Arboviral
	O'nyong-Marlene vírus	África	Febre Arboviral
	Vírus do Rio Ross	Austrália,	Febre Arboviral
	Vírus de floresta de Semliki	África	Gastroenterite
	Vírus da encefalite equina Oriental	EUA, Caribe	Encefalite
	Vírus da encefalite equina venezuelana	EUA, Caribe	Encefalite
	Vírus da encefalomielite equina ocidental	EUA, Caribe	Encefalite

*Originalmente preparado para este texto

3. ARBOVIROSES QUE IMPACTAM A SAÚDE PÚBLICA BRASILEIRA

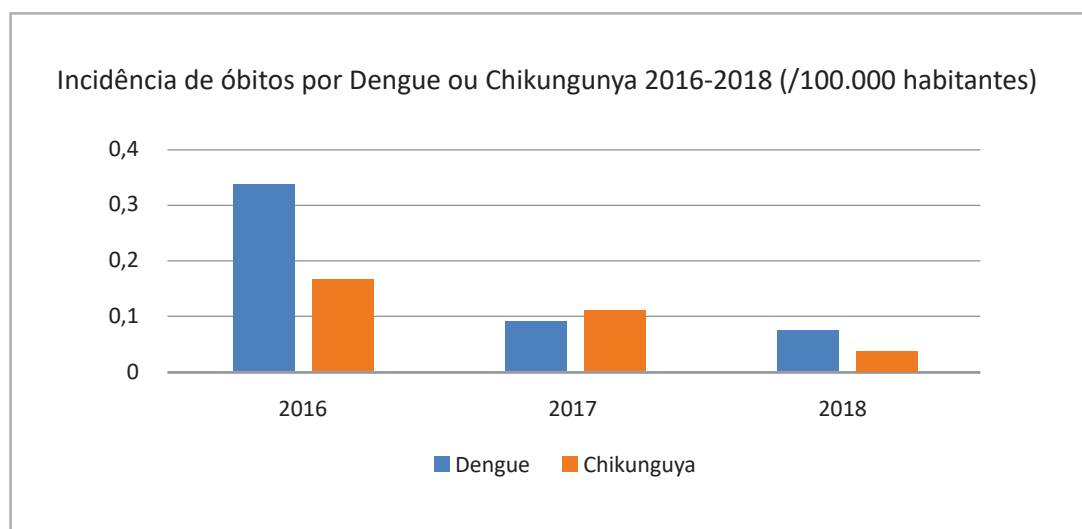
ZIKV, CHIKV, DENV são os agentes que afetam a saúde pública brasileira de maneira consistente nos últimos anos, de acordo com os informes do boletim epidemiológico do Ministério da Saúde (Brasil, 2019) (Tabela 1, Figuras 1 a 3). Em 2016, começamos a observar uma consistente incidência de CHIKV e ZIKV, concomitantemente a epidemia de dengue (Tabela 1). Apesar da drástica queda na incidência de ZIKV nos anos subsequentes (Tabela 1), DENV e CHIKV se mantêm em consistente circulação no país. DENV e CHIKV são os agentes etiológicos de 0,05 a 0,35 óbitos/100.00 habitantes brasileiros no último triênio (Tabela 1 e Figura 1). Além dos óbitos, estas arboviroses demandam substanciais recursos de saúde pública, sendo exemplificado por casos de dengue com sinais de alarme/gravidade em proporções até 20x superiores ao quantitativo de óbitos (Figura 1). O ZIKV, desde 2015, torna-se a principal causa de microcefalia no país (Figura 3). De 2015 a 2017, aproximadamente 40% dos casos de microcefalia são associados ao ZIKV, tendo sido metade confirmada laboratorialmente (Figura 3). A maior parte dos casos confirmados laboratorialmente, 60 %, foi registrada em 2016 (Figura 3).

Tabela 1 - Incidência de dengue, chikungunya e Zika no Brasil em 2018 por 100 mil habitantes

Doença	Incidência por 100 mil habitantes		
	2016	2017	2018
Dengue	719,9	114,8	127,5
Chikungunya	134,8	89,0	42,1
Zika	104,9	8,4	4,2

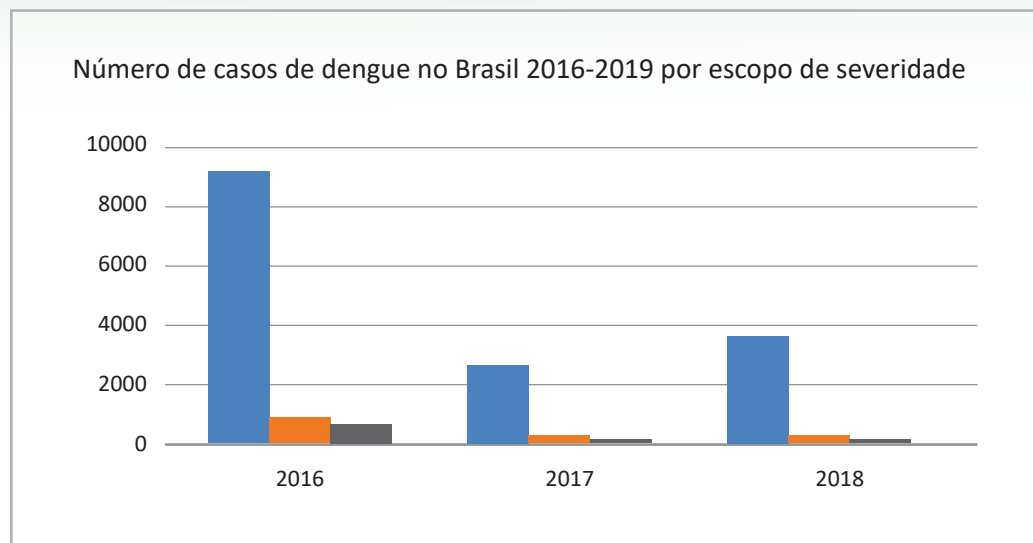
Fonte: dados públicos sumarizados a partir de <<http://www.saude.gov.br/boletins-epidemiologicos>>

Figura 1 – Óbitos por DENV e CHIKV no Brasil



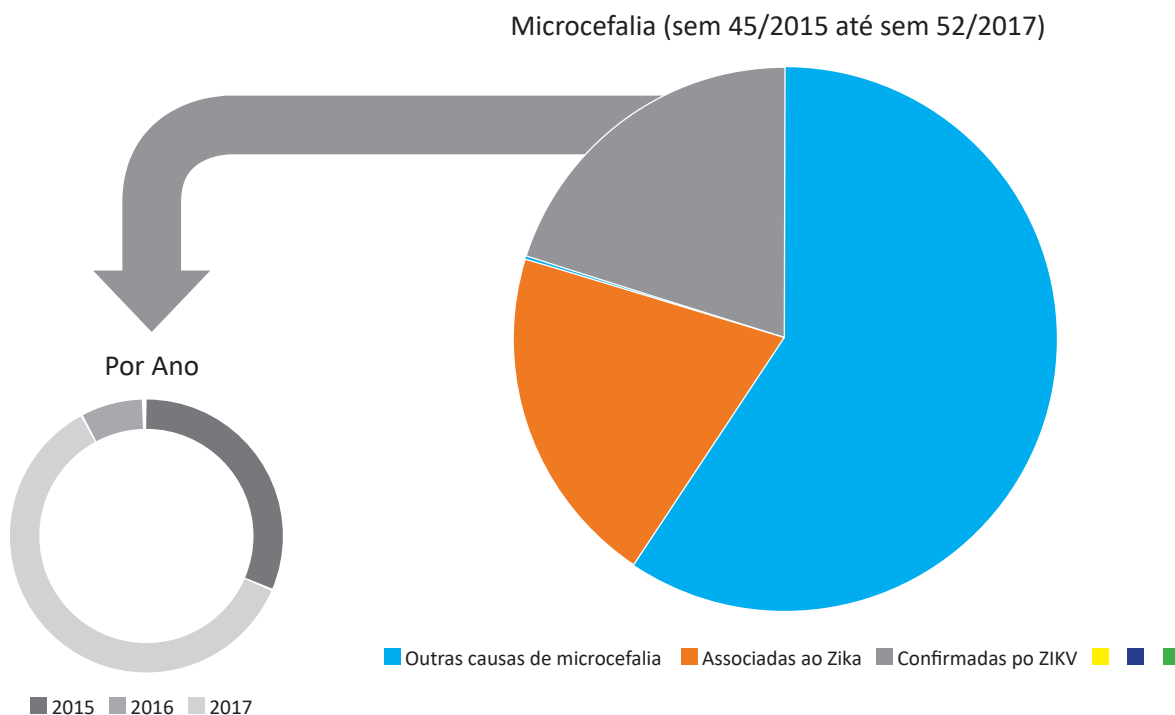
Fonte: Dados públicos sumarizados a partir de <<http://www.saude.gov.br/boletins-epidemiologicos>>

Figura 2 – Casos de dengue no Brasil



Fonte: Dados públicos sumarizados a partir de <<http://www.saude.gov.br/boletins-epidemiologicos>>

Figura 3 – Casos de Microcefalia associada a Zika no Brasil



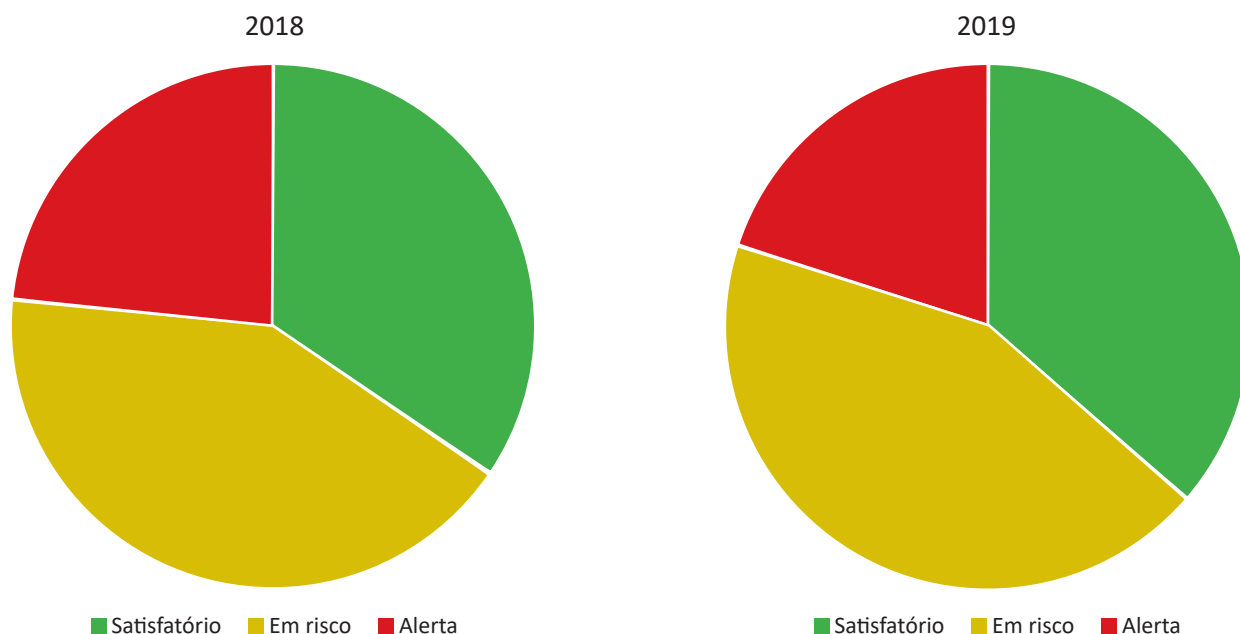
Fonte: Dados públicos sumarizados a partir de <<http://www.saude.gov.br/boletins-epidemiologicos>>

Além de DENV, ZIKV e CHIKV, incluiremos o YFV nesta revisão, devido ao caráter endêmico e surtos recentes. Desde 2007 até a atualidade, a atividade do YFV nas áreas adjacentes às coberturas florestais do Sul e Sudeste do Brasil aumentou. Em conjunto, são quase 723 casos confirmados em humanos com mortalidade de 32 % (Brasil, 2019).

ZIKV, YFV e DENV são *Flavivirus* (família *Flaviviridae*), ao passo que o CHIKV é um *Alpha-virus* (família *Togaviridae*). Todos podem possuir ciclos zoonóticos com primatas não-huma-

nos e mosquitos arbóreos, como os insetos membros dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes*. O ciclo urbano envolve o vetor *A. aegypti*, e em alguns casos, o *A. albopictus*, para transmissão entre humanos. Consistentemente com a reemergência de vários arbovírus, mais de metade dos municípios brasileiros registram falta de controle de vetores nos últimos anos (Figura 4). Assim, a população está vulnerável aos arbovírus, favorecendo o aumento de casos de doenças conhecidas, com a dengue, ou até a emergência de doença X.

Figura 4 – Índice de infestação predial das municipalidades Brasileiras



Fonte: Dados públicos sumarizados a partir de <<http://www.saude.gov.br/boletins-epidemiologicos>>

4. DENGUE

4.1. EPIDEMIOLOGIA

A dengue é a doença arboviral mais frequente globalmente, aumentando mais que qualquer outra doença transmissível, 400% em 13 anos (2000-13) (Wilder-Smith *et al.*, 2019). Paralelamente, investimentos em desenvolvimento de vacinas e novas medidas de controle de vetores aumentaram exponencialmente na última década (Wilder-Smith *et al.*, 2019). A incidência anual é de aproximadamente 400 milhões por ano, sendo 25 % assintomáticos. Aproximadamente, 75 % dos casos estão na Ásia, seguida pela América Latina e África (Wilder-Smith *et al.*, 2019). Quase 10% de todos os episódios febris são devidos à dengue, constituindo 2 a 9 episódios por 100 pessoas/anos na América Latina (Wilder-Smith *et al.*, 2019). A hospitalização por dengue foi de 19% na Ásia e de 11% na América Latina (Lazou *et al.*, 2016). A taxa de ataque de dengue em viajantes internacionais (sem imunidade constituída), de 5 a 51 casos por 1.000 meses de viagem (Ferguson *et al.*, 2016), demonstra que a dengue ultrapassa a malária como principal doença associada a viagem.

DENV é hiperendêmico no Brasil, com sintomatologia registrada desde 1846 no Rio de Janeiro. Após erradicação do vetor na década 1970, os sorotipos 1, 2, 3 e 4 são reintroduzidos

no Brasil nos anos de 1986, 1990, 2000 e 2010, respectivamente. Cada uma destas novas introduções se associa com uma nova grande epidemia de dengue, seguida de reemergência a cada 8-10 anos (Salles *et al.*, 2018).

4.2. O VÍRUS

O DENV pertence ao gênero *Flavivirus*, família *Flaviviridae*, com quatro sorotipos. O DENV contém envelope lipídico e genoma de RNA fita-simples de cadeia positiva. O DENV produz três proteínas estruturais (capsídeo [C], pré-membrana [prM] e envelope [E]) e sete proteínas não-estruturais (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5). A proteína E liga-se a receptores celulares para permitir a entrada do vírus. A ação de anticorpos contra esta proteína pode fornecer proteção, isto é, os antígenos nesta proteína podem ser atacados por anticorpos. A NS1 representa importante antígeno liberado durante a replicação viral, sendo usado para o desenvolvimento de terapias e diagnóstico. Proteínas como a NS3 a NS5, com função protease e replicase, respectivamente, tem sido alvo do desenvolvimento de antivirais (Wilder-Smith *et al.*, 2019).

4.3. A PATOGÊNESE

Os sorotipos de DENV 1–4 apresentam algumas similaridades nos antígenos da proteína E, favorecendo a produção de anticorpos específicos para cada tipo, bem como reativos contra outros DENVs, no indivíduo infectado. Após a infecção com um certo tipo de DENV, a resposta imune fornece proteção de longo prazo para este sorotipo (proteção homóloga), mas a proteção contra outros sorotipos de DENV é de curta duração (proteção heteróloga). Paradoxalmente, a exposição a um sorotipo de DENV aumenta o risco de dengue grave após infecção secundária com vírus heterólogo (Guzman *et al.*, 2010).

O aumento da replicação viral dependente de anticorpos (ADE) indica que a reação cruzada ou concentrações sub-neutralizantes de anticorpos permite ao DENV heterólogo ter sua entrada facilitada em células alvo, como monócitos, macrófagos e dendríticos. Durante a ADE, o vírus também se esconde da resposta imunológica (Ong *et al.*, 2017). Portanto, a ADE resulta em viremias mais altas, maiores níveis de inflamação (Rothman, 2011), que induzem aumento do vazamento vascular, levando potencialmente ao choque hipovolêmico - isto é, à síndrome do choque da dengue. DENV também pode ativar e matar plaquetas diretamente (Hottz *et al.*, 2013), aumentando a permeabilidade vascular.

Fatores do hospedeiro também podem contribuir para gravidade da DENV. Vários estudos identificaram polimorfismos genéticos associados a doenças mais graves. Numa análise de mais de 3500 pacientes com dengue grave, polimorfismos nos genes codificantes das proteína B relacionada à cadeia I do MHC (MICB) e da fosfolipase C epsilon 1 (PLCE1) se associaram a gravidade. Assim, a análise destes genes constituem importante bio-marcadores para associação com risco (Wilder-Smith *et al.*, 2019).

4.4. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Como toda infecção, existe uma parcela da população exposta que permanece assintomática, cerca de 25%. Nos sintomáticos, a dengue se caracteriza como uma doença febril que pode estar acompanhada por anomalias bioquímicas e hematológicas.

Em 2009, a OMS recomenda identificar indivíduos sintomáticos como portadores de dengue grave, quando: i) há vazamento substancial de plasma para causar síndrome de choque da dengue ou desconforto respiratório, ii) sangramento grave ou iii) comprometimento grave de órgão (WHO, 2009).

Algumas complicações são mais comuns na fase de defervescência, exigindo identificação imediata para facilitar o gerenciamento eficaz do caso. O mais notável é uma vasculopatia mal definida, caracterizada pelo aumento da permeabilidade vascular, vazamento de plasma e depleção do volume intravascular, que pode progredir para a síndrome de choque da dengue com risco de vida (Rosenberger *et al.*, 2016). Efusões serosas (pleurais, peritoneais e às vezes pericárdicas) refletem a gravidade da vasculopatia, mas são difíceis de detectar clinicamente até que o choque seja estabelecido (Rosenberger *et al.*, 2016). Estudos ultra-sonográficos indicam que efusões pleurais, ascite e edema da parede da vesícula biliar estão comumente presentes durante o tratamento. Episódios recorrentes de choque podem ocorrer entre 48 e 72 horas, com episódios repetidos associados a um aumento substancial da mortalidade (Rosenberger *et al.*, 2016). Em bebês, idosos, gestantes e aqueles com hipertensão ou doença vascular, os distúrbios clínicos de choque às vezes não são aparentes.

5. FEBRE AMARELA

5.1. EPIDEMIOLOGIA

O vírus da febre amarela (YFV) foi introduzido nas Américas, provavelmente, através do comércio de escravos no século XVI. A febre amarela (FA) se tornou uma das principais infecções nos séculos subsequentes. Na América do Sul, o YFV é endêmico do Paraguai ao norte da Colômbia e Venezuela (Douam e Ploss, 2018).

Devido a estratégias de vacinação poucos casos de FA eram registrados na América do Sul no século XX. No entanto, na última década do século XXI, vários países da América do Sul passaram por grandes eventos de re-emergência da FA. Em 2008-2009, surto em áreas não endêmicas de São Paulo e do Rio Grande do Sul provocou mortalidade de 39 e 43%, respectivamente. Desde dezembro de 2016 até maio de 2017, ocorreu surto excepcional no Brasil, com 792 casos confirmados em humanos e mortalidade em torno 35%. Numa aparente sazonalidade, a disseminação dos casos diminuiu entre julho de 2017 e o começo de janeiro de 2018 (WHO, 2018). Subsequentemente, nos 3 primeiros meses de 2018, 4.847 e 920 casos são confirmados em primatas não-humanos e humanos, respectivamente (@Newsfromscience, 2017; WHO, 2018). Dos casos em humanos, 300 óbitos foram registrados (@Newsfromscience, 2017; WHO, 2018). Podemos dizer que os casos de FA aumentaram 1,8x quando comparado aos 35 anos anteriores (@Newsfromscience, 2017). A maior parte destes casos está concentrada no Rio de Janeiro, São Paulo e Minas Gerais, e aparentemente se conectam pelos cursos dos rios utilizados pelos primatas não-humanos no Sudeste (Delatorre *et al.*, 2019). O surto de YFV na porção costeira do Brasil revela que as áreas mais densamente povoadas apresentam baixa cobertura vacinal.

A FA é endêmica da floresta Amazônica, sendo mantida por mosquitos arbóreos dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes*. O risco de reurbanização é real, caso o vírus se adapte aos mosquitos do gênero *Aedes*. Há nítida falha nas políticas de prevenção da FA, evidenciada pela não inclusão de bebês de 9 meses de idade no calendário regular de vacinação dos estados do Sul, Sudeste e Nordeste, como ocorre nas regiões Norte e Centro-Oeste. A dificuldade na produção

de vacina para atender a população geral obrigou o fracionamento da dose, a qual protege por pelo menos 8 anos.

A vacina contra FA é contraindicada para pessoas com hipersensibilidade aos seus componentes, imunodeficiência severa e idade inferior a 6 meses (Staples *et al.*, 2010). Embora a vacina contra YFV seja altamente eficaz e uma das vacinas mais seguras da história, eventos adversos graves de doenças neurológicas (YEL-AND) e viscerotrópicas (YEL-AVD) são descritos em proporções de 0,8 e 0,4 casos por 100.000 doses distribuídas (Lindsey *et al.*, 2008). Não há tratamento específico contra FA selvagem ou vacinal. Inegavelmente, diante da falta de controle de vetores, a negligência na prevenção da FA através de vacinação é mortal – em um terço dos casos.

Em paralelo a baixa cobertura vacinal, também há de se notar que ocorreu aumento da atividade silvestre de YFV em primatas não-humanos. Ao todo, esses dados também mostram que o YFV se espalhou da área da bacia Amazônica para Mata Atlântica no Sudeste do país. Não são claros os conjuntos de fatores que favoreceram a dispersão do YFV mais recentemente. No campo das hipóteses, intangíveis de avaliação laboratorial precisa, temos profundas alterações ambientais, tais como: i) plantio de soja desde a região sul até Amazônia legal e a parte oeste da mata atlântica, ii) quebra de barragem de rejeito de minérios, e iii) maior frequência de episódios de el Niño/la niña.

5.2. O VÍRUS

Assim como DENV, o YFV pertence ao gênero *Flavivirus*, contendo envelope lipídico e genoma de RNA fita simples polaridade positiva. Este genoma codifica uma poliproteína de 3400 aminoácidos – dividindo-se em três proteínas estruturais (C, PrM e E) e sete proteínas não-estruturais (NS1, NS2A-2B, NS3, NS4A-B e NS5) (Beasley *et al.*, 2015; Monath e Vasconcelos, 2015). O YFV liga-se de maneira inespecífica ao sulfato de heparan sulfato na superfície das células hospedeiras, como hepatócitos ou células dendríticas (CDs) (Beasley *et al.*, 2015; Monath e Vasconcelos, 2015). No entanto, o receptor celular hospedeiro ao qual a principal glicoproteína do envelope YFV se liga antes da fusão do vírus permanece desconhecido. A entrada do YFV ocorre por endocitose mediada por clatrina (Beasley *et al.*, 2015; Monath e Vasconcelos, 2015). Anticorpos contra proteína E podem neutralizar o vírus. ADE não foi registrada no caso infecção por DENV e posterior infecção heteróloga por YFV, ou vice-versa.

5.3. A PATOGÊNESE

Após a picada do mosquito infectado, ocorre o período de incubação de 3 a 6 dias, mais remissão de 1 a 2 dias. Muitos pacientes (20 a 60%) evoluem para uma fase mais tóxica da doença, com febre hemorrágica, icterícia, trombocitopenia, insuficiência hepática e renal, levando a múltipla disfunção orgânica e até a morte (Douam e Ploss, 2018).

O YFV é viscerotrópico em humanos, com intensa replicação no fígado (Quaresma *et al.*, 2007). Inicialmente, o vírus infecta DCs da pele, após a picada do mosquito. Em seguida as DCs migram para os gânglios linfáticos. Nos gânglios linfáticos o YFV replica, chega ao sangue periférico e finalmente ao fígado. O YFV induz a apoptose de hepatócitos e a necrose lítica, que, combinada com a esteatose, resulta na maioria dos danos hepáticos observados durante a infecção. Lesões significativas também foram registradas no coração, timo, rim e baço, onde o YFV também pode replicar (De Brito *et al.*, 1992).

Os mecanismos precisos da patogênese induzida pelo YFV são pouco compreendidos, especialmente devido à escassez de modelos animais custo-efetivos que reproduzam características humanas da patogênese do YFV. Nosso conhecimento é limitado a biópsias de tecido humano de casos fatais de FA e modelos animais (Douam e Ploss, 2018). A apoptose de hepatócitos é considerada central na patogênese da FA (De Brito *et al.*, 1992). Além do efeito citopático induzido pelo vírus, vários estudos sugerem que a própria resposta imune, por meio de uma resposta sistêmica e desequilibrada da citocinas (ou tempestade de citocinas), é um dos principais impulsionadores da hepatotoxicidade e doença da FA (Quaresma *et al.*, 2006; Douam *et al.*, 2017).

5.4. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

FA pode variar desde assintomática quanto sintomática, ou até na forma fulminantes (Staples *et al.*, 2010; Paessler e Walker, 2013; Beasley *et al.*, 2015; Monath e Vasconcelos, 2015; Barnett e Maxwell, 2007; Douam e Ploss, 2018; Hamer *et al.*, 2018; Song *et al.*, 2019). Infecções assintomáticas ou subclínicas e formas leves da doença podem apresentar alterações apenas em exames laboratoriais específicos.

O período prodrômico ou fase infecciosa apresenta febre alta (chegando a 39 °C ou 40 °C), cefaleia e mialgia. Inicialmente, os sintomas aparecem abruptamente após 5 a 14 dias do período de incubação. Há melhora clínica após as primeiras 48 a 72 horas, com reaparecimento dos sintomas em sequência. A segunda fase é o período de intoxicação, toxemia ou fase de localização. Nesse momento, o quadro clínico piora subitamente. Nesta fase, o vírus é encontrado especialmente no fígado e baço, podendo em alguns casos ser detectado no coração, nódulos linfáticos e outros órgãos.

Outras manifestações hemorrágicas também estão presentes, como sangramento uterino, epistaxe, melena, hemorragias do tegumento, gengivas e orelha. No início do sangramento pode ocorrer trombocitopenia. Na febre amarela há hemorragias causadas por coagulação intravascular disseminada, associada a ativação do complemento, consumo de fator de coagulação, deposição de fibrina e fibrinólise.

Na forma maligna da doença ocorre a insuficiência hepatorenal, marcado por icterícia, bilirrubina e aumento de aminotransferases muitas vezes 50x superior aos valores de referência, e um aumento muito pronunciado dos níveis séricos de ureia e creatinina.

6. ZIKA

6.1. EPIDEMIOLOGIA

A percepção de que o ZIKV causa uma infecção leve e autolimitada foi prejudicada durante o surto deste agente em ilhas do Pacífico e nas Américas, quando o ZIKV se espalhou explosivamente entre 2007-2017 (Lanciotti *et al.*, 2008; Musso *et al.*, 2014; Metsky *et al.*, 2017).

O ZIKV foi isolado em 1947 em macaco rhesus sentinelas na floresta de Zika em Uganda (Dick *et al.*, 1952). Por meio século, menos de 20 infecções humanas foram documentadas (Lanciotti *et al.*, 2008; Musso *et al.*, 2014). Entre os anos de 2007-2014 cerca de 30 mil infecções sintomáticas foram descritas desde ilha de Yap dos Estados Federados da Micronésia até a Polinésia Francesa, no Pacífico Sul (Lanciotti *et al.*, 2008)2008.

Em 2015 os sistemas de vigilância em saúde registram o ZIKV pela primeira vez nas Américas (em março no Brasil) e, até janeiro de 2016, a circulação deste vírus se tornou autóctone (WHO, 2015; Cardoso *et al.*, 2015). Trabalhos seminais demonstram a circulação do ZIKV por pelo menos um ano antes da data de registro pelos sistemas de vigilância epidemiológica (Metsky *et al.*, 2017). Como o ZIKV não estava na lista de patógenos que causava preocupação médica, invariavelmente o quadro clínico era confundido com dengue. Na ausência de um algoritmo para testar os casos negativos de dengue em pacientes sindrômicos, o ZIKV circulou ignorados por aproximadamente um ano antes da sua percepção. Atualmente, a co-circulação do ZIKV, DENV e CHIKV se tornou global nos trópicos (Ioos *et al.*, 2014; Musso e Gubler, 2016).

ZIKV foi associado a síndrome de Guillain-Barré (SGB) em adultos e microcefalia em neonatos (Oehler *et al.*, 2014; Calvet *et al.*, 2016; Campanati *et al.*, 2016; Cao-Lormeau *et al.*, 2016).

6.2. O VÍRUS

Assim como DENV e YFV, o ZIKV pertence ao gênero *Flavivirus*, com genoma de RNA fita simples polaridade positiva e nucleocapsídeo cercado por bicamada lipídica. Seu genoma tem organização similar ao DENV e YFV, com três proteínas estruturais (C, PrM e E) e sete proteínas não-estruturais (NS1, NS2A-2B, NS3, NS4A-B e NS5) (Sirohi *et al.*, 2016).

6.3. A PATOGÊNESE

O ZIKV é único, além de ser transmitido por *Aedes spp.*, sua transmissão por contato sexual está bem documentada (Musso *et al.*, 2015; Musso e Gubler, 2016). Há registros inclusive de sua transmissão por contato físico, sendo encontrado vírus infeccioso em fluidos biológicos mais diversos, como sangue, líquido amniótico, saliva, lagrimeira, sêmen, fluido vaginal, suor e líquido cefalorraquidiano (Musso *et al.*, 2015; Musso e Gubler, 2016).

As células das camadas epidérmica e dérmica da pele encontram o vírus logo após a picada do vetor. Fibroblastos dérmicos, queratinócitos epidérmicos, macrófagos teciduais e células dendríticas podem ser infectadas. As DCs e macrófagos servem para transportar o vírus para os nódulos linfáticos, onde se multiplicam. O vírus então se difunde para o sangue, tecidos periféricos e órgãos viscerais.

Aparentemente o ZIKV evade da resposta antiviral do hospedeiro por buscar sítios de privilégio imune (Brizzi, 2017). Células-tronco neurais do adulto e células progenitoras neurais no tecido fetal são suscetíveis. Astrócitos também são vulneráveis ao ZIKV. A síndrome de Guillain-Barré em adultos pode ser devido à infecção viral das células produtoras de mielina, como oligodendrócitos no sistema nervoso central e células de Schwann no sistema nervoso periférico. A infecção do tecido neural fetal perturba seu desenvolvimento, resultando na Síndrome da Zika Congênita (SZC). As unidades básicas da placenta, as vilosidades coriônicas são revestidas externamente com sinciciotrofoblastos multinucleados que são circundados por sangue materno. Internamente aos sinciciotrofoblastos estão os citotrofoblastos mononucleares que envolvem outras células, como as células de Hofbauer, os fibroblastos, as células mesenquimais e os vasos sanguíneos fetais. As vilosidades coriônicas funcionam como barreiras placentárias. Vários tipos de células das vilosidades coriônicas produzem ZIKV infeccioso. Ainda as células de Hofbauer (macrófagos placentários) podem albergar o vírus desde a circulação materna até a circulação fetal. Na SZC, a viremia da mãe se torna indetectável, ao passo que a produção viral

medida no líquido amniótico é contundente. No tecido testicular as junções entre as células de Sertoli (barreira do sangue testicular) restringem o acesso dos constituintes do sangue às células germinativas dos túbulos seminíferos. A infecção concomitante de células de Sertoli e macrófagos do interstício testicular permite que o ZIKV cruze essas junções e invada células germinativas, que também são permissivas ao vírus. A infecção viral das células germinativas garante a presença do vírus no sêmen e sua propagação via rotas sexuais. No tecido ocular, a barreira retiniana do sangue restringe a passagem de macromoléculas e outros agentes nocivos para a retina. O ZIKV pode infectar o epitélio pigmentar da retina e as células do endotélio da retina (células que traçam os capilares da retina). Esses tipos de células constituem a barreira retiniana do sangue. A quebra da barreira retiniana permite o acesso do ZIKV à retina e aos compartimentos internos do olho. A infecção do tecido ocular pode levar à degeneração coriorretiniana e afinamento da retina.

6.4. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Como o advento da epidemia do ZIKV as associações com malformações congênitas, como microcefalia, tornaram-se claras (Calvet *et al.*, 2016; Lazear *et al.*, 2016; Simonin *et al.*, 2016; Bardina *et al.*, 2017; Moore *et al.*, 2017; Morrison e Diamond, 2017; Pantoja *et al.*, 2017; Terzian *et al.*, 2017; @Cdcgov, 2019). Estima-se atualmente que a frequência de SZC e microcefalia seja de 0,5 e 0,1 % das gestantes confirmadas, respectivamente. Além disso, Zika pode evoluir agudamente ou na fase convalescente para doença neuromuscular paralisante, compatível a SGB. Essas morbidades associadas à infecção por ZIKV levaram a OMS a declarar o surto de Zika como uma emergência de saúde pública de preocupação internacional.

A Zika se caracteriza por doença exantemática e/ou febril que pode ser acompanhada de erupção cutânea, artrite, artralgia, mialgia, conjuntivite e fadiga (Cerbino-Neto *et al.*, 2016). Ao contrário da dengue e chikungunya, indicar a data precisa de início dos sintomas pode ser difícil na Zika, porque não há início clínico abrupto. A maioria dos pacientes busca atendimento médico devido ao exantema, o qual está associado ao estágio virêmico. Os resultados negativos de RT-PCR do ZIKV não descartam o diagnóstico de Zika, porque o estágio virêmico é curto e a viremia baixa. O período de incubação parece ser de 3,5 dias até 6-10 dias.

O ZIKV aumentou em torno de 20x o número de notificações de SGB na Polinésia Francesa. Destes, 74% eram do sexo masculino, a idade mediana foi de 42 anos (variando de 20 a 74 anos), necessitando de internação em unidade de terapia intensiva, com ventilação mecânica para prevenir o óbito. A SGB é relatada como uma complicação de outras infecções por arbovírus, incluindo DENV, WNV e CHIKV. Ainda não existe uma resposta inequívoca se a SGB relacionada à Zika se associa com ADE, como se o ZIKV fosse um vírus heterólogo para pacientes já expostos ao DENV. No entanto, existem relatos de caso de ADE com alguns pacientes com SGB associada a Zika, necessitando uma vigilância consistente. No Brasil e em El Salvador, durante a epidemia de ZIKV, 62 e 54% dos pacientes com SGB apresentavam sintomatologia consistente Zika, respectivamente.

De 2010 a 2014, o número anual de casos relatados de microcefalia no Brasil variou de 150 a 200 casos. Uma relação entre o ZIKV e a microcefalia foi suspeitada pela primeira vez no Brasil no final de outubro de 2015, com um aumento nos casos relatados em Pernambuco. Em meados de dezembro, 1.761 casos foram registrados em 13 estados. o Brasil confirmou 3.893 casos de microcefalia desde outubro de 2015. Após investigações retrospectivas, foram relataram ainda

dezenas de malformações do sistema nervoso central em recém-nascidos coincidentes com o surto de ZIKV, configurando a SZC.

7. CHIKUNGUNYA

7.1. EPIDEMIOLOGIA

Nos últimos 5 anos, as Américas, a África e a Eurásia foram severamente afetadas pelo CHIKV. O Brasil é emblemático, além da endemia de dengue, de Zika, dos surtos de FA, dois genótipos de CHIKV, asiático e ECSA, co-circularam desde 2013 (Souza *et al.*, 2019).

O CHIKV foi isolado pela primeira vez em 1952 na Tanzânia. Antes de 2000, ocorreram surtos de CHIKV esporadicamente, com relatos na África. Desde 2000, o vírus tem re-emergido, causando vários surtos de formas graves da doença (Petersen e Powers, 2016). Em 2004, uma cepa epidêmica da linhagem ECSA emergiu e se espalhou a partir do Quênia para as ilhas do Oceano Índico, causando surto de magnitude sem precedentes (Petersen e Powers, 2016). O ressurgimento do vírus foi relatado na Índia, após sua ausência por 32 anos, durante 2005–06 (Petersen e Powers, 2016).

A cepa/linhagem do Oceano Índico destaca-se pela presença da mutação A226V na proteína de envelope E1, a qual contribui para adaptação ao *A. albopictus*, mas não para o *A. aegypti* (Petersen e Powers, 2016).

No ocidente, CHIKV foi identificado na ilha Saint Martin em 2013, se espalhando para as Américas (Petersen e Powers, 2016) e se tornando autóctone. A caracterização genética mostrou que a linhagem circulante no Caribe e nas Américas é derivada da cepa asiática, assemelhando-se às aquelas que circulam nas Filipinas (2013), China (2012) e Yap (2013).

No Brasil, os registros de CHIKV pelos sistemas de vigilância epidemiológica são de 2014, com os genótipos asiáticos e ECSA co-circulando. O Genótipo asiático e ECSA entraram no Brasil pelas regiões Norte (Oiapoque, Amapá) e Nordeste (Feira de Santana, Bahia), respectivamente (Nunes *et al.*, 2015; Teixeira *et al.*, 2015). Assim como no caso da circulação do ZIKV nas Américas, o CHIKV também circulou por um ano antes de sua detecção oficial (Souza *et al.*, 2019). Ainda, a chikungunya se tornou a arbovirose mais prevalente em algumas cidades brasileiras. Finalmente, o genótipo ECSA de CHIKV encontrado no Brasil se correlaciona a casos da África Central da década de 1980, sugerindo uma circulação deste vírus ignorada pelo mundo por quase 40 anos, provavelmente sendo confundido com casos de outras arboviroses ou até malária (Souza *et al.*, 2019).

7.2. O VÍRUS

O CHIKV pertence à Família *Togaviridae* e gênero *Alphavirus*; portanto apresenta algumas diferenças em relação aos *Flavivirus* mencionado acima. O CHIKV possui genoma de RNA fita simples polaridade positiva que codifica quatro proteínas não estruturais (nsP1-4), com cinco proteínas estruturais (C, E3, E2, 6K e E1) expressas a partir de RNA sub-genômico sintetizado em células infectadas. Os receptores celulares do CHIKV permanecem desconhecidos. Os virions de CHIKV são internalizados por endocitose mediada por clatrina, mas as evidências disponíveis também sugerem que a entrada pode ser específica para certos tipos de células ou que múltiplos receptores podem ser usados (Gasque *et al.*, 2018).

7.3. A PATOGÊNESE

Apesar de extensa revisão sobre a patogênese do CHIKV ter sido feita (Burt *et al.*, 2017; Gasque *et al.*, 2018; Haese *et al.*, 2016), os mecanismos celulares e moleculares associados a gravidade ainda não são entendidos na plenitude.

Durante a fase inicial e aguda da infecção, altos títulos de CHIKV estão presentes no sangue, resultando em viremia que pode ser detectada por RT-PCR em tempo real nos primeiros dias de infecção. A resposta inflamatória resultante coincide com a elevação dos mediadores imunológicos, seguida pela infiltração de células imunes nas articulações infectadas e nos tecidos adjacentes. Pacientes com infecção aguda e crônica (ou sub-aguda) pelo CHIKV apresentam altas concentrações de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas circulantes. Entretanto, existe considerável variação entre os resultados desses estudos.

O número de células T ativadas e efectoras circulantes está aumentado em pacientes com artrite induzida por CHIKV, e estudos em camundongos sugerem que as células T desempenham um papel importante na patogênese da artrite viral. Os pacientes infectados com chikungunya desenvolvem uma resposta de anticorpos robusta, com IgM detectável em dias e IgG neutralizante mensurável na segunda semana. Sabe-se que anticorpos monoclonais humanos neutralizantes para chikungunya se ligam à glicoproteína do envelope E2.

O CHIKV infecta vários tipos celulares, como células dendríticas, macrófagos, fibroblastos sinoviais, células endoteliais, miócitos, e osteoblastos humanos – o que pode contribuir para artralgia. Não são claros os fatores que promovem artrite persistente em alguns pacientes. As vias imunes que controlam ou desencadeiam esses sintomas crônicos permanecem indefinidas, mas existe associação entre a fase sub-aguda, persistência da viremia e a resposta inflamatória. Por exemplo, proteínas virais foram detectadas em macrófagos de macacos infectados experimentalmente por CHIKV, mesmo muito tempo após a infecção aguda ter sido resolvida, sugerindo persistência do vírus infeccioso. Estudos adicionais são necessários para distinguir entre essas possibilidades para desenvolver terapêuticas eficazes, especialmente porque os medicamentos imunossupressores podem ser deletérios no contexto de uma infecção persistente.

7.4. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

O CHIKV causa doença febril debilitante associada a artralgia e erupção cutânea (Burt *et al.*, 2017; Ganesan *et al.*, 2017; Brizzi, 2017; Gasque *et al.*, 2018; Haese *et al.*, 2016). Embora a dor e o edema articular prolongado e debilitante diferenciem a infecção pelo CHIKV entre os arbovírus contemporâneos, como DENV e ZIKV, na maioria das vezes esses agentes apresentam sinais e sintomas clínicos semelhantes durante a fase inicial da infecção. Resultados graves da infecção pelo CHIKV, levando a comprometimento neurológico seja na fase aguda ou convalescente também foram descritos. A doença articular provocada pelo CHIKV pode durar meses e anos em adultos hígidos, e antecipar quadro crônicos de artrite em idosos. A evolução da doença neurológica por CHIKV tem sido observada, com espectro que varia de meningoencefalite até SGB. Óbitos associados direta ou indiretamente ao CHIKV tem se apresentado no Brasil em proporções de 1-5 casos por 1000 confirmados.

Pacientes com infecção aguda por CHIKV geralmente apresentam um início abrupto de febre alta (> 39 ° C), artralgia, mialgia severas e erupção maculopapular eritematosa, que pode variar de severa erupção localizada a uma extensa erupção cutânea envolvendo mais de 90% da

pele. O início abrupto destes sintomas ocorre após um período médio de incubação de 3 dias. A erupção cutânea e a febre geralmente desaparecem dentro de alguns dias e ocasionalmente são seguidas de descamação palmo-plantar. Sintomas menos comuns incluem manifestações oculares como conjuntivite, uveíte, episclerite e retinite. A maioria dos pacientes apresenta dor e edema nas articulações com rigidez matinal grave, compatível com artrite inflamatória. A dor articular é tipicamente simétrica e quase qualquer articulação pode ser afetada, especialmente durante a fase aguda, embora as extremidades distais sejam afetadas com mais frequência. Sinovite ou edema periarticular foi relatado em 32-95% dos pacientes, com grandes derrames articulares ocorrendo em 15% dos indivíduos infectados com chikungunya. Em muitos pacientes, a dor articular relacionada ao chikungunya começa a melhorar após a primeira semana, embora alguns pacientes tenham dor articular persistente e edema. Estes sintomas podem durar até 3 anos.

No entanto, a infecção grave pode se manifestar com encefalite e encefalopatia, miocardite, hepatite e falência de múltiplos órgãos. A neuroinvasão pelo CHIKV pode causar convulsões, estado mental alterado, paralisia flácida e até morte. Relatos de casos apontam para um risco aumentado de doença grave em neonatos, pessoas idosas com idade acima de 65 anos com outras co-morbidades, e indivíduos imunossuprimidos. A transmissão vertical de CHIKV foi relatada na epidemia de La Reunion. Em neonatos nascidos de mães com viremia, a prevalência de infecção atingiu 50%. Neuroinvasão foi relatada em praticamente todos os casos neonatais. Crianças com encefalopatia associada ao chikungunya têm desfechos neurocognitivos negativos de longo prazo, que podem incluir sequelas graves, como paralisia cerebral. Além da doença neuroinvasiva, alguns neonatos desenvolvem uma síndrome hemorrágica, enterocolite necrosante, distúrbios hemodinâmicos, disfunção ventricular, pericardite e dilatação da artéria coronária.

8. VIGILÂNCIA E DIAGNÓSTICO

A co-circulação de múltiplas doenças transmitidas por mosquito com epidemiologia semelhante, que muitas vezes resultam em síndromes febris clinicamente indistinguíveis, ressalta a necessidade de testes diagnósticos no local de atendimento que possam diferenciá-las (Reusken *et al.*, 2018; Souza *et al.*, 2019). Os testes de detecção de anticorpos podem distinguir entre os alfavírus (CHIKV e vírus Mayaro) e os flavivírus (DENV, ZIKV, YFV e WNV). No entanto, devido à exposição prévia e a existência de reações cruzadas entre os flavivírus, testes sorológicos como o ELISA IgM e até mesmo ensaios de neutralização não são confiáveis para identificar um flavivírus específico.

Deste modo, a co-circulação de diversos flavivírus nos últimos 5 anos criou a necessidade de uma vigilância de pacientes sindrômicos, já que estudos sorológicos não seriam conclusivos. Assim, os testes mais confiáveis são moleculares, para detecção por RT-PCR do ácido nucleico viral, o que implica na detecção precoce, ainda na fase aguda da infecção. Outro fator que confunde o diagnóstico sorológico e infecção natural é o uso crescente de vacinas contra dengue e febre amarela. Existe necessidade crucial de desenvolver testes diagnósticos multiplexados sensíveis e específicos que sejam confiáveis para o diagnóstico diferencial desses vírus. Ainda, a epidemiologia recente dos arbovírus nos ensina que os casos negativos de pacientes sindrômicos são muito importantes. Estes casos podem esconder a introdução de um novo patógeno, que

rompeu a barreira animal e passou a afetar a saúde humana. Uma rápida resposta é fundamental para evitar emergências de saúde pública de preocupação internacional ou pandemias. Assim, faz-se necessário o uso rotineiro de ferramentas de sequenciamento altamente sensíveis para avaliar se os casos negativos podem esconder um outro vírus que infecte vertebrados.

Vale notar que as arboviroses representam um ciclo complexo de infecção envolvendo vetores, hospedeiros e reservatórios animais. Portanto, a detecção oportuna de infecções por arbovírus requer colaboração/fluxo de informação multidisciplinar, incluindo ecologistas, entomologistas, veterinários e especialistas em doenças da vida silvestre. A pronta resposta laboratorial de alta complexidade deve ser vista como ato contínuo ao diagnóstico rotineiro para a avaliação da doença em humanos. Para doenças comuns conhecidas como endêmicas em uma região, a capacidade diagnóstica precisa estar disponível - ou rapidamente acessível - para laboratórios clínicos de rotina. Para doenças raras e exóticas, os diagnósticos necessitam de redes de referência. Especialmente porque patógenos de grupos de risco 3 e 4 podem ser detectados. Para ameaças de doenças emergentes com potencial epidêmico, a capacidade de diagnóstico disponível nos centros de referência idealmente precisaria ser implantada em laboratórios clínicos para ampliar a capacidade laboratorial local.

Apesar dos casos de microcefalia e da falta de conhecimento preexistente sobre o ZIKV, as respostas clínico-laboratoriais que criam associação entre vírus/doença foram oportunas.

9. CONTROLE DE VETOR

Entendemos que o controle de vetor representa um ponto crítico para o sucesso da prevenção contra as arboviroses. As novas estratégias de controle para superar limitações encontradas na abordagem secular de combate as arboviroses foram extensivamente revisados (Roiz *et al.*, 2018).

Apesar de sucessos anteriores indicarem que a redução da circulação de DENV e YFV pode ser alcançado com o controle do vetor *A. aegypti*, o cenário epidemiológico e entomológico atualmente é mais complexo.

Durante as décadas de 1950 e 1960, a aplicação de DDT controlou as arboviroses nas Américas. Mais recentemente, ensaios com inseticidas com pulverização residencial interna e pulverização externa foram associados à redução da incidência de dengue. Infelizmente, os sucessos são exceção e insustentáveis, devido a vários fatores, como a incapacidade de zerar os criadouros, resistência dos mosquitos aos inseticidas, expansão de centros urbanos com saneamento deficiente, redes de viagens humanas mais dinâmicas, infraestrutura inadequada de controle de vetores, recursos insuficientes, vontade política inadequada e aplicação malsucedida das estratégias existentes.

Evidências epidemiológicas de eficácia de ensaios de campo bem planejados são urgentemente necessárias para orientar a aplicação e a avaliação. Como o *A. aegypti* é difícil de controlar, as intervenções eficazes devem ser oportunas, abrangentes e sustentáveis. Medidas de proteção pessoal incluem repelentes de mosquitos, vestindo roupas adequadas, tratamento com inseticidas, produtos químicos repelentes espaciais que desencorajam a entrada de mosquitos no espaço e armadilhas para mosquitos. No entanto, a aplicação de repelentes em uma base diária é impraticável e não será escalonável em base populacional.

A fim de prolongar a vida útil dos inseticidas existentes, é imperativo que ferramentas baseadas em não-inseticidas sejam usadas sempre que possível – para evitar o surgimento de mosquitos resistentes. Quando produtos químicos precisam ser implantados, eles devem ser usados racionalmente e preferencialmente não como monoterapia. Existem várias estratégias de monitoramento de resistência a inseticidas no controle de vetores, que são baseadas em rotações de inseticidas, misturas de inseticidas não relacionados, uso de intervenções combinadas e pulverização em mosaico. O gerenciamento da resistência deve ser cuidadosamente monitorado e avaliado. As atividades para controlar a transmissão devem ter como alvo residências e áreas ao ar livre. O tratamento de áreas não-residenciais, onde o contato humano-vetor ocorre durante o dia, como escolas, hospitais e locais de trabalho, especialmente em áreas adjacentes, pode proporcionar impactos mensuráveis. No momento em que um caso é detectado, o movimento humano provavelmente levou o vírus para além de um raio de 100 m a 200 m. Materiais de roupas tratadas com inseticida de longa duração que podem ser usadas para uniformes escolares e de locais de trabalho e roupas de maternidade devem ser um assunto urgente de pesquisa. Repensar a construção de casas, incluindo o uso de telas com ou sem tratamento com inseticidas, pode ser uma solução de longo prazo para diminuir o contato entre vetores e pessoas. O desenvolvimento de tecnologias que podem ser aplicadas durante o dia para proteger contra picadas de mosquito deve ser uma prioridade.

A abordagem de liberação de mosquitos *A. aegypti* infectados com as bactérias do gênero *Wolbachia* tem se mostrado promissora para combater a transmissão dos arbovírus. Além desta, sabe-se que é possível reduzir as populações de mosquitos, induzindo esterilidade em mosquitos machos através de engenharia genética, ou irradiação fêmeas selvagens, que produzirão ovos inférteis.

Diante do cenário de potencial emergência de outras arboviroses, com controle de vetores por novas tecnologias se torna prioritário – já que o desenvolvimento e produção de vacina dificilmente será feito a cada novo surto de doença infecciosa.

10. VACINAS

Entre os anos de 1915 a 1927 a Fundação Rockefeller engajou grande esforço para identificar o agente etiológico da FA. O primeiro isolado, YFV-Asibi apresentava virulência em macacos rhesus, causando doença viscerotrópica semelhante a humana. Após quase 250 passagens do vírus Asibi, uma cepa atenuada foi isolada, chamada de 17D. Subsequentemente a vacinação em massa teve impacto considerável na prevenção de novos surtos em todo o mundo (Douam e Ploss, 2018).

No final do século XX, a FA havia trocado seu status de grande ameaça para doença negligenciada. Com sua alta taxa de soroconversão, sustentação da resposta da imunidade a longo prazo (Poland *et al.*, 1981) e as 500 milhões doses administradas desde então, o YFV-17D ainda é reconhecido como uma das vacinas mais eficazes já criadas.

A disponibilidade de vacina contra FA há mais de meio século transfere ao poder público as necessidades de entender e responder ao cenário epidemiológico, tomando decisões oportunas para população. Em 1988, a vacina contra FA passou a ser recomendada para crianças a partir dos 9 meses de idade em países com risco de FA. Em 2006, além da vacinação de rotina, cam-

panhas de vacinação preventiva em massa passam a ser engajadas em muitos países, para criar imunidade de rebanho e conter o vírus no seu ciclo silvestre.

A vacinação em massa contra FA é altamente eficaz, mas infelizmente a cobertura permanece inadequada, como ressaltam os surtos mencionados nas seções anteriores. Na América do Sul, mais de 75% da população vive em áreas adjacentes a florestas com potencial atividade do YFV. A ausência de vacinação destes indivíduos, propiciou os surtos de YFV visto no Brasil nos últimos anos. O ressurgimento da FA na África e no Brasil mostra claramente o envolvimento mínimo dos governos com campanhas de vacinação de rotina e em massa.

Em 2018, Ministério da Saúde do Brasil decide que a vacina contra FA passaria a ser administrada de modo fracionado (um quinto da dose total). Isso foi necessário para reequilibrar a demanda e produção em situações de surto. Neste contexto, Bio-Manguinhos/Fiocruz amplia de 4 milhões para 6 milhões a produção de doses. Diversos estudos, realizados em vários centros internacionais, consistentemente endossam o uso da dose fracionada em 1/5 da dose original, preservando os efeitos profiláticos por pelo menos 8 anos (De Menezes Martins *et al.*, 2018). Apesar da inclusão de aproximadamente 6000 voluntários se somarmos todos os estudos de dose fracionada, crianças de até 2 anos de idade, mulheres grávidas, pessoas submetidas a transplantes de órgãos, pacientes com doenças auto-imunes, ou adultos com mais de 60 anos não foram incluídos. Portanto, estes grupos de indivíduos continuarão a receber a vacina padrão.

Apesar de ser uma vacina segura, eventos adversos associados a replicação visceral e neuronal da cepa de vacina contra a FA já foram registrados, necessitando a existência de antivirais para contê-los.

Em 2015 a primeira vacina contra dengue foi licenciada pela Sanofi Pasteur, CYD-TDV ou Dengvaxia (Capeding *et al.*, 2014). Trata-se de vacina tetravalente recombinante, viva atenuada, baseada no esqueleto 17D da YFV. Os genes estruturais (prM-E) do vetor do vírus YFV-17D são substituídos pelos genes estruturais de cada um dos quatro sorotipos do DENV. Esta vacina é oferecida para indivíduos com 9 e 45 anos.

Resultados recentes do estudo de fase 3 na Ásia e América Latina (Capeding *et al.*, 2014) mostraram que o desempenho da vacina pode variar de acordo com: i) sorotipo de DENV, ii) previa exposição ao DENV e iii) idade. O principal problema está relacionado a vacinação com CYD-TDV de indivíduos que nunca tiveram dengue. A vacina induziria a primeira resposta imunológica à dengue, que predispõe os vacinados a um risco maior de doença grave quando se infectam naturalmente por dengue, devido a ADE (vide a seção de patogênese da dengue) (Flasche *et al.*, 2016). É proposto que seja feita uma triagem sorológica para vacinação apenas dos indivíduos previamente expostos ao DENV (Wilder-Smith *et al.*, 2019). Esforços estão sendo feitos para desenvolver e validar testes diagnósticos rápidos para rastrear o status sorológico da dengue, mas reatividade cruzada a outros *Flavivirus* pode dificultar esta abordagem. Mais pesquisas também são necessárias para avaliar esquemas vacinais com menos doses, avaliar a necessidade de doses de reforço e identificar as populações que mais se beneficiarão com essa vacina.

Embora exista vacina contra JEV, não existem vacinas disponíveis para uso contra ZIKV e CHIKV, nem OV, MAYV ou RVFV. Todas as plataformas possíveis – vírus vivo atenuado, inativado, recombinante, etc – tem sido empregadas no desenvolvimento de vacinas contra ZIKV e CHIKV. A mudança do cenário epidemiológico, com a introdução destes arbovírus, impõe novas dificuldades biotecnológicas e epidemiológicas para o desenvolvimento de vacinas.

11. ANTIVIRAIS

Atualmente, não existe antiviral específico contra qualquer *Flavivirus* ou *Alphavirus*. Os tratamentos são paliativos, sendo geralmente direcionado ao alívio dos sintomas com analgésicos, antipiréticos e medicamentos contra dor (Burt *et al.*, 2017; Shaily e Upadhy, 2019; Wilder-Smith *et al.*, 2019) e o Ministério da Saúde possui guias para orientar a melhor prescrição em função da dor/febre e outras sintomatologias.

Ultimamente, grandes esforços foram realizados para testar vários candidatos a medicamentos direcionados a alvos virais (antivirais de ação direta) ou contra alvos celulares (antivirais direcionados ao hospedeiro). Esse vasto trabalho tem sido realizado por meio de diferentes abordagens que incluem a triagem de diferentes bibliotecas de compostos e o reposicionamento de drogas já utilizadas na prática clínica para outras doenças.

A emergência de ZIKV provocou uma verdadeira corrida no reposicionamento de drogas com potencial antiviral. Já foram testadas 3x mais moléculas contra ZIKV do que contra DENV ou CHIKV. Por outro lado, o fato da dengue ser um problema mais antigo de saúde pública, permitiu que algumas moléculas chegassem a fase de ensaios clínicos – fornecendo importantes análises para orientação de novos ensaios (Nguyen *et al.*, 2013). Nesta seção revisamos as principais moléculas que poderiam ser readaptadas para as arboviroses com amplo espectro.

É importante destacar que a morbidade ou mortalidade das arboviroses estão associadas a cargas virais mais altas no sangue periférico e a viremias prolongadas. Portanto, antivirais são desejados, pois poderiam reduzir a viremia e/ou sua duração, diminuindo os riscos de gravidade associado a fase sub-aguda. Ainda, ao reduzir a viremia, estes medicamentos poderiam produzir efeito negativo na cadeia de transmissão da doença. As arboviroses se sobrepõem em sintomatologia e, em geral, tem perfil de infecção agudas. Devido a sobreposição de sinais e sintomas, o diagnóstico clínico não é inequívoco. Portanto, uma droga ideal deve atacar todos arbovírus, ou pelo menos os mais prevalentes, DENV, ZIKV, YFV e CHIKV, categorizados como *Flavivirus* e *Alphavirus*.

O tratamento das infecções agudas muitas vezes é mais desafiador do que a terapêutica das infecções crônicas. Nas infecções crônicas, como HIV, hepatite C e B, o paciente sempre se apresenta virêmico. Portanto, o tratamento pode ser iniciado a qualquer tempo, reduzindo a carga viral. Nas infecção agudas, como muitos pacientes demoram alguns dias após o início dos sintomas para buscar assistência, eles podem se apresentar durante a fase de declínio da viremia. Ao diminuir a viremia mais aceleradamente com antivirais, espera-se que os sintomas se amenizem e sem progredir para as manifestações mais graves. Nestas manifestações atípicas, nas quais há maior patogenicidade que podem levar o paciente a sequelas de longo prazo, a viremia se apresenta prolongada. Assim, os antivirais se tornam ainda mais oportunos. Em conjunto, tem-se observado que o tratamento precoce das infecções virais é sempre mais oportuno. Esta afirmação pode ser exemplificada pelos tratamentos contra influenza, agente etiológico da gripe. Hospitalizações e óbitos são reduzidos em pacientes que fazem uso do antiviral até 2,5 dias após início dos sintomas (Muthuri *et al.*, 2014).

Atualmente, mais de 6000 moléculas conhecidas, sendo 2000 aprovadas clinicamente contra outros alvos, já foram estudadas contra algum arbovírus. Destas, menos de uma dezena conhecidamente inibe a replicação de *Flavivirus* e *Alphavirus*. Seguindo a premissa que uma droga deve inibir estes gêneros virais e considerando a patogênese dos seus principais representantes (como

descrito nas seções anteriores), uma droga promissora deve seguir critérios farmacológicos únicos (Aliota *et al.*, 2017). Esta substância deve pertencer a categorias seguras para gestantes, como classificadas pelo *Food and Drug Administration* (FDA) nas classes A e B – uma vez que estes agentes não prejudicam o desenvolvimento fetal e a interface materno/fetal. Esta droga deve inibir a replicação em diferentes tipos celulares e ser capaz de atravessar barreiras biológicas complexas, como hemato-encefálica e transplacentária.

Entre as drogas de categoria B, podemos destacar daptomycin, mefloquine, cloroquina, e palonosetron e ivermectina (Barrows *et al.*, 2016), com atividade contra *Flavivirus* e *Alphavirus*. Embora promissor, a atividade antiviral é limitada em algumas células alvo da replicação deste vírus. Ainda, algumas destas moléculas nunca foram testadas em modelos animais de infecção experimental pelos arbovírus, o que é importante para explorar sua farmacologia ainda na fase pré-clínica. Contraditoriamente, certas substâncias como cloroquina e mefloquina já foram testadas clinicamente contra DENV e CHIKV – sem apresentar resultados promissores. Isso reforça a necessidade de realização das etapas pré-clínicas. Há atualmente ensaio clínico em realização para avaliar a atividade anti-arbovírus da ivermectina (ClinicalTrials.gov número NCT02045069), embora não existam dados da sua atividade em modelos animais. Em sistemas acelulares, a ivermectina é um potente inibidor da helicase de arbovírus.

Uma das triagens contra ZIKV identificou o anti-helmintico niclosamida (categoria B) como um fraco inibidor do ZIKV (Xu *et al.*, 2016), a atividade desta droga contra CHIKV não foi demonstrada. O mesmo trabalho, identifica a droga emricasan como um potente inibidor do ZIKV. O emricasan está em fase 2 de ensaios clínicos, para tratamento de doença hepática de depósito de gordura. Embora promissor, não está claro se os efeitos de longo termo e a concentração plasmática podem eliminar o ZIKV. Além disso, não é certo se uma droga que ataca um alvo celular será livre de impactos no desenvolvimento fetal.

Alguns miméticos de peptídeos já foram testados *in vitro* contra ZIKV e CHIKV, e em ensaios clínicos contra DENV. Estas substâncias inibem protease destes vírus, mas apresentam pouca capacidade de penetração celular (Makhluf *et al.*, 2016).

Os análogos de nucleosídeo/nucleotídeo, representados pelo sofosbuvir, parecem ter ação protetora importante *in vitro* e *in vivo* contra DENV, ZIKV, YFV e CHIKV (Ferreira *et al.*, 2017; Sacramento *et al.*, 2017; Xu *et al.*, 2017; Ferreira *et al.*, 2018; De Freitas *et al.*, 2019). O Sofosbuvir foi originalmente desenvolvido contra o vírus da hepatite C (HCV). O HCV, assim como DENV, ZIKV e YFV, pertencem a família *Flaviviridae*. Como o sofosbuvir inibe a RNA polimerase do HCV e o gene que codifica esta proteína é o mais conservado dentro desta família, o sofosbuvir também apresenta atividade contra os arbovírus. Recentemente, foi demonstrado que o CHIKV é susceptível ao sofosbuvir, mesmo pertencendo a outra família viral. Apesar disso, todos estes vírus são de genomas de RNA polaridade positiva e o mecanismo de catalise da RNA polimerase é similar entre estes agentes infecciosos. Embora a dose efetiva *in vivo* contra CHIKV seja 2x superior aquela necessária contra ZIKV e YFV, o sofosbuvir é seguro clinicamente até 3x sua dose de referência. O sofosbuvir pertence a categoria B pelo FDA. A agência regulatória equivalente ao FDA na Austrália, *Therapeutics and Goods administration* (TGA), coloca o sofosbuvir numa classe ainda mais segura para gestantes, chamada de B1. Como sofosbuvir foi aprovado recentemente, em 2013, talvez ele se torne categoria A no futuro. De fato, o perfil de segurança para esta droga é distinto, tanto é que existe ensaio clínico em andamento usando o sofosbuvir em gestantes com HCV (ClinicalTrials.Gov, NCT02683005).

Outros inibidores de RNA polimerase do HCV já foram testados em ensaios clínicos contra DENV, como o balapiravir (Nguyen *et al.*, 2013), com resultados desanimadores. Não só o balapiravir, mas também cloroquina, celgosivir, prednisolona e lovastatina forma testados clinicamente em ensaios cegos contra DENV sem demonstrar eficácia terapêutica (Wilder-Smith *et al.*, 2019). A cloroquina ainda foi testada contra CHIKV também em ensaios clínicos randomizados, sendo mal-sucedida (Sales *et al.*, 2018). É possível que esta baixa atividade seja devido à potência antiviral limitada destas substâncias.

O importante é que estes estudos clínicos prévios nos ajudam a estabelecer os principais *endpoints* (desfechos) para determinar a atividade de um candidato antiviral para as arboviroses. Podemos destacar: carga viral plasmática e sua duração, carga viral em urina/saliva e sua duração, duração de antigenemia em fluidos biológicos (em geral medido por antígeno não estrutural solúvel no sangue, urina ou saliva), quantificação de mediadores inflamatórios (TNF, IFN, IL1, IL6, IL8 e IL10, entre outras), quantificação de PBMCs ativados (células CD4+ ou CD8+, co-positivas para HLA-DR e Ki67), duração da febre, duração da dor e presença de edemas em articulações, duração de exantema, quantificação de série branca, plaquetas, hematócrito e prescrição de analgésicos (tipos e duração).

12. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Desde 2015, observamos que os arbovírus passaram a representar problema de saúde pública ainda mais grave do que no quinquênio anterior. O cenário brasileiro de hiperendemicidade dos quatro sorotipos de dengue passou a ser desafiado pela Zika e chikungunya, e nas regiões de bordas florestais pela febre amarela. Somam-se a estes problemas os mais de 500 arbovírus na natureza, incluindo os vírus Mayaro e oropouche, encontrados em algumas regiões do Brasil.

De modo conservador, as arboviroses provocam impacto de econômico na faixa de milhões de dólares todos os anos. Podemos dizer que desde 2013, a dengue e a chikungunya mataram por volta de 60 mil pessoas por ano no Brasil. Com exceção da febre amarela, não existe vacina segura contra as atuais estas ameaças virais. Não existem tratamentos antivirais, apenas cuidados paliativos. Ainda, a co-circulação de múltiplos arbovírus prova que as estratégias de controle de vetor empregadas por quase meio século falharam.

Um cenário mais favorável é altamente dependente de investimentos em novas tecnologias de controle de vetor, de vacinas e antivirais de amplo espectro para bloquear a ação de qualquer arbovírus.

13. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- @CDCGOV. Vital Signs: Zika-Associated Birth Defects and Neurodevelopmental Abnormalities Possibly Associated with Congenital Zika Virus Infection — U.S. Territories and Freely Associated States, 2018 | MMWR. 2019-05-28T06:45:19Z/ 2019. Disponível em: < <https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/67/wr/mm6731e1.htm> >. Acesso em: 15 de julho de 2019.
- @NEWSFROMSCIENCE. When will yellow fever strike Brazil again? Monkeys and mosquitoes hold clues | Science | AAAS. 2017-08-17T14:00:01-04:00 2017. Disponível em: < <http://www.sciencemag.org/news/2017/08/when-will-yellow-fever-strike-brazil-again-monkeys-and-mosquitoes-hold-clues> >. Acesso em: 15 de julho de 2019.
- ALIOTA, M. T. *et al.* Zika in the Americas, year 2: What have we learned? What gaps remain? A report from the Global Virus Network. **Antiviral Research**, v. 144, p. 223-246, August 2017. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.antiviral.2017.06.001> >.
- BARDINA, S. V. *et al.* Enhancement of Zika virus pathogenesis by preexisting ant flavivirus immunity. **Science**, v. 356, n. 6334, p. 175-180, April 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28360135> >.
- BARNETT, E. D. Yellow Fever: Epidemiology and Prevention. **Clinical Infectious Diseases**, v. 44, n. 6, p. 850-856, March 2007. Disponível em: < <https://academic.oup.com/cid/article-pdf/44/6/850/1037940/44-6-850.pdf> >.
- BARROWS, N. J. *et al.* A Screen of FDA-Approved Drugs for Inhibitors of Zika Virus Infection. **Cell Host Microbe**, v. 20, n. 2, p. 259-270, August 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27476412> >.
- BEASLEY, D. W.; MCAULEY, A. J.; BENTE, D. A. Yellow fever virus: genetic and phenotypic diversity and implications for detection, prevention and therapy. **Antiviral Research**, v. 115, p. 48-70, March 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25545072> >.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico. Disponível em <http://www.saude.gov.br/boletins-epidemiologicos>. 2019. Acesso em: 15 de Julho de 2019.
- BRIZZI, K. Neurologic Manifestation of Chikungunya Virus. **Current of Infectious Disease Reports**, v. 19, n.6, p. 1-6, February 2017. Disponível em: < <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11908-017-0561-1>>.
- BURT, F. J. *et al.* Chikungunya virus: an update on the biology and pathogenesis of this emerging pathogen. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 17, n. 4, p. 107-117, April 2017. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(16\)30385-1](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(16)30385-1) >.
- CALVET, G. *et al.* Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 16, n. 6, p. 653-660, June 2016. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26897108> >.
- CAMPANATI, L. *et al.* The Impact of African and Brazilian ZIKV isolates on neuroprogenitors. **BioRxiv**, p. 046599, March 2016. Disponível em: < <http://biorxiv.org/content/early/2016/03/31/046599.article-metrics>>.
- CAO-LORMEAU, V. M. *et al.* Guillain-Barré Syndrome outbreak associated with Zika virus infection in French Polynesia: a case-control study. **Lancet**, v. 387, n. , p. 1531-1539 April 2016. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26948433> >.
- CAPEDING, M. R. *et al.* Clinical efficacy and safety of a novel tetravalent dengue vaccine in healthy children in Asia: a phase 3, randomised, observer-masked, placebo-controlled trial. **Lancet**, v. 384, n. 9951, p. 1358-1365, October 2014. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(14\)61060-6](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(14)61060-6) >.

- CARDOSO, C. W. *et al.* Outbreak of Exanthematous Illness Associated with Zika, Chikungunya, and Dengue Viruses, Salvador, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 21, n. 12, p. 2274-2276, December 2015. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26584464> >.
- CERBINO-NETO, J. *et al.* Clinical Manifestations of Zika Virus Infection, Rio de Janeiro, Brazil, 2015. **Emerging Infectious Diseases**, v. 22, n. 7, p. 1318-1320, July 2016. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27070847> >.
- DE BRITO, T. *et al.* Human fatal yellow fever. Immunohistochemical detection of viral antigens in the liver, kidney and heart. **Pathology Research and Practice**, v. 188, n. 1-2, p. 177-181, February 1992. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1016/s0344-0338\(11\)81176-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0344-0338(11)81176-3) >.
- DE FREITAS, C. S. *et al.* Yellow fever virus is susceptible to sofosbuvir both in vitro and in vivo. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 1, p. e0007072, January 2019. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30699122> >.
- DE MENEZES MARTINS, R. *et al.* Duration of post-vaccination immunity to yellow fever in volunteers eight years after a dose-response study. **Vaccine**, v. 36, n. 28, p. 4112-4117, June 2018. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.05.041> >.
- DELATORRE, E. *et al.* Distinct YFV Lineages Co-circulated in the Central-Western and Southeastern Brazilian Regions From 2015 to 2018. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, n. 1079 12 paginas??, p. 1-12, 2019. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2019.01079> >.
- DICK, G. W.; KITCHEN, S. F.; HADDOW, A. J. Zika virus. I. Isolations and serological specificity. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine Hygiene**, v. 46, n. 5, p. 509-520, September 1952. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12995440> >.
- DOUAM, F. *et al.* Single-cell tracking of flavivirus RNA uncovers species-specific interactions with the immune system dictating disease outcome. **Nature Communications**, v. 8, p. 1-17 14781, March 2017. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/ncomms14781> >.
- DOUAM, F.; PLOSS, A. Yellow Fever Virus: Knowledge Gaps Impeding the Fight Against an Old Foe. **Trends in Microbiology**, v. 26, n. 11, p. 913-928, November 2018. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2018.05.012> >.
- FERGUSON, R. W. *et al.* Dengue in Peace Corps Volunteers, 2000-14. **Journal of Travel Medicine**, v. 23, n. 3, p. March 2016. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1093/jtm/taw010> >.
- FERREIRA, A. *et al.* Sofosbuvir protects Zika virus-infected mice from mortality, preventing short- and long-term sequela. **Scientific Reports**, v.7, n. 9409, August 2017. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5573375/pdf/41598_2017_Article_9797.pdf >.
- FERREIRA, A. C. *et al.* Beyond members of the Flaviviridae family, sofosbuvir also inhibits chikungunya virus replication. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.63, n.2, p. e01389-18 1-15, November 2018. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1128/aac.01389-18> >.
- FLASCHE, S. *et al.* The Long-Term Safety, Public Health Impact, and Cost-Effectiveness of Routine Vaccination with a Recombinant, Live-Attenuated Dengue Vaccine (Dengvaxia): A Model Comparison Study. **PLoS Medicine**, v. 13, n. 11, p. e1002181, November 2016. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.1002181> >.
- GANESAN, V. K.; DUAN, B.; REID, S. P. Chikungunya Virus: Pathophysiology, Mechanism, and Modeling. **Viruses**, v. 9, n. 12, p. December 2017. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.3390/v9120368> >.

- GASQUE, P. *et al.* Chikungunya Pathogenesis: From the Clinics to the Bench. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 214, n. suppl_5, p. December 2018. Disponível em: < https://academic.oup.com/jid/article-pdf/214/suppl_5/S446/8239043/jiw362.pdf >.
- GUZMAN, M. G. *et al.* Dengue: a continuing global threat. **Nature Review Microbiology**, v. 8, n. 12, Suppl, p. S7-16, December 2010. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2460> >.
- HAESE, N. N. *et al.* Animal Models of Chikungunya Virus Infection and Disease. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 214, n. suppl_5, December 2016. Disponível em: < https://academic.oup.com/jid/article-pdf/214/suppl_5/S482/8239031/jiw284.pdf >.
- HAMER, D. H. *et al.* Fatal Yellow Fever in Travelers to Brazil, 2018. **MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 67, n. 11, p. 340-341, March 2018. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29565840> >.
- HOTTZ, E. D. *et al.* Platelets mediate increased endothelium permeability in dengue through NLRP3-inflammasome activation. **Blood**, v. 122, n. 20, p. 3405-3414, November 2013. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24009231> >.
- IOOS, S. *et al.* Current Zika virus epidemiology and recent epidemics. **Medecine et Maladies Infectieuses**, v. 44, n. 7, p. 302-307, July 2014. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25001879> >.
- LAZOU, M. *et al.* Symptomatic Dengue in Children in 10 Asian and Latin American Countries. **The New England Journal of Medicine**, v. 374, n. 12, p. 1155-66, March 2016. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1503877> >.
- LANCIOTTI, R. S. *et al.* Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. **Emerging Infectious Diseases**, v. 14, n. 8, p. 1232-1239, August 2008. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18680646> >.
- LAZEAR, H. M. *et al.* A Mouse Model of Zika Virus Pathogenesis. **Cell Host & Microbe**, v. 19, n. 5, p. 720-30, May 2016. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27066744> >.
- LINDSEY, N. P. *et al.* Adverse event reports following yellow fever vaccination. **Vaccine**, v. 26, n. 48, p. 6077-6082, November 2008. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18809449> >.
- MAKHLUF, H.; KIM, K.; SHRESTA, S. Novel strategies for discovering inhibitors of Dengue and Zika fever. **Expert Opinion Drug Discovery**, v. 11, n. 10, p. 921-923, October 2016. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1080/17460441.2016.1212013> >.
- METSKY, H. C. *et al.* Zika virus evolution and spread in the Americas. **Nature**, v. 546, n. 7658, p. 411-415, June 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28538734> >.
- MONATH, T. P.; VASCONCELOS, P. F. Yellow fever. **Journal of Clinical Virology**, v. 64, p. 160-173, March 2015. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25453327> >.
- MOORE, C. A. *et al.* Congenital Zika Syndrome: Characterizing the Pattern of Anomalies for Pediatric Healthcare Providers. **JAMA Pediatric**, v. 171, n. 3, p. 288-295, March 2017. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1001/jama-pediatrics.2016.3982> >.
- MORRISON, T. E.; DIAMOND, M. S. Animal Models of Zika Virus Infection, Pathogenesis, and Immunity. **Journal of Virology**, v. 91, n. 8, p. e00009-17, April 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28148798> >.
- MUSSO, D.; GUBLER, D. J. Zika Virus. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 29, n. 3, p. 487-524, July 2016. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27029595> >.

- MUSSO, D.; NILLES, E. J.; CAO-LORMEAU, V. M. Rapid spread of emerging Zika virus in the Pacific area. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, n. 10, p. O595-596, October 2014. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24909208> >.
- MUSSO, D. et al. Potential sexual transmission of Zika virus. **Emerging Infectious Disease**, v. 21, n. 2, p. 359-361, February 2015. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25625872> >.
- MUTHURI, S. G. et al. Effectiveness of neuraminidase inhibitors in reducing mortality in patients admitted to hospital with influenza A H1N1pdm09 virus infection: a meta-analysis of individual participant data. **Lancet Respiratory Medicine**, v. 2, n. 5, p. 395-404, May 2014. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24815805> >.
- NGUYEN, N. M. et al. A randomized, double-blind placebo controlled trial of balapiravir, a polymerase inhibitor, in adult dengue patients. **Journal of Infectious Diseases**, v. 207, n. 9, p. 1442-1450, May 2013. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1093/infdis/jis470> >.
- NUNES, M. R. T. et al. Emergence and potential for spread of Chikungunya virus in Brazil. **BMC Medicine**, v. 13, n. 1, p. 102, April 2015. Disponível em: < <https://bmcmmedicine.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12916-015-0348-x> >.
- OEHLER, E. et al. Zika virus infection complicated by Guillain-Barre syndrome--case report, French Polynesia, December 2013. **Euro Surveillance**, v. 19, n. 9, p. 20720 March 2014. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24626205> >.
- ONG, E. Z. et al. Dengue virus compartmentalization during antibody-enhanced infection. **Scientific Reports**, v. 7, n. p. 40923, January 2017. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/srep40923> >.
- PAESSLER, S.; WALKER, D. H. Pathogenesis of the viral hemorrhagic fevers. **Annual Review of Pathology**, v. 8, n. p.411-440, January 2013. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23121052> >.
- PANTOJA, P. et al. Zika virus pathogenesis in rhesus macaques is unaffected by pre-existing immunity to dengue virus. **Nature Communications**, v. 8, p. 15674, June 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28643775> >.
- PETERSEN, L. R.; POWERS, A. M. Chikungunya: epidemiology. **F1000 Facult Reviews**, v. 5, January 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26918158> >.
- POLAND, J. D. et al. Persistence of neutralizing antibody 30-35 years after immunization with 17D yellow fever vaccine. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 59, n. 6, p. 895-900, month 1981. Disponível em: < <http://dx.doi.org/> >.
- QUARESMA, J. A. et al. Hepatocyte lesions and cellular immune response in yellow fever infection. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 101, n. 2, p. 161-168, February 2007. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16872652> >.
- QUARESMA, J. A. et al. Revisiting the liver in human yellow fever: virus-induced apoptosis in hepatocytes associated with TGF-beta, TNF-alpha and NK cells activity. **Virology**, v. 345, n. 1, p. 22-30, February 2006. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.virol.2005.09.058> >.
- REUSKEN, C. B. et al. Laboratory preparedness and response with a focus on arboviruses in Europe. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 24, n. 3, p. 221-228, March 2018. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmi.2017.12.010> >.
- ROIZ, D. et al. Integrated Aedes management for the control of Aedes-borne diseases. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 12, p. e0006845, December 2018. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0006845> >.

- ROSENBERGER, K. D. *et al.* Vascular leakage in dengue--clinical spectrum and influence of parenteral fluid therapy. **Tropical Medicine & International Health**, v. 21, n. 3, p. 445-453, March 2016. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/tmi.12666> >.
- ROTHMAN, A. L. Immunity to dengue virus: a tale of original antigenic sin and tropical cytokine storms. **Nature Reviews Immunology**, v. 11, n. 8, p. 532-543, July 2011. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/nri3014> >.
- SACRAMENTO, C. Q. *et al.* The clinically approved antiviral drug sofosbuvir inhibits Zika virus replication. **Scientific Reports**, v. 7, p. 40920, January 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28098253> >.
- SALES, G. *et al.* Treatment of chikungunya chronic arthritis: A systematic review. **Revista da Associação Médica Brasileira (1992)**, v. 64, n. 1, p. 63-70, January 2018. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1590/1806-9282.64.01.63> >.
- SALLES, T. S. *et al.* History, epidemiology and diagnostics of dengue in the American and Brazilian contexts: a review. **Parasites & Vectors**, v. 11, n. 1, p. 264, April 2018. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1186/s13071-018-2830-8> >.
- SHAILY, S.; UPADHYA, A. Zika virus: Molecular responses and tissue tropism in the mammalian host. **Reviews in Medical Virology**, v. 4 p. e2050, May 2019. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/rmv.2050> >.
- SIMONIN, Y. *et al.* Zika Virus Strains Potentially Display Different Infectious Profiles in Human Neural Cells. **EBioMedicine**, v. 12, n. p. 161-169, September 2016. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.ebiom.2016.09.020> >.
- SIROHI, D. *et al.* The 3.8 Å resolution cryo-EM structure of Zika virus. **Science**, v.352, n.6284, p. 467-470, March 2016. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27033547> >.
- SONG, A. T. W. *et al.* Liver transplantation for fulminant hepatitis due to yellow fever. **Hepatology**, v.69, n.3, p. 1349-1352, March 2019. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/hep.30273> >.
- SOUZA, T. M. L. *et al.* Emergence of the East-Central-South-African genotype of Chikungunya virus in Brazil and the city of Rio de Janeiro may have occurred years before surveillance detection. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 2760, February 2019. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-39406-9> >.
- STAPLES, J. E. *et al.* Yellow fever vaccine: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). **MMWR Recommendations and Reports**, v. 59, n. RR-7, p. 1-27, July 2010. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20671663> >.
- TEIXEIRA, M. G. *et al.* East/Central/South African Genotype Chikungunya Virus, Brazil, 2014. In: (Ed.). **Emerging Infectious Diseases**, v.21, n. 5, p. 906-907, May 2015.
- TERZIAN, A. C. B. *et al.* Viral Load and Cytokine Response Profile Does Not Support Antibody-Dependent Enhancement in Dengue-Primed Zika Virus-Infected Patients. **Clinical Infectious Diseases**, v. 65, n. 8, p. 1260-1265, October 2017. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29017246> >.
- WHO. World Health Organization. Yellow fever – Brazil. 2018. Disponível em: www.who.int/csr/don/22-january-2018-yellow-fever-brazil/en/. Acesso em: 16 de julho de 2019.
- WHO. World Health Organization. Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. Geneva: World Health Organization, 2009. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44188>. Acesso em: 16 de julho de 2019.
- WHO. World Health Organization. Zika virus outbreaks in the Americas. Weekly epidemiological record, No. 45, 90, 609–616, 2015. Disponível em <https://www.who.int/wer/2015/wer9045.pdf?ua=1>. Acesso em: 16 de julho de 2019.
- WILDER-SMITH, A. *et al.* Deliberations of the Strategic Advisory Group of Experts on Immunization on the use of CYD-TDV dengue vaccine. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 19, n. 1, p. e31-e38, January 2019. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(18\)30494-8](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(18)30494-8) >.

- WILDER-SMITH, A. *et al.* Dengue. **Lancet**, v. 393, n. 10169, p. 350-363, January 2019. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(18\)32560-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(18)32560-1) >.
- XU, H.-T. *et al.* Evaluation of Sofosbuvir (β -D-2'-deoxy-2'- α -fluoro-2'- β -C-methyluridine) as an inhibitor of Dengue virus replication #. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 6345, July 2017. Disponível em: < <https://www.nature.com/articles/s41598-017-06612-2> >.
- XU, M. *et al.* Identification of small-molecule inhibitors of Zika virus infection and induced neural cell death via a drug repurposing screen. **Nature Medicine**, August 2016. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27571349> >.

