



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA  
CAMPUS DE GURUPI**

**FELIPH CASSIO SOBRINHO BRITO**

**INCIDÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA ARBOVIRUS EM  
SOROS HUMANO COLETADOS NA REGIÃO SUL DO  
ESTADO DO TOCANTINS**

Gurupi/TO  
2022

FELIPH CASSIO SOBRINHO BRITO

**INCIDÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA ARBOVIRUS EM  
SOROS HUMANO COLETADOS NA REGIÃO SUL DO  
ESTADO DO TOCANTINS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia como um dos pré-requisitos para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia. O texto foi aprovado em sua forma final pelo orientador e pela Banca Examinadora.

Orientador: Prof. Dr. Fabrício Souza Campos

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins**

---

B862i Brito, Feliph Cassio Sobrinho.

Incidência de anticorpos contra arbovírus em soros humanos coletados na região sul do estado do Tocantins. / Feliph Cassio Sobrinho Brito. – Gurupi, TO, 2022.

72 f.

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Gurupi - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Biotecnologia, 2022.

Orientador: Fabricio de Souza Campos

1. Vírus da Dengue. 2. Zika Vírus. 3. Febre Chikungunya. 4. Prevalência Arbovirose. I. Título

**CDD 660.6**

---

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
PROGRAMA DE POS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA  
Rua Badejós, Chácaras 69 e 72 - CEP: 77402-970 - Caixa Postal 66 | Gurupi/TO  
(63) 3311-1649 I [www.uft.edu.br/ppqbiotec](http://www.uft.edu.br/ppqbiotec) | [ppqbiotec@uft.edu.br](mailto:ppqbiotec@uft.edu.br)

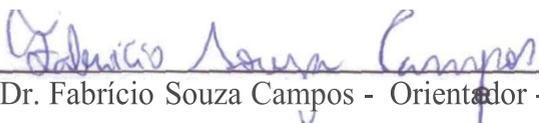
FELIPH CASSIO SOBRINHO BRITO

**Incidência de anticorpos contra arbovírus em seres humanos coletados na região sul do Estado do Tocantins**

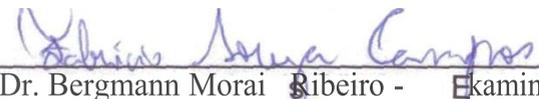
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia em 22/03/2022 foi julgada adequada para a obtenção do Título de Mestre em Biotecnologia e aprovada em sua forma final pelo Orientador.

**Data da aprovação: 22/03/2022.**

**Banca Examinadora:**

  
\_\_\_\_\_

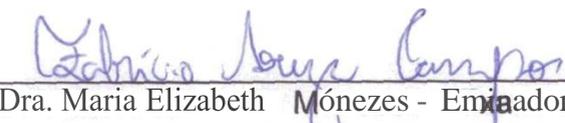
Dr. Fabrício Souza Campos - Orientador - UFT

  
\_\_\_\_\_

Dr. Bergmann Morai Ribeiro - Examinador — UFT

  
\_\_\_\_\_

Dr. Ueric José Borges de Souza - Examinador - UFT

  
\_\_\_\_\_

Dra. Maria Elizabeth Menezes - Examinadora - UFT

Gurupi (TO).  
2022.



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
PROGRAMA DE POS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA  
Rua Badejós, Chácaras 69 e 72 - CEP: 77402-970 - Caixa Postal 66 | Gurupi/TO  
(63) 3311-1649 I www.uft.edu.br/ppqbiotec | ppqbiotec@uft.edu.br

**Ata de Defesa n° 7912022**

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE *FELIPH CASS/O SOBRINHO BR/DO DISCENTE* DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS.

Aos 22 dias do mês de março do ano de 2022, às 14 horas, de forma online (remota), reuniu-se a Comissão Examinadora de Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Prof. Orientador Dr. FABRÍCIO SOUZA CAMPOS da Universidade Federal do Tocantins, Prof. Dr. BERGMANN MORAIS RIBEIRO da Universidade de Brasília, Prof Dr. UERIC JOSÉ BORGES DE SOUZA da Universidade Federal do Tocantins e Dra. MARIA ELIZABETH MENEZES do Programa Nacional do Controle de Qualidade, sob a presidência do primeiro, a fim de proceder à arguição pública da DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de FELIPH CASSIO SOBRINHO BRITO, intitulada "incidência de anticorpos contra arbovírus em seres humanos coletados na região sul do estado do Tocantins". Cabe ressaltar e constar em ata que a defesa ocorreu com a participação de todos os membros por videoconferência, conforme § 3º, Art. 57 da Resolução No 09/2018, alterado pela portaria n° 238, de 25 de março de 2020 da Universidade Federal do Tocantins. Após a exposição, o(a) discente foi arguido(a) oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo parecer favorável á aprovação. Com as devidas ressalvas e correções apontadas pela banca, habilitando-o ao título de Mestre em Biotecnologia. Nada mais havendo a tratar, foi lavrada a presente ata, que, após lida e aprovada, foi assinada pelo presidente da banca em lugar dos demais membros da Comissão Examinadora.

Prof Dr. Fabrício Souza Campos  
Universidade Federal do Tocantins  
Orientador e Presidente da Banca

Prof Dr. Bergmann Moraes Ribeiro  
Universidade Federal do Tocantins  
Primeiro Examinador

Prof Dr. Ueric José Borges de Souza  
Universidade Federal do Tocantins  
Segundo Examinador

Dra. Maria Elizabeth Menezes  
Programa Nacional do Controle de Qualidade  
Terceira Examinadora

Gurupi, 22 de março de 2022.

*Dedico esta dissertação  
primeiramente a Jeová Deus, pois em sua  
infinita bondade, benignidade imerecida, amor e  
misericórdia, me concedeu calma, forças e  
sabedoria para concluir este trabalho, bem  
como alegrou o meu coração nos momentos  
mais difíceis, e à minha família que sempre  
apoiou os meus projetos profissionais.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Jeová Deus Soberano e Perfeito em Amor, por sempre me acolher nos seus braços com carinho e amor e o cuidado amoroso dispensado a mim, por ser a força que me faz a minha vida se mover, ainda que eu não o veja com os olhos físicos, eu o provo nas diversas demonstrações que recebo todos os dias. Como sempre estive ao meu lado nos momentos alegres e nos momentos tristes.

Aos meus pais, Lourivan Dias Brito e Deusina Sobrinho Brito, meu amor e eterna gratidão, pelos conselhos que me permitiram desenvolver virtudes, pelo afago, pela torcida com emoção e por serem o meu referencial de valores humanos e espirituais. Por terem me ensinado a nunca desistir, por mais difícil que pareça a batalha. Me ensinaram a sentir um estranho fortalecimento diante da humilhação e uma força interior diante da crítica maldosa.

A minha esposa, Jaqueline Soares Costa Brito, e meus filhos Gustavo Soares Costa Brito e Bernardo Soares Costa Brito (*in memoriam*) que me fizeram um homem de família e me fazem agradecer todos os dias o privilégio de ter a vida e de exercitar o privilégio de compartilhar. Ao meu filho Bernardo, espero em breve reencontrar e viver tudo o que tivemos que adiar. Seremos novamente quatro em nossa família.

Aos meus sogros, José Olivian da Costa e Marta dos Santos Soares Costa, por todo apoio e cuidado pessoal. Por terem me acolhido como filho, embora com uma personalidade tão diferente da de vocês, me sinto em família e em segurança com vocês. Aos meus irmãos e cunhados, Thiago Brito e Priscila Brito, Leilivane e Paulo, Thiago Soares Costa e Jhennyfer Ludwig e Fabiano Soares Costa, por terem se tornado mais que família, companheiros de carreira e incentivadores.

Agradeço aos meus amigos fiéis, que sempre acreditaram no meu potencial e terem incentivado tanto a ingressar em busca dessa formação. Ao meu orientador Fabrício Souza Campos por ter acreditado no meu esforço e ter empregado tempo para direcionar os meus esforços com tanto apreço mesmo diante das falhas e deficiências que no decorrer do processo eu apresentava. Agradeço ao professor Edmilson, FIOCRUZ, que confiou no meu trabalho e colaborou tanto com materiais e incentivos para que ele fosse realizado.

*“Um(a) cientista, que também é um ser humano, não deve descansar enquanto o conhecimento que pode reduzir o sofrimento repousa em uma estante.”*  
— **Albert Sabin**

## RESUMO

Nos últimos anos, convivemos com episódios de surtos dos vírus Dengue (DENV), Zika (ZIKV) e Chikungunya (CHIKV). O Estado do Tocantins, que faz parte da Amazônia Legal, testemunhou a maior epidemia de doenças virais até então. Este estudo teve como objetivo determinar a incidência dos três principais arbovírus por amostragem de soro de 180 pacientes adultos (70% mulheres e 30% homens) internados no Hospital Regional de Gurupi na região Sul do Tocantins que atende cerca de 18 municípios incluindo populações indígenas. Após o preenchimento do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, foi aplicado um questionário e utilizado o teste imunocromatográfico rápido em Dual Path Platform® (Kit TR DPP® ZDC IgM / IgG - Bio-Manguinhos) para investigar, simultaneamente, imunoglobulinas M (IgM) e G (IgG) específicos contra DENV, ZIKV e CHIKV. Adicionalmente, foi realizada uma RT-qPCR para ZIKV. Os resultados mostraram que 86,6% (156/180) foram IgG positivos para DENV em algum momento de sua vida. Os testes para o ZIKV detectaram IgG em 47,7% (86/180) dos pacientes. Para CHIKV, 3,3% (6/180) dos pacientes apresentaram anticorpos IgG contra o vírus. Além disso, 48,3% (87/180) apresentaram simultaneamente anticorpos contra DENV e ZIKV. Em relação a detecção de anticorpos IgM, 9 pacientes foram positivos para DENV, 06 para ZIKV e 06 para CHIKV. Assim, os resultados indicam que a infecção pelo DENV é a mais comum na região, seguida pelo ZIKV. Cabe salientar que os casos de coinfeções de DENV e ZIKV podem ser devido a reação cruzada entre anticorpos detectados no teste rápido utilizado na pesquisa. Dessa forma, das amostras sorologicamente positivas para ZIKV, 58,1% (50/86) foram submetidas a testes de RT-qPCR para ZIKV, sendo 20% (10/50) positivas. Embora ainda possa haver detecção cruzada de anticorpos contra DENV e ZIKV, o RNA de ZIKV foi detectado, ressaltando aplicabilidade do teste na triagem de pacientes suspeitos de arbovirose. A diferenciação da infecção por arbovírus é muito importante para a prática médica, pois muitos pacientes tiveram seus tratamentos realizados para DENV, quando na verdade podem estar infectados por outro arbovírus.

**Palavras-chave:** Vírus da Dengue, Zika Vírus, Febre Chikungunya, Arbovirose, Prevalência

## ABSTRACT

In recent years, we have experienced outbreaks of Dengue (DENV), Zika (ZIKV), and Chikungunya (CHIKV) viruses. The State of Tocantins, which is part of the Legal Amazon, witnessed the largest epidemic of viral diseases to date. This study aimed to determine the diversity of the three main arboviruses in serum of 180 adult patients (70% women and 30%) admitted to the Hospital Regional de Gurupi in the southern region of Tocantins, a place that serves indigenous populations. After completing the Free and Applied Consent Term was used the immunoglobulin test quickly in Dual Path Platform® (Kit TR DPP® ZDCGM / IgG - Manguinhos) to simultaneously investigate specific immunoglobulin M (IgM) and G (IgG) against DENV, ZIKV, and CHIKV. Additionally, an RT-qPCR for ZIKV was performed. IgG1 results (86.6/180) were positive for DENV at the time of life. Tests for ZIKV detect IgG in 47.7% (86/180) of patients. For CHIKV, 3.3% (6/80) of patients had IgG against the virus. In addition, 48.3% (87/180) presented simultaneously against DENV and ZIKV. Regarding the detection of IgM patients, 9 were positive for DENV, 6 for ZIKV, and 6 for CHIKV. Thus, the results indicate that DENV infection is the most common, followed by ZIKV. Co-infections cases of DENV and ZIKV can be due to a cross-reaction. Thus, the samples, serologically positive for ZIKV (58.5/86) were submitted to ZIKV RT-qPCR tests, being 20% (10/50) positive. In the detection of DENV and ZIKV cross-reaction, the ZIKV RNA was detected, emphasizing the applicability of the test to patients suspected of arboviruses. To medical patients, it is very important for clinical practice, as many had their medical treatments performed for DENV, when in fact they may be infected by another arbovirus.

**Keywords:** Dengue virus, Zika Virus, Chikungunya Fever, Arbovirus, prevalence

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Mapa Político da Amazônia Legal.....	18
Figura 2 -	Capsídeo esférico do Vírus DENV.....	19
Figura 3 -	Estrutura de uma partícula de ZIKV.....	26
Figura 4 -	Ilustração de um bebê com microcefalia (à esquerda) e outro com tamanho da cabeça normal. ....	33
Figura 5 -	Imagem das proteínas estruturais de um alfavírus, o vírus Sindbis .....	34
Figura 6 -	Expressão dos genes dos Alphavirus.....	35
Figura 7 -	Mapa Geográfico do Estado do Tocantins e limites de Municípios com indicativo de cores de cada Região de Saúde a que pertence (à esquerda). Região de Saúde Ilha do Bananal (à direita).....	41
Figura 8 -	Kit Teste Rápido DPP para ZIKV, CHIKV e DENV, IgM/IgG desenvolvido em 2019 pelo Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos (Bio-Manguinhos) uma unidade da Fundação Oswaldo Cruz.....	47
Figura 9 -	Sistema de PCR em tempo real QuantStudio 5 Dx. ....	49
Figura 10 -	Gráfico de distribuição por gênero.....	51
Figura 11 -	Gráfico de distribuição por cidade.....	51
Figura 12 -	Gráfico de distribuição por idade.....	52
Figura 13 -	Gráfico de distribuição das amostras IgG positivas e negativas.....	53
Figura 14 -	Gráfico de distribuição das amostras IgM positivas e negativas.....	53
Figura 15 -	Casos prováveis de Dengue no Estado do Tocantins a cada semana epidemiológica entre os anos de 2017 e 2021.....	56
Figura 16 -	Casos prováveis de Dengue no Estado do Tocantins a cada semana epidemiológica entre os anos de 2018 e 2022.....	57
Figura 17 -	Comparativo entre casos de infecção por DENV entre os anos de 2019 e 2020 no Brasil.....	58
Figura 18 -	Distribuição espacial da identificação de sorotipos DENV (A), e detecção de CHIKV (B) e ZIKV (C), por métodos de biologia molecular, por UF, SE 1 a 44, 2021.....	60

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tabela modelo de anotações dos dados obtidos após testes sorológicos.....	48
Tabela 2 - Primers utilizados para RT-qPCR para ZIKV.....	49
Tabela 3 - Modelo de análise estatística.....	50
Tabela 4 - CTs das amostras com resultados positivas para ZIKV.....	54

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC	Acre
AL	Alagoas
AP	Amapá
AM	Amazonas
Asn154	Asparagina na posição 154
BA	Bahia
CDC	Centro de Controle e Prevenção de Doenças
CE	Ceará
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CHIKV	Chikungunya
CT	Cycle Threshold
DENV	Vírus da dengue
DENV1	Vírus da dengue sorotipo 1
DENV2	Vírus da dengue sorotipo 2
DENV3	Vírus da dengue sorotipo 3
DENV4	Vírus da dengue sorotipo 4
DF	Distrito Federal
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ES	Espírito Santo
E	Envelope
GO	Goiás
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IMIP	Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira
IPEA	Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada.
Kl	(geralmente escrito: kl) - quilobases
LCR	Líquido Cefalorraquidiano
M	Membrana
MA	Maranhão
MG	Minas Gerais
MT	Mato Grosso

MS	Mato Grosso do Sul
Nm	(geralmente escrito: nm)- nanômetro
OMS	Organização Mundial da Saúde
ORF	Regiões Abertas de Leitura
PA	Pará
PB	Paraíba
Pb	(geralmente escrito: pb)– Pares de Base
PR	Paraná
prM	Pré-Membrana
PE	Pernambuco
PI	Piauí
qRT-PCR	Transcrição Reversa – Reação em Cadeia Polimerase em Tempo Real
RJ	Rio de Janeiro
RN	Rio Grande do Norte
RNA	Ácido Ribonucleico
RS	Rio Grande do Sul
RT-PCR	Transcrição Reversa – Reação em Cadeia Polimerase
RO	Rondônia
RR	Roraima
SC	Santa Catarina
SP	São Paulo
SE	Sergipe
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TO	Tocantins
UFT	Universidade Federal do Tocantins
UVRI	Uganda Virus Research Institute
WHO	World Health Organization
ZIKV	Zika Virus

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>1.1 Vírus da dengue .....</b>	<b>19</b>
1.1.1 Etiologia e características virais .....	19
1.1.2 Replicação .....	20
1.1.3 Subtipos .....	21
1.1.4 Histórico da dengue .....	22
1.1.5 Epidemiologia.....	22
1.1.6 Diagnóstico laboratorial .....	23
1.1.7 Patogênese .....	24
1.1.8 Tratamento.....	25
<b>1.2 Zika vírus .....</b>	<b>26</b>
1.2.1 Etiologia e características virais .....	26
1.2.2 Replicação .....	27
1.2.3 Linhagens .....	28
1.2.4 Histórico da febre zika.....	28
1.2.5 Epidemiologia.....	29
1.2.6 Diagnóstico laboratorial .....	30
1.2.7 Patogênese .....	30
1.2.8 Tratamento.....	32
1.2.9 Manifestações clínicas .....	32
<b>1.3 O vírus chikungunya .....</b>	<b>34</b>
1.3.1 Etiologia e características virais .....	34
1.3.2 Replicação .....	35
1.3.3 Linhagens .....	36
1.3.4 Histórico da febre chikungunya.....	36
1.3.5 Epidemiologia.....	37
1.3.6 Diagnóstico laboratorial .....	37
1.3.7 Patogênese .....	38
1.3.8 Tratamento.....	38
1.3.9 Manifestações clínicas .....	39
<b>1.4 RT-qPCR.....</b>	<b>39</b>
<b>2 O ESTADO DO TOCANTINS.....</b>	<b>41</b>
<b>3 JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>43</b>
<b>4 OBJETIVOS .....</b>	<b>44</b>

<b>4.1</b>	<b>Objetivo geral.....</b>	<b>44</b>
<b>4.2</b>	<b>Objetivos específicos.....</b>	<b>44</b>
<b>5</b>	<b>MATERIAS E MÉTODOS .....</b>	<b>45</b>
<b>5.1</b>	<b>Delineamento e local do estudo.....</b>	<b>45</b>
<b>5.2</b>	<b>Período do estudo .....</b>	<b>45</b>
<b>5.3</b>	<b>Aspectos éticos .....</b>	<b>45</b>
<b>5.4</b>	<b>Coleta de amostra sanguíneas e armazenamento em soroteca.....</b>	<b>46</b>
<b>5.5</b>	<b>Testes sorológicos.....</b>	<b>46</b>
<b>5.6</b>	<b>As possibilidades de resultados do teste .....</b>	<b>48</b>
<b>5.7</b>	<b>RT-qPCR.....</b>	<b>49</b>
<b>5.8</b>	<b>Análise estatística.....</b>	<b>50</b>
<b>6</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>51</b>
<b>6.1</b>	<b>Dados gerais .....</b>	<b>51</b>
<b>6.2</b>	<b>RT-qPCR.....</b>	<b>54</b>
<b>6.3</b>	<b>Questionário .....</b>	<b>54</b>
<b>7</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>56</b>
<b>8</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>62</b>
<b>9</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>63</b>
<b>10</b>	<b>ANEXOS .....</b>	<b>72</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Arbovírus é a denominação utilizada para designar os vírus que podem ser transmitidos ao homem por vetores artrópodes (*Arthropod-borne virus*). Estes vírus podem infectar seres humanos ou outros animais por meio da picada hematófaga. Entre as mais de 545 espécies de arbovírus conhecidos, cerca de 150 causam doenças em seres humanos. Constituem um grande desafio para os órgãos de regulação e combate a doenças visto que mudanças climáticas e degradação do meio ambiente favorecerem à amplificação, transmissão viral, além da transposição da barreira entre espécies. Os arbovírus que causam doenças em humanos e outros animais de sangue quente são membros de diversas famílias virais, entre elas podemos citar *Bunyaviridae*, *Togaviridae*, *Flaviviridae*, *Reoviridae* e *Rhabdoviridae* (LOPES et al., 2014).

Se tornou um grande desafio, em todo o globo terrestre, o controle e combate ao vírus que ano após ano tem provocado epidemias em diversas regiões do planeta. A Organização Mundial da Saúde expressa grande preocupação ao observarem a abrangência e alcance das arboviroses, bem como os danos causados e números de vítimas frequentemente alarmantes (WHO, 2009).

No Brasil, as arboviroses configuram um problema emergente e desafiador que tem repercutido na saúde pública nos casos de morbimortalidade em todas as regiões geográficas do país. No território brasileiro, a detecção de circulação das arboviroses iniciou-se em 1968, e vêm aumentando os índices epidemiológicos e as variações dos arbovírus, de maneira que, em 2014, foi diagnosticada a tríade arbovirótica: causada pelos vírus da dengue (DENV), Zika (ZIKV) e Chikungunya (CHIKV).

Com a expansão desse cenário, foram notificados em 2019, mais de um milhão e meio de casos prováveis apenas de dengue no país, o que expressa uma taxa de incidência de casos muito alta por 100 mil habitantes distribuídos em todos os Estados da federação, em conjunto com os casos de Zika e Chikungunya.

O ano de 2018 foi marcante para o Estado do Tocantins pelo alerta do Ministério da Saúde publicado em meados de junho de 2018, que apontava 46 municípios tocantinenses com risco de surto de DENV, ZIKV e CHIKV. Dos 139 municípios do estado, 78 realizaram o levantamento de infestação do *Aedes aegypti*. Desse total, 14 estão em risco de surtos arbovirais e 32 aparecem em alerta, entre eles, a capital do Estado, Palmas. Foi o Estado com maior número de notificações da Região Norte do país. O volume de casos sofreu um aumento expressivo entre os anos de 2018 e 2019 saltando de 2.874 casos para 14.088

respectivamente, um ano aumento de 390% entre 2018 e 2019 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

Em 2015 ocorreu um grande surto de arboviroses no Brasil, com um total de 1.650.000 notificações e 863 mortes. No Estado do Tocantins, presenciamos a maior epidemia já registrada, com 18.270 notificações de casos suspeitos de dengue, sendo que 5.895 deles foram confirmados (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019). Dos 139 municípios do Estado, dez foram notificados por autoridades no que diz respeito ao controle da dengue, sendo eles: Palmas, Araguaína, Paraíso do Tocantins, Gurupi, Porto Nacional, Araguatins, Guaraí, Tocantinópolis, Colinas do Tocantins e Miracema do Tocantins. Embora a quantidade de municípios corresponde a 7,2% dos municípios do Estado, estes são os maiores municípios, correspondendo no total a 51,2% da população do estado segundo o levantamento populacional do IBGE de 2017 (IBGE, 2018).

É importante lembrar que, conforme a Lei Federal nº 1.806, de 06 de janeiro de 1953, o Estado do Tocantins faz parte de uma área que o Governo brasileiro denomina Amazônia Legal (Figura 01). A área corresponde a aproximadamente 5.217.423 km<sup>2</sup>, cerca de 61% do território brasileiro. Esta área é formada por fauna e flora padrão da Floresta Amazônica e sua extensão abrange os territórios de nove estados: Acre, Amapá, Amazonas, Pará, Rondônia, Roraima e parte dos estados de Mato Grosso, Tocantins e Maranhão (CASA CIVIL, 1953).

Nessa região da Amazônia Legal se concentra uma população indígena de cerca de 250 mil índios. Tem importância mundial visto que corresponde a 1/3 das florestas tropicais úmidas do planeta e detém a mais elevada biodiversidade, o maior banco genético já registrado. Além disso, 20% da disponibilidade mundial de água potável está nessa região (IBGE, 2011).

**Figura 1** - Mapa Político da Amazônia Legal - A área corresponde a aproximadamente 5.217.423 km<sup>2</sup>, cerca de 61% do território brasileiro



Fonte: IPEA

Entre as arboviroses com infecção em seres humanos e que mais se destacam-no Brasil temos o DENV, ZIKV e CHIKV e estão amplamente disseminadas na região da Amazônia Legal, principalmente devido a presença de diferentes vetores, incluindo o mosquito *Ae. aegypti*. Ter informações a respeito do quanto essas arboviroses já atingiram a população por meio de diagnóstico preciso e confiável é essencial para que o trabalho de combate seja assertivo.

As técnicas de amplificação e detecção de ácidos nucleicos estão entre as ferramentas mais valiosas na pesquisa biológica atualmente. Para algumas aplicações, a detecção qualitativa de ácido nucleico é suficiente. Outras aplicações, no entanto, exigem uma análise quantitativa. A PCR em tempo real (qPCR) pode ser usada para análises qualitativas e quantitativas. A transcrição reversa seguida da reação em cadeia pela polimerase (RT-PCR) e a de transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase em tempo real (qRT-PCR) possibilitam o diagnóstico preciso através da detecção do RNA viral no período da fase aguda da doença (FAYE et al., 2013). É uma técnica específica, rápida e sensível, além de possibilitar a quantificação viral, tornando possível a correlação com a sintomatologia clínica apresentada pelo paciente (FAYE et al., 2008; WHO, 2009).

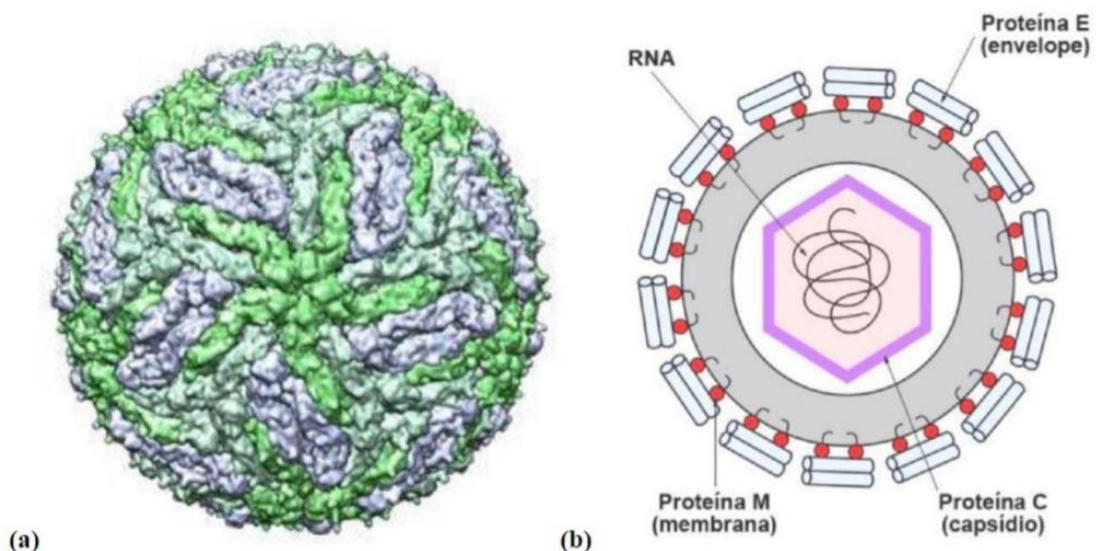
Abaixo descrevemos cada um destes vírus, relacionando as suas características e outros fatores que contribuem para alta incidência nessa região.

## 1.1 Vírus da dengue

### 1.1.1 Etiologia e características virais

O vírus da dengue (DENV) possui genoma RNA de fita simples e polaridade positiva com cerca de 10,5 a 11 quilobases (kb) (ROSS, 2010). É membro da família *Flaviviridae* e gênero *Flavivirus*, que inclui, o vírus da febre amarela, o vírus da encefalite de Sant Louis, vírus da encefalite japonesa, o vírus da febre do Nilo Ocidental, entre outros. Os vírus dessa família são esféricos, com um diâmetro de 40 a 50 nm e envelopados (SINGHI et al., 2007). O RNA viral é protegido por um nucleocapsídeo icosaédrico, composto por um capsídeo de aproximadamente 30 nm (Figura 02). Este nucleocapsídeo é circundado por uma membrana lipoprotéica – o envelope - derivado da célula hospedeira, contendo proteínas do envelope e proteínas da membrana ou pré-membrana inseridas nele (STIASNY & HEINZ, 2006).

**Figura 2** - Representação do capsídeo esférico do Vírus DENV (a). Organização estrutural do Vírus (b). O material genético dentro de um capsídeo formado pelas proteínas C, que é envolvido pelo envelope formado por proteínas M e E.



Entre os cerca de 11kb de comprimento do genoma do DENV, há uma única fase de leitura aberta (do inglês, open reading frame ou seu acrônimo, ORF), com cerca de 10.170 nucleotídeos (Genomas: DENV I - 10,735 - Accession: NC\_001477.1; DENV II - 10,723 bp - Accession: NC\_001474.2; DENV III - 10,707 bp - Accession: NC\_001475.2; DENV IV - 10,649 bp - Accession: NC\_002640.1) que varia dependendo do sorotipo do DENV. Essa ORF codifica uma única poliproteína, que após clivagens, gera ao todo dez proteínas, sendo três proteínas estruturais: do capsídeo (C), proteína de membrana (M, inserida no envelope) e do envelope (E); além de sete proteínas não estruturais (denominadas NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5), importantes para a replicação viral e processamento do polipeptídeo (RODENHUIS-ZYBERT et al., 2010; GUZMAN et al., 2010).

A maioria dos vírus dessa família é transmitida por mosquitos ou carrapatos e, portanto, também são conhecidos como arbovírus (GOULD et al., 2008). O DENV é transmitido pelo mosquito *Aedes aegypti* e o *Aedes albopictus*. O vetor inicia o ciclo a partir de uma picada em um indivíduo contaminado. O sangue desse indivíduo é ingerido pelo mosquito e o vírus presente no sangue se multiplica no intestino médio. Após um período, que dura cerca de 10 dias, chamado de incubação extrínseca, são encontrados vírus também no ovário (podendo contaminar os ovos gerados ali), sistema nervoso e glândulas salivares do mosquito. Esse mosquito está pronto para transmitir o DENV por meio da picada em indivíduos suscetíveis (WHITEHEAD et al., 2007).

### 1.1.2 Replicação

O ciclo de replicação tem início após a entrada dos vírus na célula por endocitose, através da interação da proteína viral do envelope com receptores da membrana plasmática (FERNANDEZ-GARCIA et al., 2009). A síntese de proteínas virais específicas está associada ao retículo endoplasmático rugoso, e a replicação do RNA está localizada na região perinuclear (ALVAREZ et al., 2005).

O RNA viral disperso no citoplasma codifica a poliproteína precursora. Após isso, inicia-se ao processo pré- e pós-traducional na membrana do retículo endoplasmático por clivagem das proteases do hospedeiro e também do vírus. Desse processo originam-se dez proteínas, e após a tradução do RNA viral, a proteína C e NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5 são liberadas para o citoplasma, apesar de algumas ficarem ancoradas em região de membrana e não conseguirem ser liberadas imediatamente (MULLER, 2011).

O processo de replicação inicia-se pela transcrição do RNA de polaridade positiva em numa fita negativa de RNA, formando uma dupla fita de RNA. Dela são geradas inúmeras cópias de RNA de cadeia positiva. Na superfície do retículo endoplasmático ocorre a montagem inicial do vírion, pois o RNA viral se une a proteína C, formando o nucleocapsídeo. Após isso, todo esse material é empacotado em uma bi-camada lipídica no retículo endoplasmático e a proteína precursora de membrana (prM), juntamente com a glicoproteína E, integram o envelope viral. Nesse momento tem-se um vírus imaturo que é conduzido através do lúmen do retículo endoplasmático para maturação que ocorre no complexo de Golgi. No status imaturo ele ainda não é infeccioso. Nessa etapa, ocorre a clivagem da proteína prM em proteína M. Em seguida ocorre a liberação das partículas virais para o meio extracelular por exocitose (FERNANDEZ-GARCIA et al., 2009; MULLER, 2011).

### 1.1.3 Subtipos

Dois fatores são citados para justificar a presença de variantes do mesmo vírus que resultaram em termos, atualmente, os quatro sorotipos. O primeiro foi citado por HOLLAND (1980), quando descreveu a ausência de atividade *proofreading* (autocorreção da troca de nucleotídeos) da RNA polimerase viral, não possuindo assim um único genótipo por conta da alta taxa de mutação (CLYDE et al., 2006). Outros estudos apontaram a recombinação gênica como um fator diferencial no que diz respeito à diversidade genéticas dos DENV (GONÇALVES, 2007). Análise filogenética baseada na sequência completa do gene E, confirma a existência de mais de um genótipo para cada tipo viral do DENV. Os diversos sorotipos da dengue podem ser classificados em vários grupos genéticos (genótipos) com base na diversidade. Tudo depende de análises filogenéticas definidas (CHEN et al., 2011).

Além disso, a humanidade tem sido repetidamente exposta ao DENV, e o processo de transmissão por mudança de espécie hospedeira e a pressão seletiva do sistema imune, contribuíram para o surgimento dos quatro sorotipos, denominados DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4 que circulam atualmente. Outro motivo da diversidade genética do DENV ser grande é pelo crescente tamanho e densidade da população hospedeiro/vetor. Isso possibilita o aumento das taxas de transmissão e de replicação e, conseqüentemente, do tamanho da população viral (VASILAKIS et al., 2011; SOLOMONIDES, 2010).

#### 1.1.4 Histórico da dengue

A enfermidade dengue teve suas primeiras descrições, no sudeste da Ásia, datando de 1779. Já a sua causa viral e o modo comum de transmissão foram desvendadas por cientistas no início dos anos 1900. A doença se tornou um motivo de terror entre a comunidade científica e médica desde a Segunda Guerra Mundial e é endêmica em mais de 110 países diferentes, tendo em destaque as regiões tropicais da Oceania, África Oriental, Caribe e América (BARRETO & TEIXEIRA, 2008).

O DENV-1 foi descrito ao redor do mundo pela primeira vez entre os anos de 1943 a 1945 na Polinésia Francesa, Japão e Havaí. O DENV-2 foi relatado em 1944 em Papua Nova Guiné e na Indonésia, reaparecendo nas Filipinas cerca de 10 anos depois. O terceiro subtipo, DENV-3 foi identificado inicialmente nas Filipinas e Tailândia em 1953 e a partir do ano de 1962 tem tido notificações anuais ininterruptas. Nessa mesma região, também na década de 1960, o DENV-4 foi identificado, com casos de infecções em todos os anos, tendo historicamente registrado o surto em 1999 e 2002. Desde então ela se espalhou para incontáveis países (MESSINA et al., 2014).

No Brasil, há fortes indícios que a primeira epidemia de DENV-1 e DENV-4 ocorreu em 1982, em Boa Vista (RO). Por meio de um inquérito sorológico, foi possível chegar a conclusão de que, aproximadamente, 11 mil pessoas foram infectadas pelo DENV nesse período. O DENV-1 apareceu novamente em 1986, no Brasil, na cidade de Nova Iguaçu-RJ, tendo a partir daí uma disseminação em larga escala ao ponto de no ano seguinte já ter atingido 07 estados brasileiros (Rio de Janeiro, Ceará, Alagoas, Pernambuco, São Paulo, Bahia, Minas Gerais). Em 1990 o DENV-2 foi introduzido no Brasil, novamente com os primeiros casos sendo notificados no estado do Rio de Janeiro. Em 2001 foi confirmada a introdução no país do sorotipo DENV-3, isolado de indivíduo residente no Rio de Janeiro e que havia adoecido em dezembro do ano anterior. Esse sorotipo foi responsável pela epidemia de 2002 do Brasil, quando foram notificados aproximadamente 800 mil casos, ou seja, quase 80% das ocorrências do continente americano (BARRETO & TEIXEIRA, 2008).

#### 1.1.5 Epidemiologia

Entre todas as doenças virais, a Dengue é a que tem demonstrado maior potencial de atravessar fronteiras e atingir povos distantes. Em 2009 a Organização Mundial de Saúde

noticiou que período entre 1960 até 2009, a incidência de Dengue havia aumentado 30 vezes, tendo infectado seres humanos no meio urbano e rural (WHO, 2009).

Até o ano de 1970 apenas 9 países haviam registrado epidemias graves de Dengue. Atualmente, ela é epidêmica em mais de 100 países e em todos os continentes (WHO, 2016). Estimativas recentes indicam 390 milhões de infecções por dengue por ano (95% de intervalo de credibilidade, 284-528 milhões), dos quais 96 milhões (67-136 milhões) se manifestam clinicamente, com qualquer gravidade da doença. Outro estudo sobre a prevalência da dengue estima que 3,9 bilhões de pessoas em 128 países estão em risco de infecção pelos vírus da doença (WHO, 2019). Como ainda não existe vacina disponível, atualmente as medidas de prevenção da doença têm como eixo o controle da população do vetor (STEPHENSON, 2005).

Nos registros do Ministério da Saúde, entre os anos de 1990 e 2014 o Brasil sofreu cinco grandes epidemias de Dengue envolvendo os quatro sorotipos conhecidos do vírus, sendo elas: 1998 (DENV-1), 2002 (DENV-3), 2008 (DENV-2), 2010 (DENV-1) e em 2013 (DENV-1 e DENV-4). No ano de 2018 foram feitas quase 253 mil notificações de casos suspeitos de dengue, sendo que 37,9% desses eram da região Centro-Oeste do país. A segunda região a apresentar maior quantidade de dados foi o Nordeste brasileiro com 26,4% dos casos confirmados (BRASIL, 2019a). Em 2019 foram assinalados como casos suspeitos de dengue 1.527.119 notificações. Sendo que 19.716 foram confirmados (BRASIL, 2019b).

Em 2019, o Estado do Tocantins registrou o maior número de casos prováveis de dengue da última década entre os estados federados do Brasil. Considerando o mesmo período do ano anterior, ocorreu um acréscimo de 390%, com 14.088 casos prováveis em 2019 contra 2.874 casos prováveis em 2018. Dos 139 municípios do Estado, 116 municípios confirmaram casos de Dengue e houve, em 2019, 09 óbitos (TOCANTINS, 2020).

#### 1.1.6 Diagnóstico laboratorial

Opções diagnósticas incluem ensaios para detectar o vírus (genoma ou antígenos proteicos) ou a resposta do paciente ao vírus, através dos anticorpos. A escolha do tipo de teste depende da fase da doença e o momento em que a coleta é realizada (GUZMAN & HARRIS, 2015).

Para um diagnóstico laboratorial com maior especificidade pode ser realizado a pesquisa de anticorpos, isolamento do vírus, análise do genoma viral pelo método da transcrição reversa seguida da cadeia da polimerase (RT-PCR) ou a detecção do antígeno

NS1. O RNA viral pode ser extraído em amostras de soro, sangue, plasma, sangue coletado em papel de filtro e saliva (BRAGA, 2020). Em casos em que a doença é fatal, o método de imuno-histoquímica é utilizado (BRASIL, 2010).

O método de análise por RT-PCR é frequentemente utilizado, pois possibilita que a doença seja identificada precocemente e que o genótipo viral seja determinado (SILVA, 2014). Esse método de diagnóstico permite localizar a presença de partículas virais durante a fase aguda e levam de 24-48 horas para serem realizados com segurança.

### 1.1.7 Patogênese

As duas principais apresentações clínicas da doença são a Febre da Dengue (FD) e a Febre Hemorrágica da Dengue ou Síndrome do Choque da Dengue (FHD/SCD) (CLYDE et al., 2006).

Os sinais e sintomas característicos da dengue são febre súbita, cefaleia, (geralmente localizada na estrutura nervosa por trás do arcabouço ocular), mialgias e dores articulares além de erupções cutâneas. Uma referência comum que os pacientes ao sofrerem da doença fazem e que em algumas partes do mundo acabou se tornando um nome alternativo para a dengue é "febre quebra ossos", nome proveniente da sensação intensa que é sentida nos músculos e articulações (WHITEHORN et al., 2010; CHEN et al., 2010).

As fases da infecção no organismo são divididas em três etapas: febril, crítico e de recuperação. A primeira fase é a febril e inclui febre em níveis altos, acima de 40° C associada a cefaleia e mal-estar geral. Esta fase é relativamente curta e dura geralmente de dois a sete dias. Vômitos também podem estar presentes nessa fase inicial do desenvolvimento da doença (SIMMONS et al., 2012). Na segunda fase, em 50 até 80% dos pacientes infectados podem surgir erupções cutâneas. Em alguns casos, manifestações mucocutâneas são observadas. Nesta fase, podem aparecer petéquias (pequenas manchas vermelhas, causada pela ruptura dos capilares), bem como um leve sangramento da mucosa oral e nasal. Já se observou que a febre é classicamente de natureza bifásica, ou seja, é interrompida por meios medicamentosos e, em seguida, volta durante um ou dois dias. Embora ocorra variação na apresentação desses sintomas, a maioria dos pacientes apresentam o quadro relatado acima com posterior recuperação (RANJIT et al., 2011).

### 1.1.8 Tratamento

O tratamento do dengue na fase inicial é realizado com monitoramento do doente e da evolução da doença e com drogas de efeito analgésico para alívio de desconfortos e quadros algícos, além de recomendações expressas para se evitar ácido acetilsalicílico (AAS), ibuprofeno e outros anti-inflamatórios não esteroidais (AINE) pois inibem elementos essenciais para a coagulação sanguínea. Exames laboratoriais também podem ser feitos com objetivo de verificação dos níveis de concentração de hematócrito e de plaquetas. Como não há medicação antiviral específica para infecções por dengue, a terapia de suporte ao doente e a terapia agressiva de reposição de fluidos é fundamental para o manejo da doença (SINGHI et al., 2007).

Quando ocorre o aumento na permeabilidade vascular levando a extravasamento de plasma e hemostasia anormal temos o desenvolvimento de sinais que indicam aumento da gravidade do quadro clínico do paciente com significativo risco de morte. Essas características fisiopatológicas determinam a gravidade e diferenciam a dengue clássica da dengue hemorrágica, que pode levar a morte. A perda de volume plasmático em decorrência de migração para as cavidades serosas (cavidades peritoneal e pleural) pode causar choque hipovolêmico. Entre as manifestações hemorrágicas temos a hemostasia anormal como a trombocitopenia, alteração na função plaquetária com grande variação para níveis baixos, coagulação vascular disseminada e aumento da fragilidade capilar (LUPI et al., 2007).

Nos casos de dengue hemorrágica o quadro inicial é similar ao quadro clínico da dengue clássica, pois a febre aparece. No entanto, entre o terceiro e o oitavo dia de evolução da doença, os sinais característicos do desenvolvimento da dengue hemorrágica aparecem. Há evidência clara de extravasamento de plasma, além de sangramento em diversos órgãos, como o trato gastrointestinal, pulmões, cérebro e esôfago (LUPI et al., 2007).

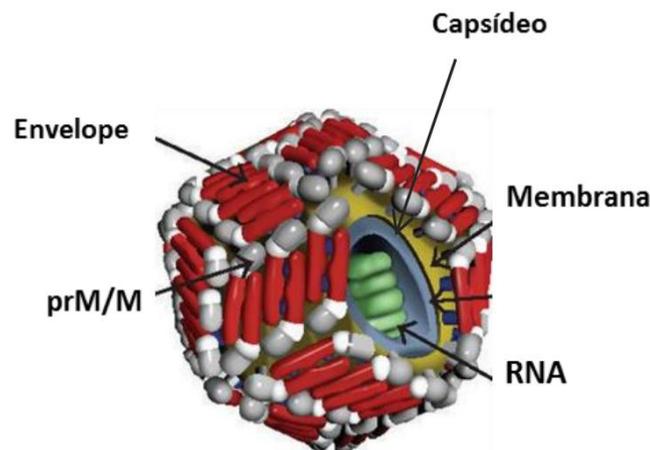
É na dengue hemorrágica que se chega ao estado mais crítico da doença, definido pela OMS como Síndrome do Choque associada a Dengue (SCD). O quadro de SCD se configura quando há a definição de que o paciente está com dengue hemorrágica e junto a esse diagnóstico acrescenta-se os sinais de insuficiência circulatória, hipotensão, reperfusão capilar prolongada, pele fria, úmida e agitação (SINGHI, 2007). O quadro pode se agravar para um segundo estágio, com a evolução da doença para ascite e derrame pleural. Algumas manifestações menos comuns da SCD são: hepatite, encefalite e glomerulonefrite e disfunção miocárdica, podendo ter o aparecimento do quadro de comprometimento do sistema nervoso central e insuficiência hepática e renal agudas (SINGHI, 2007).

## 1.2 Zika vírus

### 1.2.1 Etiologia e características virais

O ZIKV, assim como o DENV, é membro da família *Flaviviridae* e gênero *Flavivirus* e é transmitido pela picada do mesmo mosquito (*Aedes aegypti*). O nome Zika (ou Zica) tem sua origem na floresta de Zika, perto de Entebbe, capital da República de Uganda, local onde o vírus foi isolado pela primeira vez de um macaco Rhesus (*Macaca mulatta*) em 1947 por cientistas do Uganda Virus Research Institute (UVRI) (COHEN, 2016).

**Figura 3** - Estrutura de uma partícula de ZIKV



Fonte: CHANCEY et al. (2015).

Seguindo o mesmo padrão de outros vírus da família *Flaviviridae*, ele é envelopado e com simetria icosaédrica, medindo aproximadamente 40nm de diâmetro (Figura 03).

O ZIKV possui um genoma RNA não segmentado, fita simples e polaridade positiva. É mais próximo ao vírus Spondweni e por isso pertence ao subgrupo do Spondweni (HADDOW & WOODALL, 2016). Está situada próxima a um sítio de glicosilação que contém o aminoácido asparagina na posição 154 (Asn154) e está associado à virulência nos flavivírus. Essas diferenças estruturais podem ser importantes para o entendimento da patogênese da doença (SIROHI et al., 2016). O genoma contém cerca de 11 kb de comprimento e dá origem a uma única ORF, que é flanqueada por regiões 5' e 3' não codificantes. O genoma está envolto pelo nucleocapsídeo, que por sua vez, é revestido pelo

envelope viral derivado da célula hospedeira, contendo proteínas virais ancoradas (WAHID et al., 2016; SIROHI et al., 2016).

Essas proteínas atuam como sítio de ligação a célula e após a penetração no citoplasma, a polimerase viral é ativada. O material genético é traduzido para uma poliproteína que é clivada pela ação sequente de enzimas virais em conjunto com enzimas celulares. Como produto temos três proteínas estruturais (capsídeo, pré-membrana e envelope) e outras sete proteínas não estruturais: NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b e NS5. As proteínas não estruturais têm funções específicas e atuam na replicação, montagem e modulação da resposta imunológica do hospedeiro (LOGAN, 2016; SIROHI et al., 2016; WAHID et al., 2016).

### 1.2.2 Replicação

O ZIKV replica-se em células epiteliais do intestino médio do vetor e subsequentemente nas células das glândulas salivares dos mosquitos do gênero *Aedes*. Após um período de incubação de 5 a 10 dias, o vírus está presente na saliva do mosquito, podendo infectar os humanos (CHAN et al., 2016).

Por meio da picada na pele, o vetor transmite o vírus. Os fibroblastos da pele, os queratinócitos da epiderme, as células dendríticas e as células de Langerhans são muito permissivas à infecção pelo ZIKV, resultando num aumento gradual da produção de partículas virais. As proteínas do envelope interagem com vários receptores e fatores de ligação à superfície da célula hospedeira, permitindo a entrada do vírus na célula através de uma vesícula formada a partir da membrana celular. Em seguida, a introdução do material genético viral é por meio de endocitose mediada por proteínas do tipo clatrina (LINDENBACH & RICE, 2003; HAMEL et al., 2015).

Após o material viral estar dentro da célula, ocorrem quatro fases de replicação. A primeira delas é a tradução do RNA genômico. Esta primeira fase dará origem às novas proteínas estruturais e não estruturais. A segunda fase é a síntese de uma fita molde de RNA de polaridade negativa. Por meio dessa fita molde será possível copiar a exata sequência do RNA viral. A terceira fase é a mobilização das proteínas estruturais para a montagem de partícula viral no retículo endoplasmático. Por fim ocorre a última fase que é a liberação do vírions maduros para o meio extracelular (SHANKAR et al., 2017).

### 1.2.3 Linhagens

Análises filogenéticas demonstraram existir duas linhagens principais do ZIKV. Uma delas inclui as estirpes africanas e outra que inclui as estirpes asiáticas, tendo apenas um único sorotipo viral (HADDOW et al., 2012; SAIZ et al., 2017). Estudos mostram que a linhagem circulante no Brasil foi da estirpe asiática (FARIA et al., 2016) e que, somente a partir de 2019, começaram a haver evidências de que a estirpe africana tenha circulado no Brasil (KASPRZYKOWSKI et al., 2020).

Inseridos nesses dois grandes grupos (estirpe africana e estirpe asiática), uma análise genética dos vírus isolados apresentou dados mais detalhados de variantes dos vírus iniciais, sendo que, dentro do grupo da linhagem africana temos: cepa do Senegal, cepa da Nigéria e a cepa de Uganda; no grupo da linhagem asiática temos: cepa da Micronésia, cepa do Camboja e cepa da Malásia (KASPRZYKOWSKI et al., 2020).

Nesse estudo foi possível observar que a vigilância detectou alterações nas 248 sequências brasileiras enviadas. Em 2015, 42,8% das sequências foram caracterizadas como cambojanas e 57,2% como micronésias. A proporção de envios de sequência com o subtipo Camboja foi extremamente alta (> 90%) durante 2016, 2017 e 2018. Já no ano de 2019, uma inversão desse perfil ocorreu, com aumento significativo do subtipo da Micronésia representando 89,2% (KASPRZYKOWSKI et al., 2020).

Desde 2019, a linhagem africana começou a ser identificada no território brasileiro, com primeiros casos em macacos bugios na região Sul do país. Nove primatas foram confirmados com RT-PCR positivos para RNA de ZIKV. O estudo analisou e constatou que a sequência revelou 96 a 98% de identidade com ZIKV MR766 e 85% de identidade com ZIKV P6-740 (cepa epidêmica atual no Brasil) (ALMEIDA et al., 2020).

### 1.2.4 Histórico da febre zika

No homem esse vírus foi isolado pela primeira vez em 1968, na Nigéria. Em um monitoramento que durou cerca de 30 anos de estudos (do ano de 1951 a 1981). Notificações de infecção humana por ZIKV foram sinalizadas em outras partes do continente africano como Uganda, Tanzânia, Egito, República Centro-Africana, Serra Leoa e Gabão que tiveram, por muitas vezes pacientes com sinais claros de infecção por ZIKV. A presença do ZIKV na América do Sul é relativamente nova (BROGUEIRA & MIRANDA, 2017).

Os primeiros casos de Zika adquiridos nas Américas foram relatados no Brasil, em maio de 2015. Pesquisadores suspeitam que a chegada do vírus coincide com o evento esportivo de proporções mundiais realizado no Brasil entre os anos de 2013 e 2014, a Copa do Mundo de Futebol, pela presença de turistas de várias partes do mundo, inclusive de áreas tropicais em que o vírus é comum como a África e a Polinésia Francesa na Oceania (ENFISSI et al., 2016).

Ao final do primeiro semestre de 2015, um levantamento apontou que, em todas as regiões do Brasil, casos já haviam sido confirmados. A disseminação do ZIKV foi, em certo momento, ignorada pelas autoridades sanitárias do país por apresentar uma coletânea de sintomas mais brandos que os da DENV e os da CHIKV. No entanto, a infecção pelo ZIKV está intimamente relacionada a incidência de desenvolvimento de doenças graves, como microcefalia congênita e síndrome de Guillain-Barré, que antes eram situações pontuais e apresentaram um aumento exponencial após o aumento da incidência do ZIKV no Brasil (OMS, 2019; HOPPEN & MATTE, 2019).

Além desses, em partes da Ásia incluindo Índia, Paquistão, Malásia, Filipinas, Tailândia, Vietnã e Indonésia também apresentaram notificações de doenças com sinais e sintomas semelhantes, indicando que o ZIKV estava se espalhando por partes distantes da sua origem. Os vetores em que o vírus foi encontrado são das espécies *Aedes Aegypti*, *Aedes Africanus*, *Aedes Apicoargenteus*, *Aedes Furcifer*, *Aedes Luteocephalus* e *Aedes Vitattus*. Muitos estudos já demonstraram pelo monitoramento guiado que o período de incubação extrínseca em mosquitos é de 10 dias. Os hospedeiros vertebrados do vírus incluem macacos e humanos (HAYES, 2009).

### 1.2.5 Epidemiologia

Desde a sua descoberta, no final da década de 60 na Nigéria, até o fim do ano de 2006, o ZIKV era endêmico apenas no continente africano e no sudeste da Ásia tendo apenas cerca de 40 notificações nesse período (IOOS et al., 2014). A partir do ano de 2007, começaram a ocorrer epidemias por ZIKV em áreas fora do território de incidência inicial. Nas Ilhas Yap (Oceano Pacífico), ocorreu um surto, e 49 casos foram confirmados por exames laboratoriais e 59 como prováveis casos de infecção por ZIKV devido a presença de anticorpos neutralizantes (DUFFY et al., 2009). A partir daí milhares de casos começaram a ser notificados ao redor do mundo. Em 2013, aproximadamente 32 mil foram infectados na Polinésia Francesa. Após o vírus ter chegado ao Brasil, no ano de 2015, o vírus se espalhou,

atingindo vários países do continente Americano (SAIZ et al., 2017). No ano de 2016, foram notificados 216.207 casos suspeitos no Brasil em todos os Estados brasileiros. Em 2017 foram confirmados 8.703 casos no país. As maiores incidências no ano de 2017, foram constatadas nas regiões Norte e Centro-Oeste do País (SVS, 2017).

No Estado do Tocantins, houve, no ano de 2016, a maior epidemia de ZIKV chegando a 1.986 casos prováveis da doença. Em 2019 foram registrados 347 casos prováveis, que em comparação aos 220 casos em 2018, representam um acréscimo de 58% (TOCANTINS, 2020).

### 1.2.6 Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico clínico é inespecífico devido a grande quantidade de sinais e sintomas comuns a muitas doenças virais circulantes (FAYE et al., 2008). Por esse motivo, técnicas de diagnóstico molecular são necessárias para confirmar a infecção pelo ZIKV (GOURINAT et al., 2015).

Entre essas técnicas temos as moleculares de transcrição reversa seguida da reação em cadeia pela polimerase (RT-PCR) e a de transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase em tempo real (qRT-PCR) que possibilitam o diagnóstico preciso através da detecção do RNA viral no período da fase aguda da doença (FAYE et al., 2013). A RT-PCR é específica, rápida e sensível (FAYE et al., 2008). A técnica qRT-PCR possibilita a quantificação viral, tornando possível a correlação com a sintomatologia clínica apresentada pelo paciente (WHO, 2009).

Testes como o ELISA (do inglês: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) e a imunofluorescência também são utilizados para o diagnóstico de ZIKV. Eles detectam a presença viral após 5 ou 6 dias do início dos primeiros sintomas, anticorpos IgM ou IgG específicos para o vírus (PAHO, 2019). No entanto, em áreas em que há a circulação de outras arboviroses por flavivírus ativas é difícil ter o diagnóstico conclusivo por conta da reatividade cruzada que causam resultados falso-positivos (MUSSO & GUBLER, 2016; PLOURDE & BLOCH, 2016).

### 1.2.7 Patogênese

A patogênese da infecção por ZIKV ainda permanece em estudo e sem muitos detalhes precisos. Mas estudos indicam que ocorre, num período inicial, uma multiplicação

viral nas células dendríticas próximas ao local da introdução do material viral e logo depois se dissemina para o sistema circulatório e linfático (KROW-LUCAL et al., 2017). Outra característica que testes mostraram é que o ZIKV tem como alvo preferencial células neurais e progenitoras em diferentes graus de maturidade. Nesses estudos o vírus infectou com eficiência células neurais progenitoras humanas obtidas a partir de células-tronco pluripotentes induzidas tendo como resultado final o aumento na quantidade de morte celular e em outros casos, alteração do ciclo celular natural, causando crescimento celular atenuado (TANG et al., 2016).

As vias de transmissão da infecção materno-fetal e seus impactos no feto podem variar dependendo do estágio gestacional. Existem duas rotas básicas para o acesso fetal através das barreiras placentárias durante a gravidez: a via ascendente transvaginal e a via hematogênica. Além da transmissão do mosquito, o ZIKV pode ser transmitido por contato sexual. Os homens podem liberar partículas virais no sêmen por semanas ou meses após a fase de infecção aguda, agindo como um reservatório de longo prazo. Já na transmissão vertical, os microrganismos atingem a placenta através dos vasos maternos e cruzam as barreiras placentárias por vilosidades, incluindo o transporte através das células de Hofbauer, fibroblastos e células endoteliais que revestem os capilares fetais imersos na matriz extracelular (ZANLUCA et al., 2018).

Observou-se, portanto, que a maneira como o organismo infectado responde a invasão viral é de grande importância já que a patogênese não está detalhadamente descrita. A infecção por ZIKV estimula no hospedeiro a produção de interferons, que são citocinas importantes na resposta imunológica. Além disso, a produção de autofagossomos, que são importantes mecanismos do sistema imunológico, foi detectada (HAMEL et al., 2015).

Levando em consideração os dois grandes grupos em que estão classificados o ZIKV, a estirpe africana e estirpe asiática, estudos revelam que a estirpe africana ao ser sequenciada com foco no fragmento NS5 revelou 3 mutações das quais, 2 estavam localizadas na região de codificação de MTase e 1 estava na região de codificação de RdRP. A linhagem African MR 766, diferentemente da linhagem asiática, possui um genoma bem preservado entre os isolados, com cerca de 0,4% de diferenças de nucleotídeos durante todo o genoma analisado. Essa característica pode ser usada como justificativa para baixa patogenicidade da linhagem africana para humanos (BEAVER et al., 2018).

### 1.2.8 Tratamento

Não há medicamentos disponíveis para o tratamento da infecção pelo ZIKV (MCARTHUR, 2017). No entanto algumas drogas já existentes foram testadas e esses medicamentos apenas conseguiram diminuir sintomas. Antipiréticos com características analgésicas são recomendados para o controle da febre e das dores, o acetaminofeno (paracetamol) ou dipirona são os mais utilizados. Os antihistamínicos são utilizados para minimizar o exantema maculopapular (BRASIL, 2016).

Antivirais testados, como o sofosbuvir (comumente utilizado para o tratamento da hepatite) inibiu a replicação do ZIKV. A cloroquina (antipalúdico) e a azitromicina (antibacteriano) também foram testados. A cloroquina atuou nos estágios iniciais da infecção viral e a azitromicina inibiu a replicação viral e evitou os efeitos citopáticos ocasionados pelo vírus em células neurais (HAMER et al., 2017; MCARTHUR, 2017).

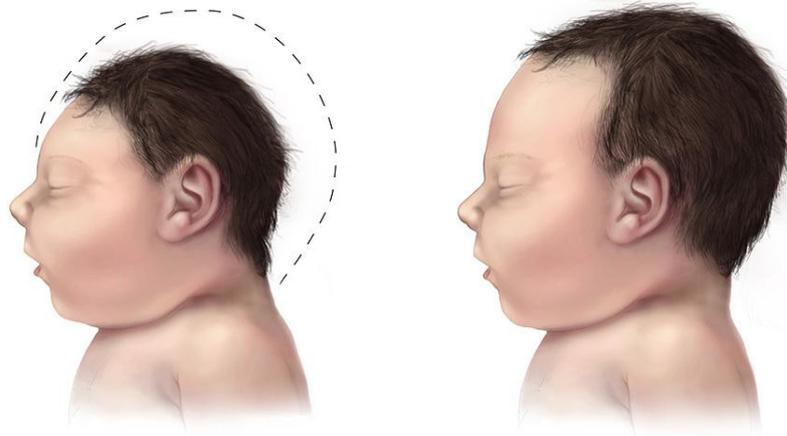
O ácido acetilsalicílico e outras drogas anti-inflamatórias são contra-indicados. Essa recomendação é por conta da dificuldade em realizar o diagnóstico clínico diferencial em relação a dengue. Um diagnóstico equivocado associado induzir o profissional de saúde a utilizar dessas medicações na terapêutica do paciente e isso poderia aumentar o risco de complicações hemorrágicas (BRASIL, 2016).

### 1.2.9 Manifestações clínicas

Num primeiro momento o ZIKV foi classificado como causador de uma doença viral leve, com capacidade de baixo impacto, sem potencial de causar graves complicações e com uma taxa de hospitalização de pouca significância. Com o tempo o ZIKV começou a ser relacionada com importantes manifestações clínicas. A infecção foi relacionada a diversas malformações congênitas e síndromes neurológicas (PETERSEN et al., 2016).

No Brasil, o ZIKV se tornou alvo de grande preocupação pela comunidade médica ao ser relacionado com casos de bebês que nasceram com perímetro significativamente menor do arcabouço craniano (Figura 04). A microcefalia é uma má formação congênita em que o cérebro não tem o seu desenvolvimento normal conforme calendário natural de desenvolvimento. Muitos fatores conhecidos podem contribuir para a ocorrência da microcefalia (VARGAS et al., 2016).

**Figura 4** - Ilustração de um bebê com microcefalia (à esquerda) e outro com tamanho da cabeça normal.



Fonte: (CDC - Centers for Disease Control and Prevention)

Entre eles podemos citar a exposição da gestante a alguns processos infecciosos como toxoplasmose, rubéola, citomegalovírus, herpes, sífilis – o chamado TORCHS (acrônimo para um grupo de doenças infecciosas capazes de causar doença em gestantes e malformações congênitas no feto), também o consumo de álcool, drogas ilícitas ou medicamentos teratogênicos, além do contato com substâncias químicas ou radiação ionizante e fatores genéticos e cromossômicos (VARGAS et al., 2016). No entanto, ao invés de se pensar em coincidências de fatores combinados com a infecção por ZIKV, a comunidade médica e científica soma a esses riscos, agora, a infecção causada pelo ZIKV durante a gestação como causa em definitivo de microcefalia. Pesquisas mostram que há a propagação do ZIKV no bebê humano pela via placentária, sexual ou perinatal (SOHLER et al., 2017).

Desta forma, as ações da vigilância epidemiológica têm monitorado esses casos no Brasil, por acompanhar gestantes e seus bebês, mas também na população em geral.

Outras manifestações clínicas foram observadas em pacientes infectados por ZIKV. Entre elas podemos citar a Síndrome de Guillain-Barré (doença autoimune desmielinizante que causa paralisia flácida aguda ou subaguda), complicações neurológicas como a encefalite e a meningoencefalite, parestesias, paralisia facial e mielite (CUNHA et al., 2016).

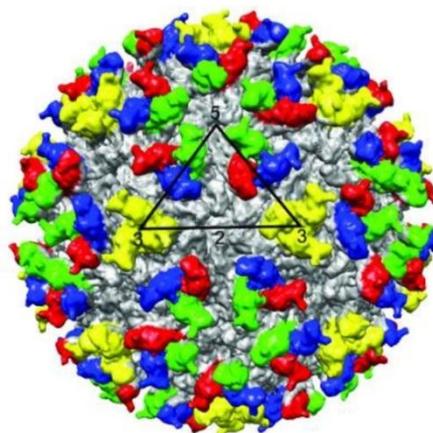
### 1.3 O vírus chikungunya

#### 1.3.1 Etiologia e características virais

O vírus Chikungunya (CHIKV) é envelopado e possui genoma RNA de cadeia simples de sentido positivo com aproximadamente 12 kb (VASCONCELLOS & SOUZA, 2019). Pertence ao gênero *Alphavirus* e à família *Togaviridae*. O vírus pode ser encontrado em todos os continentes e sua transmissão ocorre através da picada de insetos-vetores do gênero *Aedes* (CASTRO, 2016). Os primeiros relatos do vírus ocorreram na África e posteriormente na Ásia Oriental e na Índia, onde sua incidência passou a ser principalmente urbana, sendo transmitido pelos vetores *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (VAZEILLE et al., 2009).

O CHIKV tem partícula viral esférica, com cerca de 70nm de diâmetro, cercada por um envelope composto por bicamada lipídica (THIBERVILLE et al., 2013). A entrada do vírus nas células hospedeiras ocorre por endocitose e é controlada por duas glicoproteínas do envelope, E1 e E2. Os heterodímeros E2-E1 formam 80 espículas triméricas na superfície do vírus (LI et al., 2010) (Figura 05).

**Figura 5** – Imagem das proteínas estruturais de um alfavírus, o vírus Sindbis. As quatro moléculas E2 são coloridas em vermelho, verde, azul e amarelo. Elas dão origem a uma spike trimérica representada pelo triângulo preto. Já as moléculas E1 estão coloridas em cinza na imagem.



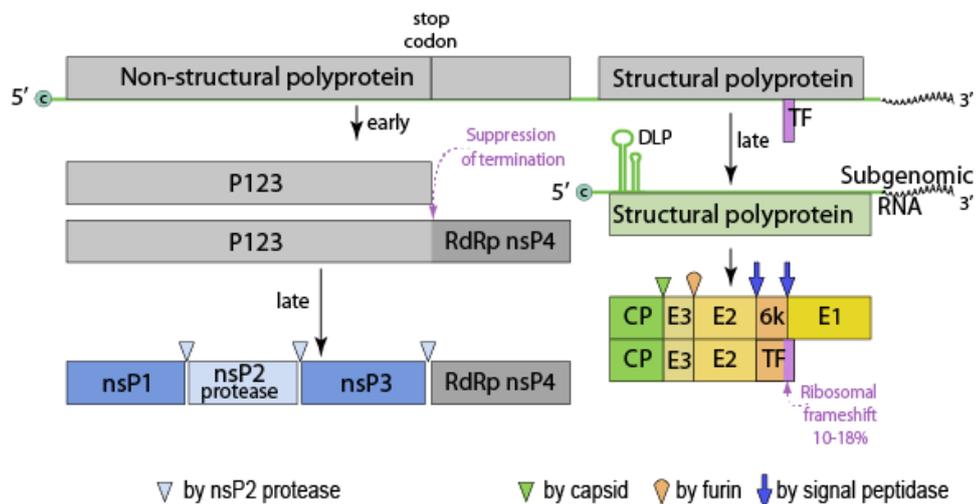
Fonte: Adaptado de LI et al. (2010).

Os vírions do CHIKV contêm um genoma de RNA de fita simples de sentido positivo de 11,8 kb, que codifica duas ORFs que são então processadas nas proteínas virais individuais. A partir da extremidade 5', o RNA genômico gera uma poliproteína através do comprimento total do genoma codificando as proteínas não-estruturais nsP1, nsP2, nsP3 e nsP4. E a partir da extremidade 3' do genoma são codificadas as proteínas estruturais denominadas: proteínas do capsídeo (C), proteínas do envelope (E1 e E2) e dois peptídeos (E3 e 6K) (SCHWARTZ & ALBERT, 2010).

### 1.3.2 Replicação

Após o indivíduo ser picado pelo vetor, o CHIKV penetra na corrente sanguínea. A infecção pode ocorrer em diferentes células, entre elas as células epiteliais, endoteliais, fibroblastos primários e macrófagos derivados de monócitos. Assim como outros alfavírus, o CHIKV tem a capacidade de infectar uma grande variedade de células, tecidos e espécies. Este amplo tropismo de hospedeiro e células indica que o CHIKV usa um receptor expresso de forma ubíqua para infectar as células (SCHNIERLE, 2019).

**Figura 6** - Expressão dos genes dos Alphavirus



Fonte: ViralZone.

Após a penetração, o RNA viral é liberado para o interior da célula hospedeira e traduzido para formar quatro proteínas (nsP1, nsP2, nsP3 e nsP4) que irão atuar no processo de replicação viral. No citoplasma, as proteínas estruturais produzidas pelo RNA subgenômico (Figura 06), se associam para formar o nucleocapsídeo que incorpora o RNA

genômico no decorrer do processo de maturação. Após isso, no complexo de Golgi são realizadas mudanças pós-traducionais para formar o heterodímero E1-E2. As proteínas são destinadas para a membrana celular da célula hospedeira onde o virion é liberado por processo de brotação (SCHWARTZ & ALBERT, 2010).

### 1.3.3 Linhagens

A propagação do CHIKV por todo o globo terrestre deve-se, principalmente, à fatores como a adaptação do mosquito a climas mais frios, ampliando sua distribuição geográfica, e adaptações genéticas do vírus, o que levou ao aumento da sua infectividade e disseminação (DUARTE et al, 2016). O CHIKV quatro linhagens geneticamente distintas: Oeste Africano, Leste-Centro-Sul Africano (ECSA), Asiático e Oceano Índico (IOL) (AZEVEDO et al., 2015), sendo duas delas, a linhagem asiática e a linhagem da África do Leste, Central e do Sul (ECSA), presentes no Brasil (HIGGS & VANLANDINGHAM, 2015). Os primeiros casos confirmados de infecção autóctone foram notificados em setembro de 2014 em Oiapoque, Região Norte do Brasil, e em Feira de Santana, Região Nordeste do Brasil (NUNES, et al., 2015).

### 1.3.4 Histórico da febre chikungunya

O CHIKV foi identificado pela primeira vez em 1952 na Tanzânia conforme Relatório da OMS. Desse período em diante ele tem se espalhado num volume de transmissão considerável (OMS, 2016). Entre os anos 1950 e os anos 2000, o CHIKV causou inúmeros focos de infecção, principalmente na África, Ásia e regiões do Pacífico (DUARTE et al, 2016). O nome deriva da língua “*maconde*” e significa "contorcer-se" ou “aquele que se curva” (OMS, 2016).

Em 2010, foram diagnosticados os primeiros casos de infecção por CHIKV no Brasil em três pacientes que haviam viajado para a Indonésia e para a Índia. No entanto, não existiam relatos da circulação do vírus no país. O primeiro caso autóctone da doença foi confirmado em 2014 (NUNES et al., 2015).

### 1.3.5 Epidemiologia

A grande parte das notificações da doença é no continente africano e na Ásia. No entanto, do ano 2000 em diante, foi observado registros de surtos na Europa e na América. Em 2014 ocorreram mais de um milhão de casos suspeitos (OMS, 2016).

O risco de morte é de cerca de 1 paciente a cada 1,000 infectados e não é, portanto, a maior preocupação no que se refere a doença. A maior preocupação é o quadro incapacitante que ela causa e que pode ter duração variável e imprevisível. Alguns pacientes sentem os efeitos da febre chikungunya durante sua fase aguda, ou seja, enquanto a doença continua ativa no organismo. No entanto, muitos pacientes têm apresentado sequelas que duram semanas em alguns casos, mas que há registros de em alguns pacientes durar anos e até se tornarem crônicas (CAGLIOTI et al., 2013).

Em 2016, foram notificados 64.349 casos de chikungunya até a Semana Epidemiológica 16 (3/1/2016 a 23/4/2016), destes, 11.182 foram confirmados (BRASIL, 2016). Entre 2014 e 2019, foram notificados 589.076 casos prováveis e 495 óbitos confirmados por laboratório, sendo 2016 e 2017 os anos com maiores coeficientes de incidência, 114,0 e 89,4 casos por 100 mil habitantes, respectivamente (BRASIL, 2019).

O ano da maior epidemia de CHIKV no Tocantins foi em 2017, chegando a 3.169 casos prováveis. Já em 2019, foram registrados 248 casos prováveis que representam uma queda de 5,5% em comparação aos 262 casos ocorridos em 2018. Um total de 85% dos registros notificados por CHIKV foram descartados. A dificuldade no diagnóstico precoce da infecção viral se dá pelos sintomas iniciais semelhantes que essa doença tem com outras arboviroses como a dengue e a Zika (TOCANTINS, 2020).

### 1.3.6 Diagnóstico laboratorial

O CHIKV pode ser isolado do sangue nos primeiros dias da infecção. Amostras coletadas nessa fase podem ser analisadas por técnicas sorológicas e virológicas (especificamente, RT-PCR). Os resultados da análise por RT-PCR de amostras clínicas também podem ser usados para genotipar o vírus e comparar amostras de diferentes origens geográficas. Também podem ser utilizados métodos para diagnosticar a infecção entre três e cinco semanas. Testes sorológicos, como o ensaio imunoenzimático (ELISA), podem confirmar a presença de anticorpos IgM e IgG contra o vírus. Os níveis mais elevados de IgM

são detectados entre três e cinco semanas após o início da doença e persistem por cerca de dois meses (WHO, 2019).

### 1.3.7 Patogênese

Após a etapa inicial da infecção e a replicação em células epiteliais e fibroblastos dérmicos, o CHIKV atinge órgãos como o fígado, músculos, articulações, baço, linfonodos e cérebro (KAM et al., 2009). A viremia está intimamente relacionada as manifestações clínicas do indivíduo infectado. Os sintomas clínicos refletem a carga viral e a resposta de defesa inata do organismo. No período inicial, que dura cerca de 4 dias, o organismo hospedeiro responde com a produção de citocinas pró-inflamatórias. Essa primeira fase, denominada aguda, está ligada à viremia, ou seja, os sintomas clínicos observados estão diretamente relacionados a carga viral a qual o paciente foi infectado e a reação imediata do sistema imunológico. É possível confirmar isso pelos elevados níveis de citocinas pro-inflamatórias tais como alfa-interferon e IL-6, IL-1Ra, IL-12, IL-15, IP-10 e MCP-1. Como sinal clínico o paciente apresenta um quadro algíco elevado (CHOW et al., 2011).

Após esse período inicial observa-se uma rápida redução da viremia e também do quadro de dores articulares do paciente. A partir daí começa a fase de convalescença em que os pacientes não apresentam mais os sintomas. Estudos demonstram que cerca de 40% dos pacientes mantem sinais clínicos durante esse período de convalescença e até depois dele, caracterizando assim a forma crônica da doença (CASTRO et al., 2016).

### 1.3.8 Tratamento

Não foi desenvolvido um antiviral específico para tratar a febre chikungunya. O manejo clínico se concentra principalmente no alívio dos sintomas, incluindo dores nas articulações (com antipiréticos e analgésicos adequados), bem como na administração de fluidos e repouso ao paciente (WHO, 2019).

Para aliviar a dor e reduzir a febre, recomenda-se o uso de medicamentos como o paracetamol. Dada a semelhança entre os sintomas da infecção por CHIKV e DENV, os pacientes com febre chikungunya não confirmada, não devem tomar aspirina ou anti-inflamatórios não esteroides em áreas onde ambos os vírus circulam, até que o diagnóstico de CHIKV seja descartado, uma vez que, esses medicamentos podem aumentar o risco de sangramento em pacientes com DENV (WHO, 2019).

Ainda não há vacinas aprovadas para comercialização para combate a infecção pelo CHIKV. Até meados de 2020 vários projetos de desenvolvimento de vacinas estão em curso, algumas das quais estão em vários estágios de ensaios clínicos e desenvolvimento (GOYAL et al., 2018).

### 1.3.9 Manifestações clínicas

Os sintomas da febre chikungunya são de forma geral os mesmos de uma infecção de baixa virulência quando falamos em casos de pacientes adultos. Nesse respeito, pode-se destacar a dificuldade para diagnóstico mediante análise clínica. Entre os sintomas iniciais podemos destacar febre acima de 39 °C, de início súbito e repentino, quadro algico intenso nas articulações de membros superiores e inferiores (mais comuns em pés e mãos, dedos, tornozelos e pulsos), cefaleia, mialgias e manchas vermelhas na pele. É uma doença febril aguda associada a dor intensa e frequente poliartralgia debilitante. Diferentemente do quadro comum de doença viral transmitida pelos mesmos mosquitos vetores, uma porcentagem significativa dos pacientes infectados pode desenvolver a forma crônica transitória da doença (CASTRO et al., 2016).

Entre os principais achados crônicos podemos citar neuropatias periféricas, motora e compressiva que pode ser a causadora do quadro algico e parestesia (CHOW et al., 2011). Um estudo realizado na Ásia que avaliou a evolução de pacientes portadores de CHIKV constatou por meio de exames laboratoriais um quadro de leucopenia, trombocitopenia, neutropenia e anormalidade do perfil hepático em muitos pacientes (THIBERVILLE et al., 2004).

## 1.4 RT-qPCR

A PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) provocou uma revolução no que diz respeito a análise quantitativa de DNA e RNA. Nos últimos anos a técnica descoberta na década de 80 por Kary Mullis evoluiu rapidamente e a aplicação da PCR em larga escala favoreceu que a reação fosse feita em tempo real (quantitativa), também conhecida como qPCR. Basicamente ela consiste em detectar e quantificar a fluorescência que é emitida no momento de cada ciclo da reação de PCR. Também é importante a sensibilidade de detectar poucas cópias de RNA (no caso de testes virais) e amplificar os resultados a cada ciclo percorrido. Inicialmente é necessário realizar a sua conversão para DNA complementar

(cDNA) antes com reagentes específicos, etapa conhecida como transcrição reversa (RT). Portanto, a PCR que utiliza o RNA como molde é conhecida como RT-qPCR. Durante a amplificação, um software vai desenhando em tempo real um gráfico que faz a relação entre os ciclos de termociclagem com a intensidade de luz fluorescente emitida durante a amplificação do DNA nas amostras, ciclo a ciclo. Para cada amostra testada uma linha é apresentada no gráfico. Conforme a amplificação vai acontecendo, se há material genético pesquisado, a fluorescência faz com que a linha se destaque começando uma fase exponencial (KUBISTA et al., 2006).

Quando a linha ultrapassa certo ponto pré-determinado do gráfico (CT - “Cycle Threshold”) é possível confirmar que na amostra há material genético desejado ou não. O Ct é proporcional ao logaritmo da quantidade inicial de expressão do gene-alvo em uma determinada amostra, quanto menor for o número inicial do Ct obtido do gene-alvo na amostra, é porque houve maior amplificação do gene-alvo e, conseqüentemente, ele apresenta maior expressão (KUBISTA et al., 2006).

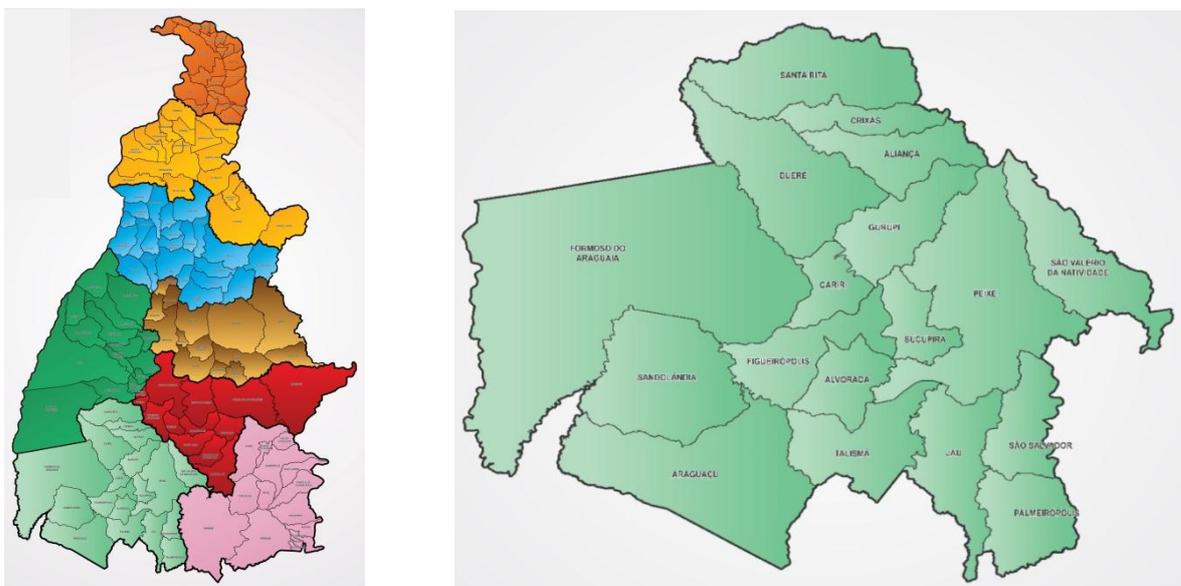
## 2 O ESTADO DO TOCANTINS

O Estado do Tocantins é o mais novo Estado da Federação. Uma área territorial de 277.720,520 km<sup>2</sup> é distribuída entre 139 municípios. Atualmente com cerca de 1,6 milhão de habitantes e sendo o quarto estado mais populoso da Região Norte, embora possua um dos mais baixos índices de densidade demográfica no país, cerca de 5,58 habitantes por quilômetro quadrado.

O Governo do Estado do Tocantins adota um modelo de divisão geográfica denominada “Região de Saúde” em que um grupo de cidades vizinhas tem como referência uma unidade hospitalar de médio ou grande porte. Dessa forma todos os 139 municípios do Estado podem ter a gestão da saúde básica e de complexidade administrada dentro da sua própria microrregião.

Segundo a Secretaria de Estado da Saúde, a regionalização é um dos princípios que orientam a organização do Sistema Único da Saúde (SUS), definidos pela Constituição Federal de 1988 e pela Lei 8080/90, e constitui um dos seus eixos estruturantes. A Regionalização da Saúde é ainda entendida como um “processo de organização das ações e serviços de saúde numa determinada região, visando à universalidade do acesso, a equidade, a integralidade e resolutividade”.

**Figura 7** - Mapa Geográfico do Estado do Tocantins e limites de Municípios com indicativo de cores de cada Região de Saúde a que pertence (à esquerda). Região de Saúde Ilha do Bananal (à direita)



Fonte: Governo do Estado do Tocantins – SESAU

O Estado do Tocantins é, atualmente, dividido em duas macro-regiões: Macro-região Sul e Macro-região Norte. Pertencente a macro-região Norte estão as regiões de saúde, são elas: Região de Saúde Bico do Papagaio, Região de Saúde Médio Norte Araguaia e Região de Saúde Cerrado Tocantins Araguaia. Essas são responsáveis por 64 municípios do Estado. Na Macro-região Sul estão 5 regiões de saúde: Região de Saúde Cantão, Região de Saúde Capim Dourado, Região de Saúde Amor Perfeito, Região de Saúde Ilha do Bananal e Região de Saúde Sudeste (Figura 07).

Esses municípios que compõem cada região de Saúde têm como referência uma unidade hospitalar estadual, geralmente de porte 3 de complexidade, que fica responsável pela continuidade do atendimento da atenção básica para a atenção especializada e casos de urgência e emergência.

O projeto teve como objetivo as cidades da Região de Saúde Ilha do Bananal no Sul do Estado do Tocantins. O Governo do Estado do Tocantins designa 18 cidades como pertencentes a essa Região de Saúde, sendo que destas, 13 apareceram na pesquisa e acrescentamos uma região geográfica com suas particularidades que são as “Aldeias Indígenas” que não se caracterizam como cidades e nem como Região Rural. Estima-se que o Hospital Regional de Gurupi é referência para uma população de cerca de 230 mil habitantes correspondendo a cerca de 15% de toda a população do Estado.

### 3 JUSTIFICATIVA

Nos últimos anos, houve o aumento exponencial dos casos de doenças causadas por arboviroses e o aumento no número de vítimas fatais. Como exemplo, entre 2011 e 2015 as Américas atingiram a mesma quantidade de casos que havia registrado entre os anos 2000 a 2011, ou seja, se levou metade de tempo para que houvesse a ocorrência da mesma quantidade de casos (WHO, 2012; GUZMAN & HARRIS, 2015). O nosso país acompanha a mesma proporção alarmante e apresentando evidências claras de limitações das atuais estratégias de prevenção da doença.

Tendo isso em vista, perseverar em monitorar os dados de prevalência e traçar um status de como as arboviroses estão se espalhando é um esforço que deve ser feito em simultaneidade com a elaboração séria de estratégias de diagnóstico e combate das arboviroses. Muitas tecnologias estão sendo desenvolvidas nos últimos anos, envolvendo formas mais eficientes de controle do vetor e o desenvolvimento de vacinas (BALDACCHINO et al., 2015).

Estudos de soroprevalência são importantes ferramentas para melhor se compreender o impacto de doenças em determinada população (IMAI et al., 2015). Essa modalidade de estudo também contribui para que novos elementos sejam apresentados para a elaboração de estratégias e tomadas de decisões frente à situação real desenvolvida em cada região, além de tornar possível levantar discussões a respeito de problemas administrativos que podem interferir na fidedignidade dos dados, como a subnotificação e a dificuldade em diagnósticos fechados baseados em resultados clínicos.

O teste sorológico aplicado nesse estudo apresenta um grande avanço em saber, com maior precisão, se o paciente foi realmente afetado por uma arbovirose e qual delas foi. Esse dado ainda é um desafio para equipes médicas nos atendimentos de urgência e emergência, que, na maioria das vezes, precisam iniciar um tratamento se baseando somente em evidências e conjunto de sinais.

## **4 OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo geral**

- Determinar a incidência das três principais arboviroses através da amostragem de soros de pacientes do Hospital Regional de Gurupi, localizado na Região Sul do Estado de Tocantins.

### **4.2 Objetivos específicos**

- Detectar presença de anticorpos relacionados ao vírus da Dengue, Zika e Chikungunya;
- Comparar os índices de incidência com outras regiões brasileiras;
- Traçar o perfil dos pacientes soropositivos;
- Realizar a RT-qPCR para detecção de ZIKV.

## **5 MATERIAS E MÉTODOS**

### **5.1 Delineamento e local do estudo**

Este estudo é um estudo transversal para determinação da prevalência de DENV, ZIKV e CHIKV em pacientes atendidos no Hospital de Referência de Gurupi, situado na Região de Saúde Ilha do Bananal do Estado do Tocantins.

Foram incluídos nesse estudo pacientes adultos atendidos no Hospital Regional de Gurupi, por qualquer que seja o motivo e que concordaram em participar do estudo, por meio de TCLE assinada foi solicitada a permissão para notação de dados pessoais (idade, sexo, região em que reside – urbana/rural) e clínicos (sintomas relacionados aos vírus da Dengue, Zika ou Chikungunya). Um grupo aleatório de 180 pacientes que deram entrada no Pronto Socorro Adulto do Hospital Regional de Gurupi, entre os meses março de 2019 e julho de 2020, tiveram seus dados coletados para alimentação de dados do perfil sociodemográfico e estes mesmos pacientes tiveram suas amostras sanguíneas testadas. Foram coletadas amostras de sangue (1 a 2 ml) da maioria dos pacientes participantes do estudo. Alguns não puderam ter suas amostras extras realizadas e armazenadas em soroteca, somente as necessárias para o teste rápido, devido a contraindicações no tratamento de doenças em curso que motivaram sua internação. Como exemplo, pacientes que tinham contraindicação devido a problemas de saúde relacionados a volemia e coagulação não tiveram suas amostras armazenadas em soroteca, somente fizeram o teste sorológico.

### **5.2 Período do estudo**

O estudo foi realizado entre Março de 2019 e Julho de 2020. Sendo que 30% dos testes foram realizados entre Março de 2019 e Novembro de 2019, 50% dos testes foram realizados entre Dezembro de 2019 e Fevereiro de 2020 (coincidindo com período de aumento de casos de infecções por arboviroses) e 20% no período entre Março de 2020 e Julho de 2020.

### **5.3 Aspectos éticos**

Cuidados foram tomados para garantia da confidencialidade das informações fornecidas pelos participantes do estudo. Os objetivos dos estudos, seus procedimentos, os riscos e benefícios de participação foram apresentados de maneira clara e objetiva.

Projeto de Pesquisa aprovado por Comitê de Ética, conforme apreciação por meio da Plataforma Brasil, sob o CAAE: 21010719.7.0000.5519 (Número do Parecer: 4.759.540), de acordo com as diretrizes da Resolução Conselho Nacional de Saúde Nº 466/2012.

Em havendo interesse e confirmação da participação do participante por meio de Convite, o mesmo foi solicitado a assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (ANEXO 1), em duas vias, ficando uma delas em poder do voluntário ou de sua família.

#### **5.4 Coleta de amostra sanguíneas e armazenamento em soroteca**

Foram realizadas duas coletas.

1º - Cento e oitenta amostras de sangue em pacientes adultos com diferentes idades oriundos dos municípios da região sul do estado do Tocantins. A coleta das amostras para os exames foi por punção venosa. As amostras para teste sorológico foram coletadas conforme instruções expressas no Kit TR DPP para ZIKV, CHIKV e DENV, IgM/IgG escolhido para a pesquisa utilizando os materiais inclusos no Kit (Figura 08).

2ª - Após a realização do teste sorológico, uma punção foi realizada em pacientes que se mostravam aptos para o procedimento, e foi retirada a quantidade variável entre 1 e 2 ml de sangue que seria armazenado em soroteca para futuros testes de material biológico. O tubo de ensaio heparinizado era utilizado para evitar a coagulação sanguínea. O material posteriormente foi armazenado a -20°C para conservação. Cerca de 44 pacientes não puderam ter seu sangue coletado devido a recomendações médicas que contraindicaram a punção durante o tratamento de doença-base (tratamento que motivou a internação hospitalar). Entre esses casos haviam pacientes com distúrbios volêmicos, riscos de trombose entre outras alterações sistêmicas em que a coleta poderia causar agravamento da evolução clínica. Portanto a soroteca é composta de apenas 136 amostras de sangue.

#### **5.5 Testes sorológicos**

O teste sorológico foi realizado através da metodologia duplo percurso ou dupla migração. possui vantagens adicionais aos testes rápidos tradicionais: utilizando apenas uma amostra é possível realizar duas reações independentes simultaneamente. Esse paralelismo permite a detecção diferenciada de anticorpos de IgM e IgG, a partir da mesma amostra.

Embora no mercado nacional muitos testes na forma de kits possam ser adquiridos, aqui nesse trabalho, foi iniciada uma colaboração inédita entre a UFT e o Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos (Bio-Manguinhos), uma unidade da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) no Rio de Janeiro. O Prof. Dr. Edmilson, gentilmente disponibilizou 180 unidades do Kit TR DPP para ZIKV, CHIKV e DENV, IgM/IgG (Figura 08).

O Kit TR DPP para ZIKV, CHIKV e DENV, IgM/IgG é um teste imunocromatográfico numa plataforma de duplo percurso. A tecnologia empregada nesse teste é uma evolução do teste rápido de fluxo lateral e consiste em um duplo teste de duplo percurso. Esta evolução tecnológica garante a ampliação dos níveis de sensibilidade e especificidade ao separar o processo de ligação antígeno-anticorpo do processo de revelação. Uma grande vantagem é a leitura eletrônica do resultado por meio de um equipamento de pequeno porte chamado micro-leitor. Esse paralelismo permite a detecção diferenciada de IgM e IgG, a partir da mesma amostra.

**Figura 8** - Kit Teste Rápido DPP para ZIKV, CHIKV e DENV, IgM/IgG desenvolvido em 2019 pelo Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos (Bio-Manguinhos) uma unidade da Fundação Oswaldo Cruz.



Fonte: ITI - Bio-Manguinhos (2019)

Os procedimentos para realização do exame sorológico foram realizados seguindo todas as instruções descritas pelo do fabricante.

Na última etapa do teste, após o período de 15 a 20 minutos percorridos, a placa teste era posicionada em suporte de leitura e o leitor digital DPP era posicionado. A leitura IgM era realizada antes da leitura IgG. O leitor DPP, após validação sonora por meio de contato com cartão magnético que acompanha o KIT, fazia a leitura de cada um dos valores para “IgM DENV, ZIKV e CHIKV” e “IgG DENV, ZIKV e CHIKV” e um número de referência era apresentado no visor do Leitor DPP e anotado se utilizando de tabela exemplo conforme mostrado abaixo (TABELA 01).

**Tabela 1** - Tabela Modelo de anotações dos dados obtidos após testes sorológicos

	<b>DENV</b>	<b>ZIKV</b>	<b>CHIKV</b>
<b>IgM</b>	X	2X	3X
<b>IgG</b>	X	2X	3X

Fonte: Próprio Autor

## 5.6 As possibilidades de resultados do teste

Três possibilidades de resultados podiam ser obtidas após a leitura dos resultados: Não Reagente, Reagente ou Indeterminado. O resultado Não Reagente sugere a ausência de anticorpos na amostra analisada. Quando o valor numérico menor ou igual a 18 era apresentado pelo Leitor DPP o resultado era fechado como Não Reagente, obtendo, portanto, os seguintes resultados possíveis: DIgM, ZIgM e CIgM < 18 e também DIgG, ZIgG e CIgG < 18. Nos casos em que o valor numérico maior ou igual a 22 era apresentado pelo Leitor DPP o resultado era definido como Reagente obtendo, portanto, os seguintes resultados possíveis: DIgM, ZIgM e CIgM > 22 e também DIgG, ZIgG e CIgG > 22. Alguns casos poderiam ser classificados como Indeterminados. Isso ocorria em casos em que o valor numérico maior que 18 e menor que 22 era apresentado pelo Leitor DPP, ou seja, resultados Indeterminados apresentavam DIgM, ZIgM e CIgM > 18 e < 22 e também DIgG, ZIgG e CIgG > 18 e < 22.

## 5.7 RT-qPCR

Após o teste rápido ser aplicado, 58,1% (50/86) das amostras sorologicamente positivas para ZIKV foram submetidas a RT-qPCR para confirmação do resultado. Brevemente, o RNA total das amostras de soros foi extraído utilizando o reagente Trizol (Invitrogen) conforme as instruções do fabricante. Após esse procedimento, 5 µl de RNA foi submetido à conversão em cDNA em uma reação de volume final de 20 µl usando e seguindo as orientações do kit GoTaq® 1 Step qPCR (Promega®). Para a amplificação do RNA viral foram utilizados primers e sonda Taq-Man descritos por Lanciotti et al. (2008) específicos para ZIKV (Tabela 02) no equipamento QuantStudio™ 5 (Thermofisher) (Figura 09). Como controle interno intratubo, foi utilizado o gene housekeeping RNase-P humano (conforme os primers descritos por MISHRA et al., 2019, Tabela 02).

**Figura 9** – Sistema de PCR em tempo real QuantStudio 5 Dx.



Fonte: Therme Fisher Scientific

**Tabela 2** – Primers utilizados para RT-qPCR para ZIKV

Primer	Posição no genoma ou gene alvo	Sequencia (5' → 3')
ZIKV_1086	1086-1102	CCGCTGCCCAACACAAG
ZIKV_1107-FAM	1107-1137	AGCCTACCTTGACAAGCAGTCAGACTCAA
ZIKV_1162c	1162-1139	CCACTAACGTTCTTTTGCAGACAT
RNASE-P-QF	RPP30	AGATTTGGACCTGCGAGCG
RNASE-P-QR	RPP30	GAGCGGCTGTCTCCACAAGT
RNASE-P-Probe.Q705	RPP30	TTCTGACCTGAAGGCTCTGCGCG

Fonte: LANCIOTTI et al. (2008).

As condições de ciclagem foram 50°C for 20 min, 95°C for 5 min, e depois 40 ciclos de 95°C por 15 s e 60°C por 45 s em uma reação de 25 µl. Após a amplificação, foram consideradas positivas as amostras que obtiveram valores de Ct inferior ou igual a 38.

### 5.8 Análise estatística

A análise dos resultados foi realizada através de cálculos de porcentagem simples, levando em consideração o grupo total e parte dele conforme o dado pesquisado. O número de amostra foi calculado conforme o cálculo a seguir, considerando uma população finita de 230 mil habitantes e erro relativo de 20% (TABELA 03).

**Tabela 3 – Modelo de Análise Estatística**

Prevalência: 30%	Erro relativo: 20%
População: 230.000 habitantes	Coefficiente de confiança: 95%
O n amostral de 180 pacientes devem ser coletados.	

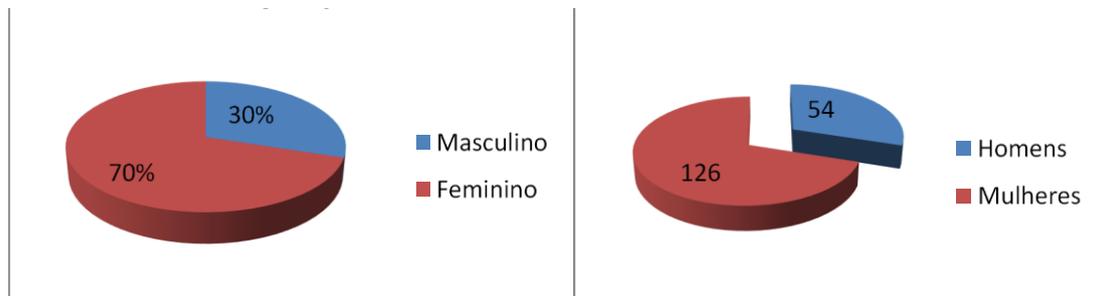
Fonte: Próprio Autor

## 6 RESULTADOS

### 6.1 Dados gerais

Participaram do inquérito soropidemiológico 180 pacientes, sendo 70% (n=126) do sexo feminino e 30% (n=54) do sexo masculino (Figura 10).

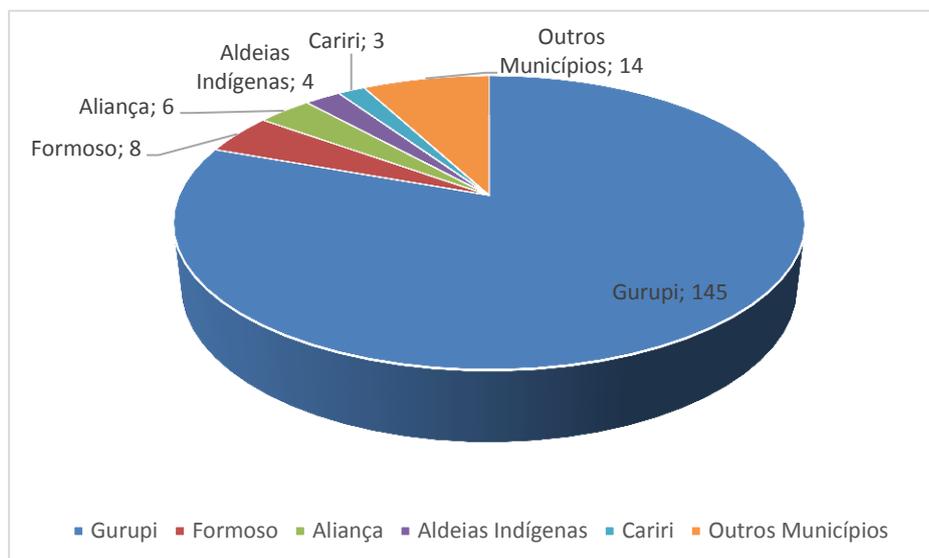
**Figura 10** - Gráfico de distribuição por gênero



Fonte: Próprio Autor

Os participantes que residem em território rural foram incluídos no número pertencente ao município a qual mora, sendo que 86,11% (n=155) dos participantes são residentes de área urbana, somente 12,22% (n=22) residem em área rural, dos 04 indígenas que participaram no estudo 03 (1,66%) residem em aldeias e 01 está incluso no número dos que residem em área urbana (Figura 11).

**Figura 11** - Gráfico de distribuição por cidade



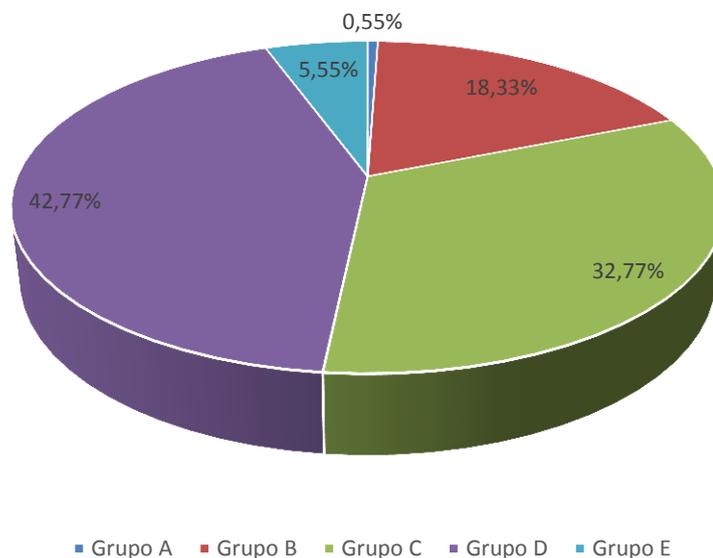
Fonte: Próprio Autor

A cidade de Gurupi teve a maior quantidade de pacientes pesquisados, 80,5% (n=145), ao passo que Formoso do Araguaia, distante 75 km do Hospital de Referência de Gurupi, teve a segunda maior quantidade de pacientes pesquisados, 4,44% (n=8). Aldeias Indígenas correspondem a 2,22% dos pesquisados (n=4).

Participaram do estudo indivíduos de diversas idades. Os participantes foram classificados em quatro grupos distintos: grupo A os que tinham 14 a 17 anos de idade, grupo B os indivíduos que tinham entre 18 a 29 anos de idade, grupo C os que tinham 30 a 39 anos de idade, indivíduos eram classificados no grupo D se tivessem entre 40 e 59 anos de idade e por fim, grupo E os que tinham 60 anos ou mais.

Dos 180 participantes, apenas 1 (0,55%) pertence ao grupo A (14 a 17 anos). Do grupo B (18 a 29 anos) participaram 18,33% (n=33). Os grupos de maiores abrangências foram os grupos C (30 a 39 anos) e D (40 a 59 anos) com 32,77% (n=59) e 42,77% (n=77) dos participantes respectivamente. E o Grupo E (60 anos ou mais) que corresponde a 5,55% (n=10) dos 180 participantes (Figura 12).

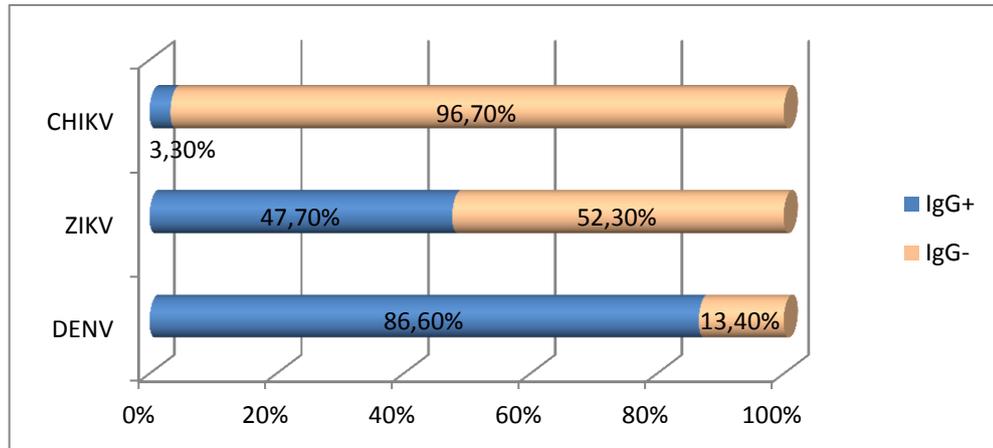
**Figura 12** - Gráfico de distribuição por idade



Fonte: Próprio Autor

Os resultados mostraram que 86,6% (156/180) foram IgG positivos para DENV e, portanto, estava infectados. Os testes para o ZIKV detectaram IgG em 47,7% (86/180) dos pacientes. Para CHIKV, 3,3% (6/180) dos pacientes apresentaram anticorpos IgG contra o vírus. (Figura 13).

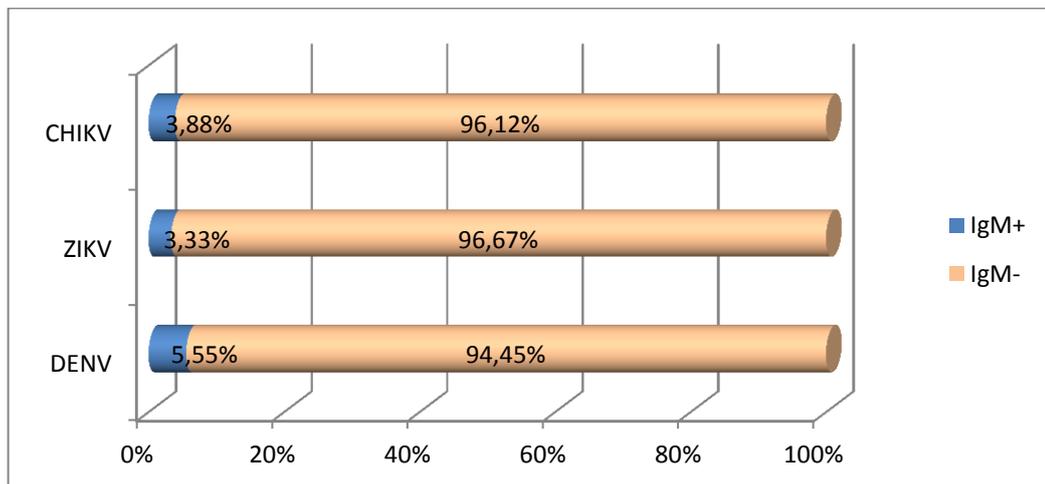
**Figura 13** - Gráfico de distribuição das amostras IgG positivas e negativas.



Fonte: Próprio Autor

Foi possível observar co-infecções de dois ou mais vírus nos participantes. O exemplo mais evidente foi observado em indivíduos em que os testes apontaram histórico de infecção para DENV e ZIKV. Além disso, 48,33% (87/180) apresentaram simultaneamente anticorpos contra DENV e ZIKV. Apenas 1 paciente apresentou IgG para as três arboviroses.

**Figura 14** - Gráfico de distribuição das amostras IgM positivas e negativas.



Fonte: Próprio Autor

Entre os pacientes que apontaram IgM positivo (Figura 14) foi possível observar que 5,55% (n=10) pacientes apresentaram anticorpos contra DENV, 3,33% (n=6) contra ZIKV e 3,88% (n=7) contra CHIKV. Entre esses pacientes, 03 apresentaram IgM positivo para DENV/CHIKV. Não foram detectadas infecções de DENV/ZIKV e nem ZIKV/CHIKV em curso.

## 6.2 RT-qPCR

Das 50 amostras sorologicamente positivas para ZIKV, 20% (10/50) foram positivas, conforme os valores de CT apresentados na tabela 04.

**Tabela 4** – CTs das amostras com resultados positivas para ZIKV

<b>Amostra</b>	<b>CT</b>
01	37,3
12	37,1
23	36,0
30	37,0
32	37,3
40	37,9
42	37,3
45	36,0
46	37,2
48	36,7
H <sub>2</sub> O	38,0
ZIKV+	17,6

Fonte: Próprio Autor

## 6.3 Questionário

A pesquisa também teve como objetivo dimensionar o nível do fator informacional do estado de saúde e histórico de infecções por arboviroses dos participantes. No questionário (ANEXO 2) preenchido com as informações descritas pelo paciente antes do teste sorológico ser realizado perguntávamos a cada um se já haviam adoecido alguma vez por conta de Dengue, Zika ou Chikungunya.

DENV: Ao serem questionados sobre infecções por DENV, 73,88% (133/180) afirmaram que tiveram Dengue pelo menos uma vez durante a vida. No entanto, destes 133 participantes, os testes sorológicos apontaram que 3 (2,25%) participantes nunca haviam sido infectados, ou seja, eles foram atendidos em unidades de saúde, diagnosticados como doentes por infecção por DENV e tratados dessa forma, no entanto a infecção havia sido por outra doença.

Além disso, 26,11% dos participantes (47/180) negaram terem sido acometidos por DENV. Desses 47 participantes, 17 (36,17%) tiveram resultado IgG positivos, ou seja, foram infectados pelo vírus durante a vida e não sabiam.

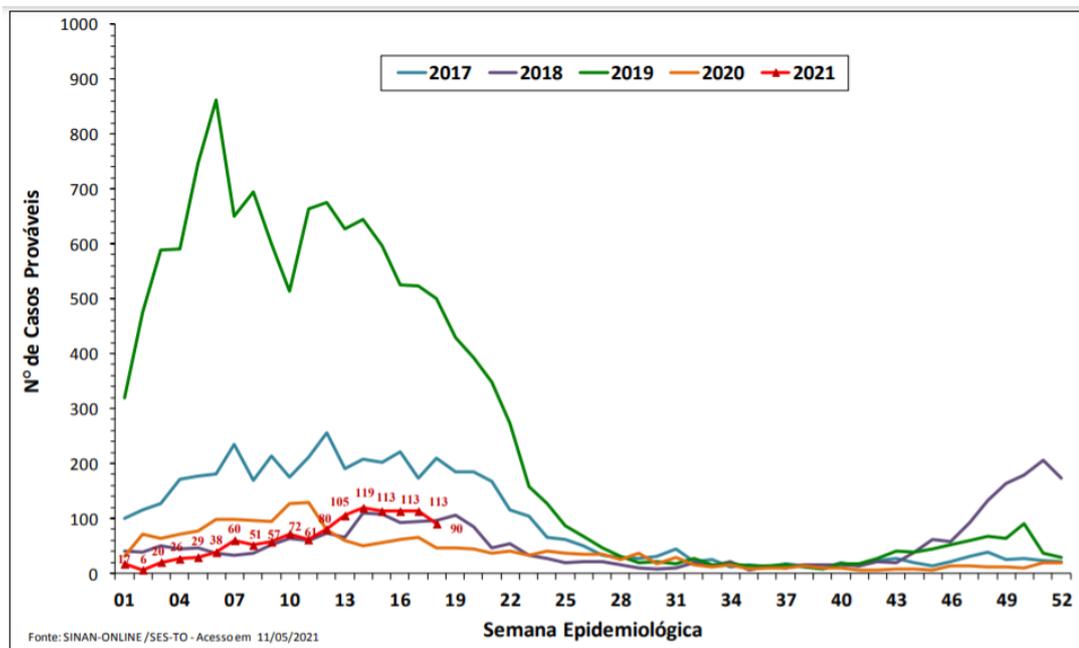
ZIKV: Dos 180 que participaram do estudo 4,44% (08/180) afirmaram terem ficado doentes por ZIKV e 172 participantes disseram que nunca tiveram o ZIKV. No entanto foi possível observar que 86 (50%) destes 172 que negaram terem ficado doentes por ZIKV tiveram seus resultados positivos. Ou seja, o resultado apontou IgG positivo, mas eles não sabiam que foram acometidos pela doença.

CHIKUNGUNYA: Dos 180 participantes nenhum afirmou ter tido Chikungunya, no entanto o resultado IgG apontou que seis (3,33%) participantes tinham anticorpos para a doença. Além disso, outros sete participantes apontaram resultado IgM positivo para CHIKV, ou seja, estavam com doença em curso e não tinham o diagnóstico.

## 7 DISCUSSÃO

Esse estudo apresentou a incidência de anticorpos contra DENV, ZIKV e CHIKV na região Sul do Estado do Tocantins. Os dados obtidos para o DENV seguiram a tendência nacional, conforme dados registrados por autoridades sanitárias. A primeira epidemia de Dengue no país ocorreu em 1980, portanto é um vírus que tem maior tempo de adaptação local visto que o ZIKV e CHIKV tem cerca de 5 anos que chegou ao Brasil. Foi possível observar que números de notificações registradas pelos órgãos governamentais de controle ocorreram nos últimos anos. Entretanto os índices ainda são altos para as três arboviroses, especialmente para infecções por DENV. Nessa discussão confrontamos dados informados pelo Governo Federal e Governo Estadual, ressaltamos “alertas” que foram dados e possíveis justificativas para números apresentados.

**Figura 15** - Casos prováveis de Dengue no Estado do Tocantins a cada semana epidemiológica entre os anos de 2017 e 2021



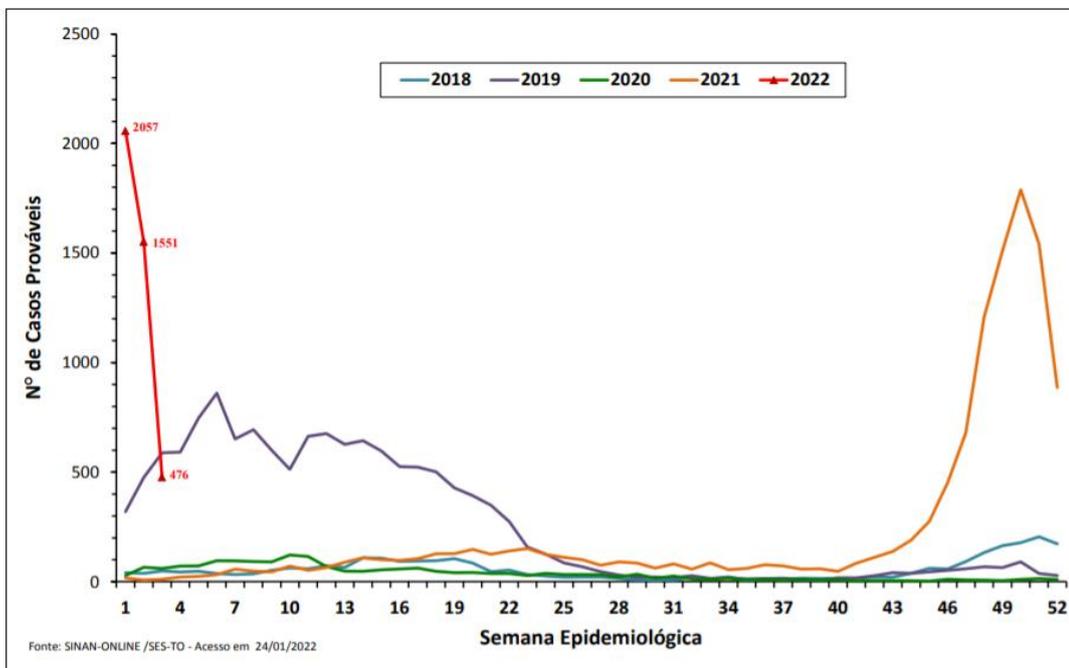
Fonte: TOCANTINS (2021).

Entre os anos de 2017 e 2021 houveram oscilações a cada ano na quantidade de notificações de infecções por DENV no Estado do Tocantins (Figura 15). Nas primeiras semanas epidemiológicas, nos anos de 2017 e 2019 o número de notificações foi alto. Essas semanas coincidem com épocas chuvosas na região, favorecendo a proliferação de vetores, consequentemente aumentando os casos de infecções. Entre o primeiro dia do ano e 30 de

dezembro de 2020, 88,5% (n=123) dos 139 municípios haviam notificado casos suspeitos de DENV. No entanto, o relatório da Secretaria de Estado de Saúde informa uma queda de 81,8% nos casos de Dengue em relação a 2019. Em 2020 foram notificados 5.525 casos com 03 óbitos por suspeita de Dengue grave (TOCANTINS, 2020). O ano de 2021 foi registrada uma queda ainda maior. Da semana 01 até a semana epidemiológica 18, um total 595 casos foram registrados. Em 2020, durante as mesmas semanas epidemiológicas, 1144 casos haviam sido confirmados, representando uma queda de 48% de um ano para o outro. Outro dado importante do Boletim Epidemiológico de 2021, foi a especificação do sorotipo circulante. Nas cidades de Araguaína, Lajeado, Gurupi e Palmas o sorotipo do DENV-1, em Araguaína e Colinas também foram encontrados o sorotipo do DENV-2. Foi feito o registro de uma morte em Gurupi-TO por infecção por DENV (TOCANTINS, 2021).

No entanto, conforme o Boletim Epidemiológico emitido em janeiro de 2022, o final do ano de 2021, a partir da semana epidemiológica 40, foi marcado por aumento significativo dos casos de DENV (Figura 16).

**Figura 16 - Casos prováveis de Dengue no Estado do Tocantins a cada semana epidemiológica entre os anos de 2018 e 2022**

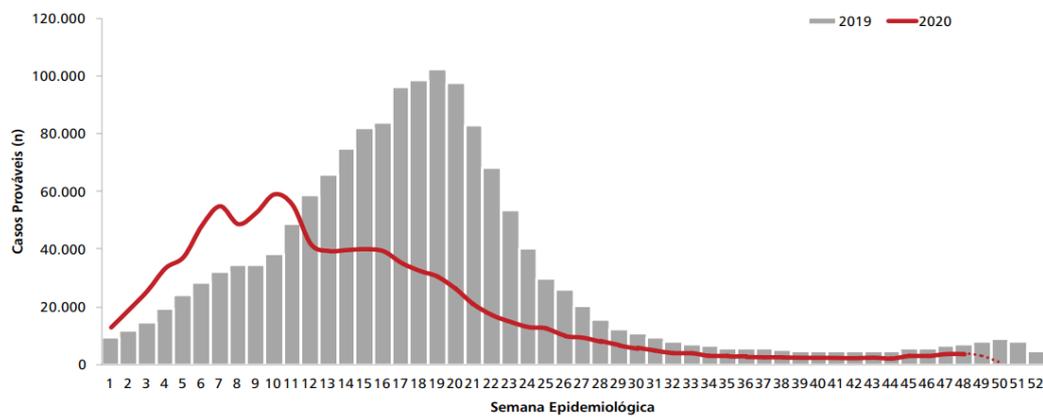


Fonte: TOCANTINS (2022).

Em 2022, o sorotipo DENV-1 foi encontrado na maioria dos municípios (25 municípios), o DENV-2 foi encontrado em 02 municípios. Houveram 03 óbitos (TOCANTINS, 2022).

Olhando para os dados nacionais, no Brasil, até a Semana Epidemiológica 50 (Semana 50 finalizou em 12 de dezembro de 2020) foram notificados 979.764 casos prováveis de dengue. A região Centro-Oeste foi a que apresentou o maior índice de casos por 100 mil habitantes, 1200 casos/100 mil habitantes. A região Norte, onde se localiza o Estado do Tocantins, apresentou a menor incidência entre todas as regiões do país, 120,7 casos/100 mil habitantes.

**Figura 17** – Comparativo entre casos de infecção por DENV entre os anos de 2019 e 2020 no Brasil



Fonte: BRASIL (2020a).

No comparativo entre o ano de 2019 e 2020 (Figura 17) o Brasil teve uma diminuição acentuada de notificações e confirmações em 2020 em relação ao ano anterior. Em 2019, foram notificados 1.544.987 casos prováveis de infecção por DENV, um aumento de 488% em relação a 2018 (BRASIL, 2020a). No entanto o Ministério da Saúde do Governo brasileiro alerta que esta redução pode ter ocorrido devido à mobilização que as equipes de vigilância epidemiológica estaduais estão realizando diante do enfrentamento da emergência da pandemia do coronavírus (COVID-19), o que pode estar ocasionando atraso ou subnotificação das arboviroses. Outro fator importante que pode estar associado ao contexto da pandemia é o receio da população de procurar atendimento em uma unidade de saúde (BRASIL, 2020b).

Esse estudo apresentou números que refletem bem a gravidade da situação enfrentada pela população no que diz respeito a infecção pelo DENV. Segundo os resultados (Figura 13) quase 9 (especificamente 8,6) em cada 10 adultos mostram anticorpos para o DENV.

No que diz respeito a infecção por ZIKV, o relatório de vigilância do Ministério da Saúde referente ao ano de 2019 informou que nenhuma região de saúde apresentou taxa de

incidência maior do que 100 casos/100.000 habitantes. Entretanto observa-se a dispersão do ZIKV em 353 (80,6%) regiões de saúde. Em sete regiões de saúde (1,6%), distribuídas nos estados do Tocantins, Rio Grande do Norte, Alagoas e Bahia observou-se incidência maior que 50 casos/100 mil habitantes (BRASIL, 2020b). Dados referentes à infecção por ZIKV no Estado do Tocantins, indicam que ocorreu uma diminuição acentuada de 88,2 % em comparação com ano de 2019, com 33 casos em 2020 em relação a 280 em 2019 (TOCANTINS, 2020b).

Sobre os dados de infecções por CHIKV, até a Semana Epidemiológica 50, foram notificados 80.914 casos prováveis (taxa de incidência de 38,5 casos por 100 mil habitantes) no país. As regiões Nordeste e Sudeste apresentam as maiores taxas de incidência, 102,2 casos/100 mil habitantes e 13,1 casos/100 mil habitantes, respectivamente (BRASIL, 2020a).

No Estado do Tocantins, o comparativo entre os anos de 2019 e 2020 mostram uma redução de quase 50% nos casos. Em 2019 foram notificados 181 casos de infecção por CHIKV e em 2020 foram 100 casos. Desses 100 casos notificados em 2020, somente 02 casos foram no território da Região de Saúde Ilha do Bananal, alvo desse estudo (TOCANTINS, 2020a).

Vale notar que há uma diferença nos números entre “casos notificados” e “casos confirmados”. Isso se dá por que o Brasil ainda não tem um sistema de gestão que permite diagnosticar as arboviroses aqui estudadas com eficiência e rapidez. Muitos casos são notificados como suspeitos e não são confirmados a posteriori, a fim de confirmar dados suspeitos.

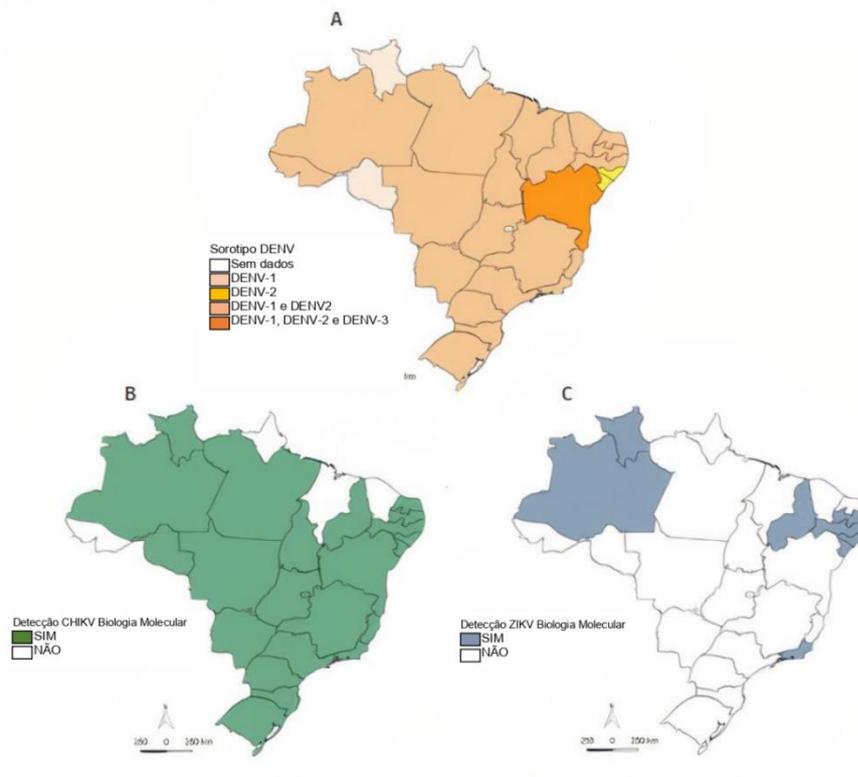
Um estudo realizado no Rio de Janeiro em 2018, teve como objetivo avaliar a prevalência sorológica de DENV, ZIKV e CHIKV numa amostra de 349 gestantes atendidas numa maternidade pública do Estado do Rio de Janeiro. Para isso utilizou-se testes comerciais de ELISA de diferentes fabricantes. Dentre os resultados, 88,8% apresentaram sorologia positiva para DENV, 47,2% para ZIKV e 28,4% para CHIKV. Ainda que alguns estudos demonstrem alta especificidade de ELISA revestido por antígeno NS1 de ZIKV utilizado, a possibilidade de reações cruzadas com DENV deve ser considerada. Em todo caso, os achados indicam um cenário de hiperendemicidade de dengue e um alcance significativo das recentes epidemias por ZIKV e CHIKV na Baixada Fluminense (WITTLIN, 2018).

Tanto o ELISA como a imunofluorescência detectam após 5 ou 6 dias após os primeiros sintomas, anticorpos IgM ou IgG específicos para os vírus (PAHO, 2019). No entanto, ambos quando utilizados para o diagnóstico de arboviroses, apesar de apresentarem alta sensibilidade, nem sempre conseguem indicar qual arbovirose está presente. Por exemplo,

em áreas em que há outras arboviroses circulantes é difícil ter o diagnóstico conclusivo de qual infecção está ocorrendo. Isso se dá por conta da reatividade cruzada. Conseqüentemente, esses exames podem gerar resultados falso-positivos (MUSSO & GUBLER, 2016; PLOURDE & BLOCH, 2016).

O teste que utilizamos para este estudo (Figura 08) identifica marcadores IgG e IgM para as três arboviroses estudadas através da reação de reagentes. Não descartamos a possibilidade haver reação cruzada e resultados falso-positivos. Por se tratar de um teste rápido de resultado em cerca de 20 minutos, ele pode se tornar de grande importância para o ambiente de atendimento hospitalar em que se precisa de resultados rápidos para início do manejo do paciente.

**Figura 18** - Distribuição espacial da identificação de sorotipos DENV (A), e detecção de CHIKV (B) e ZIKV (C), por métodos de biologia molecular, por UF, SE 1 a 44, 2021



Fonte: BRASIL (2021)

Dar atenção aos indicativos epidemiológicos se torna essencial para prever novas epidemias e estar preparado para elas. Nenhuma das arboviroses estudadas nesse trabalho estão erradicadas (Figura 18).

Os testes realizados por RT-qPCR mostraram efetivamente que havia material genético de ZIKV em parte das amostras sorologicamente positivas com o KIT Bio-Manguinhos. Das 50 amostras testadas positivas para ZIKV no teste-rápido, somente 20% efetivamente tinham material genético de ZIKV. No entanto, parte das amostras submetidas ao teste rápido apresentaram sorologicamente positivas para ambos os vírus DENV e ZIKV. Isso certamente está relacionado a questão dos vírus pertencerem a mesma família viral (*Flaviviridae*) e consequente dividirem epitopos antigênicos. Portanto, 40 amostras apresentaram reação cruzada o que pode representar um resultado falso-positivo para ZIKV, quando na verdade em positivas para DENV.

Alguns estudos mostram que a possibilidade de resultado sorológico equivocado é real. Dejnirattisai et al. (2016) mostrou inclusive que em indivíduos infectados por DENV foi observado resposta imunológica a infecção por ZIKV. Entretanto, essa resposta não constitui imunidade a uma infecção por já ter sido infectado por outra. O estudo observou uma complexa interação sorológica entre DENV e ZIKV e que embora o ZIKV seja diferente geneticamente do DENV em cerca de 41-46% da sequência da proteína do envelope, o restante das semelhanças é suficiente para permitir uma reação cruzada de anticorpos. Nesse contexto, devem ser utilizados diferentes métodos diagnósticos para o encaminhamento correto do tratamento de pacientes em clínicas e hospitais.

## 8 CONCLUSÕES

Concluimos que entre as infecções por arboviroses pelo DENV foi a mais comum na região sul do Tocantins entre os anos de 2019 e 2021, seguida pelo ZIKV. Números que apontam para diminuição expressiva da circulação do CHIKV devem ser analisados com cautela pois os índices ainda são altos.

Embora os resultados possam indicar uma alta prevalência para DENV e ZIKV no Tocantins, não podemos descartar a possibilidade de reação cruzada entre anticorpos detectados no teste rápido usado. A infecção por vírus semelhantes produz anticorpos semelhantes, tornando difícil para testes sorológicos identificarem qual o vírus presente, podendo ser detectado um resultado equivocado. Estes testes avaliam a resposta imune do organismo após o contato com vírus. A técnica utilizada por testes rápidos, imunocromatográfico, funciona de forma a gerar cor através da reação química que ocorre entre o antígeno e o anticorpo produzido. No caso do teste rápido utilizado, ele faz isso por meio de uma plataforma de duplo percurso.

Fechar diagnóstico com um resultado errado por meio desse modelo de testagem poderia ser desastroso. O equívoco geraria diversos transtornos no que diz respeito aos órgãos de vigilância terem dados confiáveis e equipes de profissionais de saúde aplicarem um plano de tratamento baseados em linhas terapêuticas divergentes ou não eficazes. Um diagnóstico equivocado de ZIKV para uma gestante que na verdade está contaminada por DENV seria um motivo de grande preocupação desnecessária.

Por outro lado, a utilização do teste molecular, como é o caso do RT-qPCR, seria a metodologia mais confiável para determinar se há infecção por arbovirose e qual delas está infectando o indivíduo. O teste molecular analisa o material genético do vírus e por isso é mais específico ao determinar o resultado, afastando a possibilidade de resultados falso-negativos e falso-positivos.

Além disso, a disponibilização de técnicas diagnósticas com maior precisão e que permite que o doente receba o tratamento específico para arbovirose que o acometeu se torna mais necessário. Essa precisão evitaria custos financeiros desnecessários ao sistema público de saúde, pois diminuiria o tempo de internação os pacientes e de uso indevido de insumos tratando de maneira equivocada.

## 9 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, PR; EHLERS, LP; DEMOLINER, M; EISEN, ANA; GIRARDI, V; LORENZO, C; BIANCHI, MV; MELLO, L; PAVARINI, SP; DRIEMEIER, D; SONNE, L; Detection of a novel African-lineage-like Zika virus naturally infecting free-living neotropical primates in Southern Brazil. **Bio Rxiv**. 2020. <https://doi.org/10.1101/828871>.

ALVAREZ, D.E; DE LELLA EZCURRA, A.L; FUCITO, S.; GAMARNIK, A.V. Role of RNA structures present at the 3'UTR of dengue virus on translation, RNA synthesis, and viral replication. **Virology**. 2005 Sep 1;339(2):200-12.

AZEVEDO, R.S.S.; OLIVEIRA, C.S.; VASCONCELOS, P.F.C. Risco do chikungunya para o Brasil. **Rev Saúde Pública** 2015, 49:58. DOI:10.1590/S0034-8910.2015049006219.

BALDACCHINO, F.; CAPUTO, B.; CHANDRE, F.; DRAGO, A.; DELLA TORRE, A.; MONTARSI, F.; RIZZOLI, A. Control methods against invasive Aedes mosquitoes in Europe: A review. **Pest Management Science**, v. 71, n. 11, p. 1471–1485, 2015.

BARRETO, M.L.; TEIXEIRA, M.G. Dengue no Brasil: situação epidemiológica e contribuições para uma agenda de pesquisa. **Estud. av.** v.22 n.64, São Paulo, Dez. 2008.

BEAVER, J.T.; LELUTIU, N.; HABIB, R.; SKOUNTZOU, I. Evolução de duas linhagens principais do vírus Zika: implicações para a patologia, resposta imune e desenvolvimento de vacina. **Frente. Immunol.** 9, 1640 (2018).

BRAGA, D. **Inquérito Soroepidemiológico sobre Chikungunya, Dengue e Zika no Município de Quixadá, Ceará**. Universidade Federal do Ceará. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde - Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas transmitidas pelo Aedes Aegypti (dengue, chikungunya e zika), Semanas Epidemiológicas 1 a 50, 2020. **Boletim Epidemiológico** - Secretaria de Vigilância em Saúde. Vol. 51, nº 51, 2020a.

BRASIL. Ministério da Saúde - Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas causados por vírus transmitidos pelo mosquito Aedes (dengue, chikungunya e zika), semanas epidemiológicas 1 a 44, 2021. **Boletim Epidemiológico** - Secretaria de Vigilância em Saúde. Vol. 52, nº 41, 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde - Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas transmitidas pelo Aedes (dengue, chikungunya e Zika), Semanas Epidemiológicas 01 a 52, 2019. **Boletim Epidemiológico** - Secretaria de Vigilância em Saúde. Vol. 51, nº 02, 2020b.

BRASIL. Ministério da Saúde – “**Notificação de Alerta**”. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/junho/07/Municipios-LIRAA-.pdf>>. Acesso em 27 de janeiro de 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde - Vigilância em saúde no Brasil 2003|2019: da criação da Secretaria de Vigilância em Saúde aos dias atuais. **Boletim Epidemiológico** - Secretaria de Vigilância em Saúde. p. 7-9, 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Monitoramento dos casos de Dengue, Febre Chikungunya e doença aguda causada pelo Zika até a semana epidemiológica 52 de 2018. **Boletim Epidemiológico**, v. 50, n. 4, 2019a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Monitoramento dos casos de Arboviroses urbanas transmitidas pelos Aedes (Dengue, Chikungunya e Zika), semanas epidemiológicas 1 a 49. **Boletim Epidemiológico**, v. 50, n. 38, 2019b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 16, 2016. **Boletim Epidemiológico**, Secretaria de Vigilância em Saúde. Vol. 47, Nº 20, 2016.

BROGUEIRA, P.; MIRANDA, A.C. Zika Virus: Emergence of an Old Known. **Medicina Interna**. v. 24, n.2, pp.146-153, 2017.

Casa Civil, Subchefia para Assuntos Jurídicos, Presidência da República. Lei Nº 1.806, de 6 de Janeiro de 1953 – “**Legalização da Amazônia Legal e delimitação de área**”. - Publicação Original - Portal Câmara dos Deputados. <www2.camara.leg.br.> Consultado em 27 de janeiro de 2019.

CASTRO, A.P., LIMA, R.A., NASCIMENTO, J.S. **Chikungunya: vision of the pain clinician**. Revista Dor. Vol. 17, nº 02, p. 299-302, 2016.

CHAN, JFW et al. Zika fever and congenital Zika syndrome: an unexpected emerging arboviral disease? **Journal of Infection**. 72:5 (2016) 507–524.

CHEN, LH, WILSON ME (2010). “Dengue and chikungunya infections in travelers”. **Curr. Opin. Infect. Dis.** 23 (5): 438–44.

CHEN, R.; VASILAKIS, N. Dengue - Quo tu et quo vadis? **Viruses, Basel**, v.3, p. 1562-1608, 2011

CLYDE, K.; KYLE, J.L.; HARRIS, E. Recent advances in deciphering viral and host determinants of dengue virus replication and pathogenesis. **Journal of virology**. 2006; 80 (23): 11418 - 31.

COHEN, Jon (8 de fevereiro de 2016). “**Zika's long, strange trip into the limelight**”. Science mag. American Association for the Advancement of Science.

CHOW, A.; HER, Z.; ONG, E.K.; CHEN, J.M.; DIMATATAC, F.; KWEK, D.J. et al. Persistent arthralgia induced by Chikungunya virus infection is associated with interleukin-6 and granulocyte macrophage colony-stimulating factor. **J Infect Dis**. 2011; 203 (2):149-57.

CUNHA, R.V. et al. **Zika: abordagem clínica na atenção básica**. Mato Grosso do Sul: Ministério da Saúde. Secretaria de Gestão do Trabalho e da Educação na Saúde, 2016.

DEJNIRATTISAI, W. et al. Dengue virus sero-cross-reactivity drives antibody-dependent enhancement of infection with zika virus. **Nature Immunology**. v. 17, n. 9, p. 1102-8. set. 2016.

DUARTE, M.C. M.B. et al. “Infecção por Chikungunya em lactentes”. **Rev. Bras. Saude Mater. Infant.**, Recife, v. 16, supl. 1, p. S63-S71. 2016.

DUFFY, M.R. et al. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. **The New England Journal of Medicine**, [S.l.], v. 360, n. 24, p. 2536-2543, 2009.

EDWARD, B HAYES. “Zika virus outside Africa”. **Emerg Infect Dis.** 2009, Sep;15(9):1347-50. 2009.

ENFISSI, A.; CODRINGTON, J.; ROOSBLAD, J.; KAZANJI, M.; AND ROUSSET, D. Zika virus genome from the Americas. **The Lancet**, 2016, 387(10015), 227-228. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00003-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00003-9)>

FAYE, O. et al. One-step RT-PCR for detection of Zika virus. **Journal of clinical virology**, [S.l.], v. 43, n. 1, p. 96-101, 2008.

FARIA, N.R. et al. Zika virus in the Americas: Early epidemiological and genetic findings. **Science**. 2016 Apr 15; 352(6283):345-349. doi: 10.1126/science.aaf5036. Epub 2016 Mar 24. PMID: 27013429; PMCID: PMC4918795.

FAYE, O. et al. Quantitative real-time PCR detection of Zika virus and evaluation with field-caught Mosquitoes. **Virology Journal**, [S.l.], v. 10, n. 1, p. 311, 2013.

FAUCI, A.S.; MORENS, D.M. (2016). “**Zika Virus in the Americas — Yet Another Arbovirus Threat**”. **New England Journal of Medicine** (em inglês). 0 (0): null. ISSN 0028-4793. PMID 26761185. doi:10.1056/NEJMp1600297

FERNANDEZ-GARCIA et al. Pathogenesis of flavivirus infections: using and abusing the host cell. **Cell Host Microbe**, v. 05, p. 318-328, 2009.

FIGUEIREDO, A. **Imunossensores potenciométricos para a detecção da proteína NS1 do vírus da dengue**. Dissertação Mestrado em Ciências, p. 115, 2013.

GOULD, E.A.; SOLOMON, T. “Pathogenic flaviviruses”. **The Lancet**. 371 (9611): 500–9. 2008.

GUZMAN, M.G.; HALSTEAD, S.B.; ARTSOB, H. et al (2010). “Dengue: a continuing global threat”. **Nat. Rev. Microbiol.** 8 (12 Suppl): S7–S16

GOURINAT, A. et al. Detection of Zika Virus in Urine. **Emerging Infectious Diseases**, [S.l.], v. 21, n. 1, p. 84-86, 2015.

GOYAL, M., et al. **Desenvolvimento recente nas estratégias projetadas para a vacina chikungunya em humanos**. **Drug Design Development and Therapy**, 2018. 12: p. 4195-4206.

GUBLER, D.J.; CLARK, G.G. “Dengue hemorrhagic fever: the emergence of a global health problem”. **Emerging Infectious Disease**, 1995; 2(1): 55-57.

GUZMAN, M. G.; HARRIS, E. Dengue. **The Lancet**, v. 385, n. 9966, p. 453-465, 2015.

GONÇALVES, P.F. **Caracterização genômica de um vírus Dengue tipo 3, isolado de um paciente com dengue clássico**. Tese. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP, 2007.

HADDOW, A.D. et al. **Genetic characterization of zika virus strains: geographic expansion of the asian lineage**. PLoS Neglected Tropical Diseases. 6:2 (2012) e1477.

HADDOW, A.D.; NASAR, F.; GUZMAN, H.; PONLAWAT A; JARMAN, R.G.; TESH, R.B. et al. “Genetic Characterization of Spondweni and Zika Viruses and Susceptibility of Geographically Distinct Strains of *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) to Spondweni Virus”. **PLoS Negl Trop Dis** 10(10): e0005083. Acessado em 22 de Julho de 2020 no endereço: Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005083>>

HADDOW, A.D.; WOODALL, J.P. (2016) “**Distinguishing between Zika and Spondweni viruses**”. Bull World Health Organ. 94: 711.

HAMEL, R. et al. Biology of Zika virus infection in human skin cells. **Journal of Virology**. 89:17 (2015) 8880–8896.

HIGGS, S.; VANLANDINGHAM, D. **Chikungunya virus and its mosquito vectors**. Vector Borne Zoonotic Diseases, 2015.

HOLMES, E.C.; BARTLEY, L.M.; Garnet, G.P. “**The emergence of dengue past, present and future In: Krause RM, editor. Emerging Infectors**”; London: Academic Press; 1998. p. 301-25.

HOPPEN, A.; MATTE, F. “Zika Vírus e sua relação com a Síndrome de Guillain-Barré”. **Anais de Medicina**. Disponível em: Disponível em: <<https://editora.unoesc.edu.br/index.php/anaisdemedicina/article/view/12023>>. Acesso em 27 de janeiro de 2019

IBGE. “**Estimativa populacional para 2018**” (PDF). Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). 19 de Julho de 2018. Consultado em 27 de janeiro de 2019.

IBGE. **Geoestatísticas de recursos naturais da Amazônia Legal: 2003 / IBGE, Coordenação de Recursos Naturais e Estudos Ambientais**. Rio de Janeiro, 2011. ISBN: 9788524041891. p. 229-232.

IMAI, N.; DORIGATTI, I.; CAUCHEMEZ, S.; FERGUSON, N. M. Estimating dengue transmission intensity from sero-prevalence surveys in multiple countries. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 9, n. 4, p. 1–19, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0003719>>.

**Informativo sobre Kit de Teste Sorológico MOBIUS**. Disponível em: <<http://www.biometrix.com.br/wp-content/uploads/2018/01/zdc.pdf>> Acesso em 28 de janeiro de 2019.

IOOS, S. et al. Current Zika virus epidemiology and recent epidemics. **Medecineet Maladies Infectieuses**, [S.l.], v. 44, n. 7, p. 302-307, 2014.

KAM, Y.W. et al. Immuno-biology of Chikungunya and implications for diseases intervention. **Microbes and Infection**, vol. 11, nº 14, p. 1186-1196, 2009.

KASPRZYKOWSKI, J.I. et al. **A recursive sub-typing screening surveillance system detects the appearance of the ZIKV African lineage in Brazil: Is there a risk of a new epidemic?** *International Journal of Infectious Diseases*, 96 (2020) 579-581.

KUBISTA, M.; ANDRADE, J.M.; BENGTSSON, M.; FOROOTAN, A.; JONÁK, J.; LIND, K.; SINDELKA, R.; SJÖBACK, R.; SJÖGREEN, B.; STRÖMBOM, L.; STÅHLBERG, A.; ZORIC, N. The real-time polymerase chain reaction. **Mol Aspects Med.** 2006 Apr-Jun; 27 (2-3):95-125. doi: 10.1016/j.mam.2005.12.007. Epub 2006 Feb 3. PMID: 16460794.

LANCIOTTI, R.S.; KOSOY, O.L.; LAVEN, J.J. et al. Genetic and Serologic Properties of Zika Virus Associated with an Epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. **Emerg Infect Dis.** 2008; 14 (8): 1232-1239. doi:10.3201/eid1408.080287

LI, L.; JOSE, J.; XIANG, Y; KUHN, R.; ROSSMANN, M.; Structural Changes of Envelope Proteins During Alphavirus Fusion. **Nature.** 2010 Dec 2; 468(7324): 705–708.

LINDENBACH, B. D.; RICE, C. M. Molecular biology of flaviviruses. **Advances in Virus Research**, [S.l.], v. 59, p. 23-61, feb, 2003.

LOGAN, I.S. ZIKA – How fast does this virus mutate? **Dongwuxue Yanjiu.** 2016; 37(2):110-5.

LOPES, N.; NOZAWA, C.; LINHARES, R. E. C. Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil. **Rev Pan-Amaz Saude**, Ananindeua, v. 5, n. 3, p. 55-64, set. 2014

LUPI, O.; CARNEIRO, C.; COELHO, I. Manifestações mucocutâneas da dengue. **An. Bras. Dermatol.** [online]. 2007, vol. 82, n. 4. ISSN 1806-4841. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0365-05962007000400002>>

MCARTHUR, M. A. Zika virus: **Recent advances towards the development of vaccines and therapeutics.** *Viruses*, [S.l.], v. 9, n. 6, 2017.

MESSINA, JANE; BRADY, OLIVER; SCOTT, THOMAS; et al. Global spread of dengue virus types: mapping the 70 year history. **Trends in Microbiology**, v. 22, n.3, p. 138-146, 2014.

MISHRA, N., NG, J.; RAKEMAN, J. L.; PERRY, M. J. et al. One-step pentaplex real-time polymerase chain reaction assay for detection of zika, dengue, chikungunya, West Nile viruses and a human housekeeping gene. **Journal of clinical virology**: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology, v. 120, p. 44-50, 2019.

MULLER, V.D.M. **Avaliação da atividade viral de peçonhas de serpentes e escorpião contra os vírus da dengue e da febre amarela.** 102 f. Tese (Pós-Graduação em Biociências Aplicadas a Farmácia). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, USP. Ribeirão Preto, 2011.

MUSSO, D.; GUBLER, D.J. Zika Virus. **Clinical Microbiology Reviews**, [S.l.], v. 29, n. 3, p. 487-534, 2016.

NUNES, M.R. et al. **Emergence and potential for spread of Chikungunya virus in Brazil**. **BMC Med**. 13: 102; 2015.

NUNES, M.R.T.; FARIA, N.R.; DE VASCONCELOS, J.M. et al. Emergência e potencial de disseminação do vírus Chikungunya no Brasil. **BMC Med**, 13, 102 (2015). Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s12916-015-0348-x>>

OPAS – Organização Panamericana da Saúde, WHO – Organização Mundial da Saúde. **Folha Informativa – Dengue e Dengue Grave**. 2019. Disponível em: Disponível em: <[https://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=5963:folha-informativa-dengue-e-dengue-grave&Itemid=812](https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5963:folha-informativa-dengue-e-dengue-grave&Itemid=812)> Acesso em: 28/12/2020.

PETERSEN, L.R.; JAMIESON, D.J.; POWERS, A.M.; HONEIN, M.A. Zika Vírus. **N Engl J Med**. 2016; 374 (16):1552-63.

PLOURDE, A. R.; BLOCH, E. M. A literature review of zika virus. **Emerging Infectious Diseases**, [S.I.], v. 22, n. 7, p. 1185–1192, 2016.

RANJIT, S.; KISSOON, N (2011). “Dengue hemorrhagic fever and shock syndromes”. **Pediatr. Crit. Care Med**. 12 (1): 90–100.

RODENHUIS-ZYBERT IA, WILSCHUT J, SMIT JM (2010). “Dengue virus life cycle: viral and host factors modulating infectivity”. **Cell. Mol. Life Sci**. 67 (16): 2773–86.

ROSS, T.M. “Dengue virus”. **Clinics in Laboratory Medicine**, 2010; 30(1):149-60.

SAIZ, J.C. et al. Zika Virus: What have we learnt since the start of the recent epidemic? **Frontiers in Microbiology**, [S.l.], v. 8, p. 1–25, 2017.

SCHNIERLE B.S. Cellular Attachment and Entry Factors for Chikungunya Virus. **Viruses**. 2019 Nov; 11(11): 1078.

SCHWARTZ, O; ALBERT, M. L. Biology and pathogenesis of Chikungunya virus. **Nature Review Microbiology**, v. 08, p. 491-500, 2010.

SILVA, Juliana de Melo e. **Detecção molecular do vírus da dengue em pacientes com suspeita clínica da doença atendidos em Maceió, Alagoas**. UFAL – Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde (ICBS), 2014.

SIMMONS, C.P.; FARRAR, J.J.; NGUYEN, V.V.; WILLS, B. (12 de abril de 2012). “Dengue”. **The New England Journal of Medicine**. 366 (15): 1423–32.

SINGHI, S.; KISSOON, N.; BANSAL, A. Dengue and dengue hemorrhagic fever: management issues in an intensive care unit. **J Pediatr**, Rio de Janeiro, 2007; 83(2 Suppl):S22-35.

SIROHI, D.; CHEN, Z.; SUN, L.; KLOSE, T.; PIERSON, T.C.; ROSSMANN, M.G. et al. The 3.8 Å resolution cryo-EM structure of Zika virus. **Science**. 2016; 352 (6284): 467-70.

SIROHI, D. et al. The 3.8 Å resolution cryo-EM structure of Zika virus. **Science**, [S.l.], v. 5316, p. 1–7, 2016.

SHANKAR, A.; PATIL, A.; SKARIYACHAN, S. Recent perspectives on genome, transmission, clinical manifestation, diagnosis, therapeutic strategies, vaccine developments, and challenges of zika virus research. **Frontiers in Microbiology**, [S.l.], v. 8, n. SEP, p. 1–14, 2017.

SOHLER, M.P. et al. “Dengue infection in the nervous system: lessons learned for Zika and Chikungunya”. **Arquivos de Neuro- Psiquiatria**, 75, n. 2, 2017. 123-126.

SOLOMONIDES, Tony. “**Healthgrid applications and core technologies: proceedings of HealthGrid**” (Online-Ausg.). Ed. Amsterdam: IOS Press. p. 235. 2010.

STEPHENSON, J.R. **Understanding dengue pathogenesis: implications for vaccine design**. Bull World Health Organ, 83: 308-314, 2005.

STIASNY, K; HEINZ, F.X. Flavivirus membrane fusion. **Journal of General Virology**, v. 87, p. 2755-2766, 2006.

TANG, H. et al. Zika virus infects human cortical neural progenitors and attenuates their growth. **Cell StemCell**, v. 18, p. 587-590, 2016.

THIBERVILLE, S.D. et al. Chikungunya fever: a clinical and virological investigation of outpatients on Reunion Island South-West Indian Ocean. **PLoS Neglected Tropical Disease**, v. 07, 2013.

THIBERVILLE, S.D.; BOISSON, V.; GAUDART, J.; SIMON, F.; FLAHAULT, A.; DE LAMBALLERIE, X. Chikungunya fever: a clinical and virological investigation of outpatients on Reunion Island, South-West Indian Ocean. **PLoS Negl Trop Dis**. 2013; 7 (1): e-2004.

TOCANTINS. Secretaria de Estado da Saúde. **Boletim Epidemiológico - Monitoramento dos casos de dengue, chikungunya e Zika, janeiro a dezembro de 2019**. nº 04 - Fevereiro/2020

TOCANTINS. Governo do Estado do Tocantins – “**SAÚDE – Boletim Epidemiológico**”. Notícia do Portal da Saúde do Ministério da Saúde. nº 03 – Janeiro/2020.

TOCANTINS. Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS). Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 49, 2017. **Boletim epidemiológico**, [S.l.], v. 48, n. 44, 2017

TOCANTINS. Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS). Monitoramento dos casos de dengue até a semana epidemiológica 52, 2020. **Boletim epidemiológico**, Secretaria de Estado da Saúde, 2020.

TOCANTINS. Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS). Monitoramento dos casos de chikungunya até a semana epidemiológica 50, 2020. **Boletim Epidemiológico**, Secretaria de Estado da Saúde, 2020a.

TOCANTINS. Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS). Monitoramento dos casos de Zika até a semana epidemiológica 50, 2020. **Boletim Epidemiológico**, Secretaria de Estado da Saúde, 2020b.

TOCANTINS. Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS). Monitoramento dos casos de dengue até a semana epidemiológica 18, 2021. **Boletim epidemiológico**, Secretaria de Estado da Saúde, 2021.

TOCANTINS. Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS). Monitoramento dos casos de dengue até a semana epidemiológica 03, 2022. **Boletim epidemiológico**, Secretaria de Estado da Saúde, 2022.

WAHID, B.; ALI, A.; RAFIQUE, S.; IDREES, M. Zika: As an emergent epidemic. **Asian Pac J Trop Med**. 2016; 9 (8):723-9.

WHITEHEAD, S.S. et al. Prospects for a dengue virus vaccine. *Nature Reviews*, v. 5, 2007. WHITEHORN J, FARRAR J (2010). “Dengue”. **Br. Med. Bull.** 95: 161–73.

WHO. “**Dengue haemorrhagic fever Diagnosis, Treatment, prevention and control**”. 2nd edition; Geneva WHO; 1997.

WHO. “**Chikungunya Fact sheet**”. Boletim emitido em Abril de 2016.

WHO. **Global strategy for dengue prevention and control 2012-2020**. Geneva: World Health Organization, 2012.

WHO. “**Boletim Epidemiológico - Dengue**”. Boletim emitido em Fevereiro de 2020.

WITTLIN, B.B. **Prevalência sorológica de infecções por dengue, zika e chikungunya vírus em gestantes atendidas numa maternidade pública, no município de Nova Iguaçu, Baixada Fluminense**. Dissertação (Mestrado) – Instituto Oswaldo Cruz, Pós-Graduação em Medicina Tropical, 2018. Rio de Janeiro, 2018.

VALAMPARAMPIL, J.J.; CHIRAKKAROT, S.; LETHA, S.; JAYAKUMAR, C.; GOPINATHAN, K.M. “Clinical profile of chikungunya in infants”. **Indian J Pediatr**. 2009; 76: 151-5.

VARGAS, A. et al. “Características dos primeiros casos de microcefalia possivelmente relacionados ao vírus Zika notificados na Região Metropolitana de Recife, Pernambuco”. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, 25, n. 4, 2016.

VASCONCELLOS, A.F.P.; SOUZA, D. **Estudos genômicos, filogenéticos e proteômicos de alfavírus (CHIKV e MAYV)**. Universidade de Brasília, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia Celular, Pós-Graduação em Biologia Molecular. Brasília, 2019.

VASILAKIS, N.; CARDOSA, J.; HANLEY, K.A.; HOLMES, E.C.; WEAVER, S.C. Fever from the forest: prospects for the continued emergence of sylvatic dengue virus and its impact on public health. **Nature Reviews Microbiology**, London, v.9, n.7, p.532-541, 2011.

VAZEILLE, Marie; MOUSSON, Laurence e FAILLOUX, Anna-Bella. **“Failure to demonstrate experimental vertical transmission of the epidemic strain of Chikungunya virus in Aedes albopictus from La Réunion Island, Indian Ocean”**. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 2009.

VIRAL ZONE. **Créditos de Imagem**. Disponível em: <[https://viralzone.expasy.org/625?outline=all\\_by\\_species](https://viralzone.expasy.org/625?outline=all_by_species)>.

ZANLUCA, C.; NORONHA, L.; SANTOS, C. Maternal-fetal transmission of the zika virus: An intriguing interplay. **Journal List**, Tissue Barriers, v.6(1); 2018.

## **10 ANEXOS**