

**UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI**

**Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas**

**Juliane Duarte Santos**

**CARACTERIZAÇÃO DOS CASOS DE ARBOVIROSES NO VALE DO  
JEQUITINHONHA**

**Diamantina**

**2020**

**Juliane Duarte Santos**

**CARACTERIZAÇÃO DOS CASOS DE ARBOVIROSES NO VALE DO  
JEQUITINHONHA**

Dissertação apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, nível de mestrado, como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre.

Orientador: Danilo Bretas de Oliveira

**Diamantina**

**2020**

Elaborado com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S237c

Santos, Juliane Duarte.

Caracterização dos casos de arboviroses no Vale do Jequitinhonha / Juliane Duarte Santos, 2020.

79 p.

Orientador: Danilo Bretas de Oliveira

Dissertação (Mestrado – Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2020.

1. Arbovírus. 2. Chikungunya. 3. Dengue. 4. Zika. 5. Febre Amarela. 6. Epidemiologia. I. Oliveira, Danilo Bretas de. II. Título. III. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

**CDD 616.9**

Ficha Catalográfica – Sistema de Bibliotecas/UFVJM  
Bibliotecária: Jullyele Hubner Costa – CRB6/2972

JULIANE DUARTE SANTOS

**Caracterização dos casos de arboviroses no Vale do Jequitinhonha**

Dissertação apresentada ao  
MESTRADO EM CIÊNCIAS  
FISIOLÓGICAS, nível de MESTRADO  
como parte dos requisitos para  
obtenção do título de MESTRE EM  
CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

Orientador (a): Prof. Dr. Danilo Bretas  
De Oliveira

Data da aprovação : 06/03/2020



Prof.Dr. DANILO BRETAS DE OLIVEIRA - UFVJM



Prof.Dr. MARCO FABRICIO DIAS PEIXOTO - UFVJM



Prof.Dr.<sup>a</sup> GILIANE DE SOUZA TRINDADE - UFMG



Prof.Dr. FABIO PIO DORNAS - UFVJM

## **Agradecimentos**

Agradeço ao Prof. Dr. Danilo Bretas, quem me orientou, direcionou e ensinou ao longo dos anos do mestrado, contribuindo significativamente na minha formação acadêmica. Aos colegas do LADIP e CIPQ pela ajuda, atenção e bons momentos compartilhados nesses dois anos.

Aos meus pais, que embora distantes fisicamente, sempre me ensinaram, me apoiaram e me deram a oportunidade de trilhar meus caminhos. Sem vocês essa conquista não seria possível. Obrigada! Ao meu irmão que tem sido meu grande amigo em todos esses anos, me ouvindo, me fortalecendo e acreditando em mim. Amo vocês incondicionalmente!

Aos meus familiares e amigos de longa data que dividiram os dias de alegrias e tristezas durante essa caminhada, sempre me trazendo boas risadas e me afagando nos momentos difíceis. Sou grata por ter vocês!

A FAPEMIG pelo suporte financeiro do projeto.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## RESUMO

Nas últimas décadas do século XX surgiram diferentes doenças epidêmicas causadas por arbovírus, vírus transmitidos por vetores hematófagos, havendo diversos relatos de surtos epidêmicos caracterizados principalmente por doenças febris em humanos. A rápida disseminação dos arbovírus e proliferação dos vetores transmissores são decorrentes de fatores como urbanização descontrolada, falta de saneamento básico, desmatamentos, mudanças climáticas e o alto tráfego de pessoas, tornando um grande desafio de saúde pública. No Brasil, há a predominância de diferentes formações florestais que contemplam variados ecossistemas, favorecendo a existência e disseminação de vetores como o *Aedes*, responsável pela transmissão de alguns arbovírus patogênicos circulantes no país, como o *Chikungunya virus* (CHIKV), *Dengue virus* (DENV), *Yellow fever virus* (YFV) e *Zika virus* (ZIKV). Entre os estados do país, Minas Gerais é um dos estados que apresenta um grande número de registros de casos de infecção por arbovírus. O Vale do Jequitinhonha, região que apresenta um dos menores indicadores socioeconômicos de Minas Gerais, grande parte da população vive em extrema pobreza. Em 2017 a macrorregião Jequitinhonha registrou 11 casos confirmados de YFV, em 2019 foram notificados 3214 casos prováveis de DENV, 27 de CHIKV e 12 para ZIKV. Diante dos desafios encontrados no controle dos vetores transmissores, a subnotificação de casos e a importância do desenvolvimento de pesquisas no Vale do Jequitinhonha, o presente estudo teve como objetivo caracterizar os casos de infecções por arbovírus que acometem a população da região, tanto em relação aos aspectos sorológicos utilizando teste ELISA, quanto em relação aos dados demográficos. Foram analisadas amostras de pacientes com suspeita de arbovirose que deram entrada no Hospital Santa Casa de Caridade de Diamantina, com uma prevalência em pacientes do sexo feminino, idade de 23 a 33 anos e o sinal de alarme hipotensão ortostática e/ou lipotimia. Também foram analisadas amostras de 135 gestantes, onde foi observada uma maior infecção nos grupos com renda de um a três salários mínimos, com ensino médio completo, que se autodeclaravam pardas e com idade entre 25 a 35 anos. Análises realizadas em 8 pacientes infectados com YFV silvestre apresentaram um quadro de icterícia com níveis significativamente altos de transaminase glutâmico-oxalacética (TGO) e transaminase glutâmico-pirúvica (TGP). Foi possível concluir com este estudo a importância de pesquisas epidemiológicas, medidas profiláticas e políticas públicas voltadas principalmente para regiões com alto índice de pobreza.

Palavras-chave: Arbovírus; Chikungunya; Dengue; Zika; Febre Amarela; Epidemiologia.

## ABSTRACT

In the last decades of the XX century, different epidemic diseases caused by arboviruses, viruses transmitted by hematophagous vectors, emerged, with several reports of epidemic outbreaks characterized mainly by febrile diseases in humans. The rapid spread of arboviruses and the proliferation of transmitting vectors are due to factors such as uncontrolled urbanization, lack of basic sanitation, deforestation, climate change and the high traffic of people, making it a major public health challenge. In Brazil, the predominance of different forest formations that contemplate different ecosystems, favors the existence and dissemination of vectors such as *Aedes*, responsible for the transmission of some pathogenic arboviruses circulating in the country, such as Chikungunya virus (CHIKV), Dengue virus (DENV), Yellow fever virus (YFV) and Zika virus (ZIKV). Among the states of Brazil, Minas Gerais is one that has a large number of cases of arbovirus infection. In the Jequitinhonha Valley, a region that has one of the lowest socioeconomic indicators in Minas Gerais, a large part of the population lives in extreme poverty. In 2017, the Jequitinhonha macroregion registered 11 confirmed cases of YFV, in 2019 3.214 probable cases of DENV, 2805 of CHIKV and 12 for ZIKV were reported. In view of the challenges encountered in the control of transmitting vectors, underreporting of cases and the importance of developing research in the Vale do Jequitinhonha, the present study aimed to characterize the cases of arbovirus infections that affect the population of the region, both in relation to aspects serological tests using the ELISA test, in relation to demographic data. Samples from patients with suspected arbovirus hospitalized in the Santa Casa de Caridade de Diamantina were analyzed, with a prevalence in female patients, aged 23 to 33 years and the orthostatic hypotension and / or lipothymia alarm signal. Samples from 135 pregnant were also analyzed, where a greater infection was observed in groups with income below R \$ 1,821.53, with complete high school, who declared themselves brown-skinned and aged between 25 and 35 years. Analyzes performed on 8 patients infected with wild YFV showed jaundice with significantly high levels of glutamic-oxalacetic transaminase (TGO) and glutamic-pyruvic transaminase (TGP). It was possible to conclude with this study the importance of epidemiological research, prophylactic measures and public policies aimed mainly at regions with a high index of poverty.

Keyword: Arbovirus; Chikungunya; Dengue; Zika; Yellow fever; Epidemiology.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1:</b> Ciclos de transmissão das arboviroses do estudo (DENV, CHIKV, YFV, ZIKV).	16
<b>Figura 2:</b> Genoma dos Flavivirus	17
<b>Figura 3:</b> Multiplicação dos Flavivirus no hospedeiro.	18
<b>Figura 4:</b> Risco global de DENV	20
<b>Figura 5:</b> Sintomas de DENV	22
<b>Figura 6:</b> Genoma viral Alphavirus	29
<b>Figura 7:</b> Ciclo de multiplicação dos alfavírus	31
<b>Figura 8:</b> Países que já reportaram casos de CHIKV até o ano de 2019	32
<b>Figura 9:</b> Propagação do ZIKV	24
<b>Figura 10:</b> Risco global de YFV	27
<b>Figura 11:</b> Período de detecção do ZIKV para testes laboratoriais.	35
<b>Figura 12:</b> Mapa da Macrorregião do Jequitinhonha	37
<b>Figura 13:</b> PIB de Diamantina, Minas Gerais e Brasil em relação a agropecuária, indústria e outros serviços.	38
<b>Figura 14:</b> Comparativo dos indicadores de pobreza do Brasil, Estado de Minas Gerais e município de Diamantina	38
<b>Figura 15:</b> Comparativo do Índice de Desenvolvimento Humano do Brasil, Estado de Minas Gerais e município de Diamantina	39
<b>Figura 16:</b> Análise sorológica dos testes ELISA IgM DENV e CHIKV	49
<b>Figura 17:</b> Teste ELISA – positivos em relação à idade	50
<b>Figura 18:</b> Teste ELISA – Positivos em relação ao sexo	51
<b>Figura 19:</b> Teste ELISA – Positivos em relação aos sinais de alarme	52
<b>Figura 20:</b> Análise sorológica de gestantes por meio do teste ELISA IgM DENV, CHIKV e ZIKV	54
<b>Figura 21:</b> Teste ELISA – Positivos em relação a renda	56
<b>Figura 22:</b> Teste ELISA – Positivos em relação a escolaridade	58
<b>Figura 23:</b> Teste ELISA – Positivos em relação a faixa etária	59
<b>Figura 24:</b> Teste ELISA – Positivos em relação a raça	59
<b>Figura 25:</b> Número de casos de infecção por YFV de 2016-2018 nos estados do sudeste e Brasil	60
<b>Figura 26:</b> Mapa da cobertura vacinal das macrorregiões do estado de Minas Gerais no ano de 2016	62
<b>Figura 27:</b> Mapa da cobertura vacinal das macrorregiões do estado de Minas Gerais nos anos de 2017 e 2018	63
<b>Figura 28:</b> Análise filogenética da amostra do vírus isolado do soro do paciente com suspeita de infecção pela vacina	66



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Dados demográficos de pacientes positivos para arbovirose recrutados no hospital Santa Casa de Caridade de Diamantina no período de 2018 a 2019. ....	48
<b>Tabela 2:</b> Dados demográficos de gestantes positivas para arbovirozes. ....	53
<b>Tabela 3:</b> Caracterização dos casos de infecção por febre amarela. ....	64

## LISTA DE SIGLAS

ACRV – Área com recomendação de vacina

ASRV – Área sem recomendação de vacina

C – Capsídeo

CDC – Centro de Controle e Prevenção de Doenças, do inglês *Centers for Disease Control and Prevetion*

cDNA – DNA complementar

CEP – Comitê de Ética e Pesquisa

CHIKV – *Chikungunya virus*

CISAM – Centro Integrado de Saúde Amaury de Medeiros

DENV – *Dengue virus*

E – Proteína do envelope viral

ECSA – Cepa do vírus Chikungunya do Leste-Centro-Sul Africano

ELISA – Ensaio de Imunoabsorção Enzimática, do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

EUA – Estados Unidos das Américas

FA – Febre Amarela

HI – Inibição de Hemaglutinação

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IgG – Imunoglobulina G

IgM – Imunoglobulina M

LADIP – Laboratório de Doenças Infecciosas e Parasitárias da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

LAMP – Técnica de amplificação isotérmica

M – Membrana quando a partícula viral está madura

MP – Máxima Parcimônia

NJ – *Neighbor-Joining*

OMS – Organização Mundial de Saúde

PAHO – Organização Pan Americana de Saúde, do inglês *Pan American Health Organization*

PIB – Produto Interno Bruto

PrM – Pré-membrana quando a partícula viral está imatura

PRNT – Teste de Neutralização por Redução de Placa

RT-PCR – Reação em Cadeia da Polimerase com Transcrição Reversa

SESMG – Secretária Estadual de Saúde do Estado de Minas Gerais

SNC – Sistema Nervoso Central

TGO – Transaminase glutâmico-oxalacética

TGP – Transaminase glutâmico-pirúvica

UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais

UFVJM – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

URS – Unidades Regionais de Saúde

UTI – Unidade de Terapia Intensiva

WHO – Organização Mundial de Saúde, do inglês *World Health Organization*

$x^2$  – Chi quadrado

YFV – *Yellow fever virus*

ZIKV – *Zika virus*

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>14</b>
<b>2.1 Arbovírus .....</b>	<b>14</b>
<b>2.2 Família Flaviviridae, gênero Flavivirus .....</b>	<b>17</b>
2.2.1 Partícula viral, genoma e ciclo de multiplicação .....	17
2.2.2 Dengue (DENV) .....	18
2.2.3 Zika (ZIKV).....	23
2.2.4 Febre Amarela .....	25
<b>2.3 Família Togaviridae, gênero Alphavirus .....</b>	<b>29</b>
2.3.1 Partícula viral, genoma e ciclo de multiplicação .....	29
2.3.2 Chikungunya (CHIKV).....	31
<b>2.4 Diagnóstico laboratorial das arboviroses.....</b>	<b>34</b>
<b>2.5 Vale do Jequitinhonha e Diamantina .....</b>	<b>36</b>
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>40</b>
<b>3.1 Objetivos Gerais.....</b>	<b>40</b>
<b>3.2 Objetivos específicos .....</b>	<b>40</b>
<b>4. METODOLOGIA.....</b>	<b>41</b>
<b>4.1 Amostras dos pacientes da Santa Casa de Caridade de Diamantina (SCCD) ..</b>	<b>41</b>
4.1.1 Coleta das amostras clínicas .....	41
4.1.2 Análise das fichas clínicas.....	41
4.1.3 Diagnóstico sorológico.....	42
4.1.4 Variáveis do estudo.....	42
4.1.5 Análise estatística .....	43
<b>4.2 Amostras de gestantes do Vale do Jequitinhonha.....</b>	<b>43</b>
4.2.1 Coleta das amostras clínicas .....	43
4.2.2 Análise das fichas clínicas.....	44
4.2.3 Diagnóstico sorológico.....	44
4.2.4 Variáveis do estudo.....	44
4.2.5 Análise estatística .....	44
<b>4.3 Levantamento epidemiológico YFV .....</b>	<b>45</b>
4.3.1 Coleta das amostras clínicas .....	45
4.3.2 Análise das fichas clínicas.....	46

4.3.3	Diagnóstico molecular .....	46
4.3.4	Sequenciamento do genoma e análise filogenética.....	47
4.3.5	Artigo .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>48</b>
<b>5.1</b>	<b>Análise soropidemiológica de pacientes com suspeita de arboviroses da Santa Casa de Caridade de Diamantina .....</b>	<b>48</b>
5.1.1	Caracterização da população estudada.....	48
5.1.2	Detecção de anticorpos.....	49
<b>5.2</b>	<b>Avaliação soropidemiológica em gestantes do Vale do Jequitinhonha .....</b>	<b>53</b>
5.2.1	Caracterização da população estudada.....	53
5.2.2	Detecção de anticorpos.....	54
<b>5.3</b>	<b>Avaliação das infecções por YFV no estado de Minas Gerais.....</b>	<b>60</b>
5.3.1	Levantamento da taxa de vacinação no Brasil e em Minas Gerais .....	60
5.3.2	Caracterização da população estudada.....	63
5.3.3	Análise molecular e filogenética.....	65
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>67</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>68</b>
<b>7.</b>	<b>ANEXOS .....</b>	<b>78</b>
<b>7.1</b>	<b>ANEXO A – TRABALHO APRESENTADO EM CONGRESSO SOBRE O ESTUDO DE CASOS DE INFECÇÃO POR YFV .....</b>	<b>78</b>
<b>7.2</b>	<b>ANEXO B - ARTIGO SUBMETIDO.....</b>	<b>79</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas do século XX os vírus transmitidos por artrópodes hematófagos, conhecidos pelo termo arbovírus, foram responsáveis por causarem doenças febris em humanos. Alguns fatores antropológicos como o aumento da mobilidade humana associado ao desordenado processo de urbanização e poluição, e fatores naturais como climas tropicais e úmidos, contribuem para a disseminação e proliferação de vetores transmissores.

No Brasil há ao menos nove arbovírus patogênicos circulantes, como o *Chikungunya virus* (CHIKV), *Dengue virus* (DENV), *Yellow fever virus* (YFV) e *Zika virus* (ZIKV). No ciclo urbano todos os arbovírus supracitados são transmitidos pelo mesmo vetor, *Aedes aegypti*, conhecido por ser eficiente na transmissão, estando adaptado a áreas urbanas e vivendo todo seu ciclo próximo a hospedeiros humanos, disseminando as arboviroses em um curto período de tempo. No entanto, com o desenvolvimento da vacina o YFV no Brasil passou a ser transmitido apenas no ciclo silvestre, sendo os vetores transmissores pertencentes aos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes*.

O primeiro registro de Febre Amarela (FA) no Brasil foi documentado em 1685 na cidade de Recife, causando diversas epidemias esporádicas nos anos seguintes. Em dezembro de 2016 iniciou a maior epidemia de FA silvestre já descrita no país. O estado de Minas Gerais foi o epicentro desta epidemia com aproximadamente 1695 casos, 11 deles registrados na macrorregião do Vale do Jequitinhonha (BRASIL, 2017). O DENV teve sua primeira epidemia documentado no Brasil em 1981. Desde então diversas epidemias foram descritas ao longo dos anos, com registro aproximado de 1.015.124 casos confirmados no país em 2019, sendo Minas Gerais o estado com maior número de casos (2.239,3 casos/100.000 hab), com 3.214 casos prováveis no Vale do Jequitinhonha (BRASIL, 2019; PAHO, 2019; SESMG, 2019). No Brasil, os primeiros casos autóctones de CHIKV foram registrados em 2014, sendo detectado em Minas Gerais somente em 2016. O Vale do Jequitinhonha apresentou aproximadamente 27 casos prováveis de CHIKV em 2019 (SESMG, 2019). No ano de 2015 o primeiro surto de ZIKV no país foi catalogado, acarretando um aumento súbito de casos de microcefalia, principalmente na região Nordeste. Em 2019 o Vale do Jequitinhonha apresentou 12 casos prováveis notificados de infecção pelo vírus (SESMG, 2019).

Surto epidêmicos simultâneos das arboviroses podem ocasionar um colapso na economia e nos serviços de saúde pública. A recente entrada do CHIKV e ZIKV torna-se um desafio no Brasil, juntamente com o DENV, que já é endêmico no país, devido a rápida

expansão geográfica dos vírus, a magnitude das epidemias e as formas graves que causam doenças no sistema nervoso central, coma ou morte.

Diante dos desafios encontrados para o controle das arboviroses e seus vetores, torna-se necessário investigações acerca da manifestação das doenças, a sorologia específica para cada uma delas, diagnóstico, vias de infecção, evolução dos agentes etiológicos e principalmente o fortalecimento de vigilâncias entomológicas e epidemiológicas, a fim de controlar e prevenir infecções.

Estudos epidemiológicos são de grande importância para fornecer uma melhor dimensão de casos de infecção por arbovírus muitas vezes subnotificados, fortalecendo medidas profiláticas associadas a essas doenças.

Diante dos dados apresentados, observa-se a grande importância de estudos voltados para a macrorregião do Vale do Jequitinhonha e a cidade de Diamantina que funciona como Unidade Regional de Saúde para grande parte da região. No entanto, não há estudos voltados para a caracterização epidemiológica, molecular, clínica e sorológica para as arboviroses circulantes nessas localidades. Sendo assim, o presente estudo busca fazer o levantamento epidemiológico dos pacientes com suspeita de arboviroses e a caracterização dos casos, podendo contribuir com políticas públicas voltadas para prevenção e controle dos arbovírus.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Arbovírus

Desde a expansão do comércio marítimo do século XVII e XVIII, o transporte de pessoas, animais e mercadorias se tornou mais habitual, e com a modernização e a globalização essa movimentação passou a ter uma frequência ainda maior, contribuindo com a disseminação de vetores, novos vírus e amostras mais resistentes em diferentes continentes e países (GLUBER, 2006; RUST, 2012; WEAVER & REISEN, 2010). Nas últimas décadas do século XX surgiram diferentes doenças epidêmicas em seres humanos que levaram a descoberta de uma variedade de novos vírus responsáveis por infecções (GLUBER, 1996). Acredita-se que amostras que infectavam outros seres vertebrados evoluíram e se tornaram um problema de saúde pública para os humanos, ocasionando epidemias recorrentes (GLUBER, 2006; HOLMES & TWIDDY, 2003). Dentre as doenças infecciosas, 17% representam as que são transmitidas por vetores e causam mais de 700.00 óbitos por anos. Os patógenos transmitidos por vetores incluem microorganismos como bactérias, nematódos, protozoários e vírus (GLUBER, 2009; WHO, 2017).

Em 1942 foi descrito um grupo de vírus que dispersam em artrópodes e são transmitidos a hospedeiros vertebrados, sendo definidos pela expressão *arthropod-borne virus*. Duas décadas depois, o Sub-Comitê Internacional para Nomenclatura Viral recomendou a oficialização do termo *arbovirus* (arbovírus) para designação dos vírus que são mantidos na natureza em ciclos envolvendo vetores artrópodes hematófagos e hospedeiros vertebrados (WHO, 1985). Os diversos arbovírus estão taxonomicamente classificados em seis famílias virais: *Orthomyxoviridae*, *Reoviridae*, *Rhabdoviridae*, *Flaviviridae*, *Togaviridae* e *Bunyaviridae* (GUBLER, 2006; RUST, 2012; WHO, 1985).

Já foram registrados mais de 500 vírus transmitidos por artrópodes, sendo que desses 214 são realmente conhecidos, 287 são prováveis vírus transmitidos por vetores, e já foram relatados mais de 134 que causam doenças em seres humanos, sendo os da família *Flaviviridae*, *Togaviridae* e *Bunyaviridae* os mais alarmantes para economia e saúde pública (GUBLER, 2006; WHO, 1985).

A rápida disseminação dos arbovírus e proliferação dos vetores transmissores, são decorrentes de fatores como urbanização descontrolada, falta de saneamento básico, desmatamentos, mudanças climáticas e como citado anteriormente o alto tráfego de pessoas. (GLUBER, 2006; 2002; JONES *et al.*, 2008; RODRIGUEZ-MORALES *et al.*, 2016; WHO, 1985).



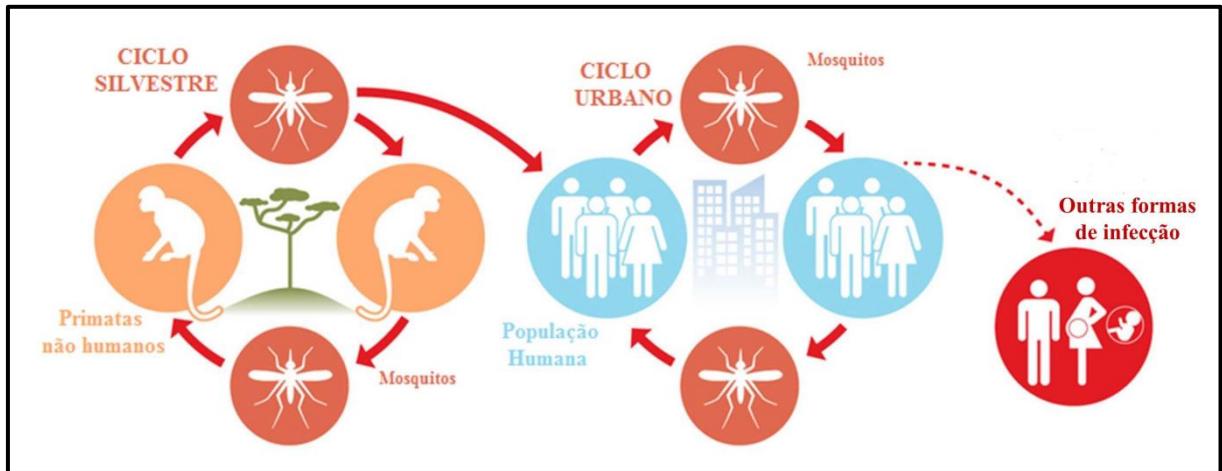
A transmissão dos arbovírus ocorre entre hospedeiros vertebrados e hospedeiros invertebrados, geralmente por mosquito ou carrapato, visto que as principais doenças são transmitidas pelos mosquitos *Anopheles gambiae complex*, *A. funestus*, *A. darlingi*, *Culex quinquefasciatus* e *Aedes aegypti*, sendo o último encontrado em grandes quantidades em locais urbanizados e em países de clima tropical, representa o principal vetor das doenças deste estudo (GITHEKO *et al.*, 2000).

O Alphavírus *Chikungunya virus* (CHIKV) e os Flavivírus como *Dengue virus* (DENV), *Yellow Fever virus* (YFV) e *Zika virus* (ZIKV) são exemplos de arbovírus que podem ser transmitidos pelo ciclo silvestre que ocorre entre primatas não humanos e espécies de mosquitos. Nesse ciclo o vírus da Febre Amarela se diferencia dos demais em relação ao vetor, podendo ser transmitido por espécies do gênero *Haemagogus* (*H. janthinomys* e *H. albomaculatus*) e *Sabethes* (*S. chloropterus*) (BRASIL, 2017; HAMRICK *et al.*, 2017), enquanto as outras arboviroses citadas são transmitidas principalmente pelos subgêneros *Stegomyia* e *Diceromyia* do *Aedes*, como *A. africanus*, *A. luteocephalus*, *A. furcifer* e *A. taylori* (MARCHETTE *et al.*, 1969; PETERSEN *et al.*, 2016).

No ciclo urbano os arbovírus são transmitidos entre humano-mosquito-humano, principalmente pela fêmea das espécies de mosquitos como *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* (FARIA *et al.*, 2016; GRARD *et al.*, 2014), que durante sua alimentação em hospedeiro com carga viral presente em seu sangue, infecta as células que revestem o seu sistema digestório, onde o vírus se multiplica e espalha na corrente sanguínea até as glândulas salivares, transmitindo dessa forma o patógeno durante a alimentação do sangue de um vertebrado sadio (WEAVER & REISEN; 2010).

Algumas espécies do *Aedes* necessitam de pequenas quantidades de água para depositar seus ovos, depois de embrionados se tornam resistentes à secas, o que lhe confere uma grande vantagem em relação a proliferação do vetor (PAIXÃO *et al.*, 2016; RUSSEL *et al.*, 2001). A espécie *Ae. aegypti* reproduz-se em reservatórios de água limpa, contudo, possuem a habilidade de se adaptar a criadouros oriundos das ações antrópicas no ambiente (VAREJÃO *et al.*, 2005). Além disso, por estar adaptado a ambiente urbano seu controle deve ser intermediado por práticas mais intensas e elaboradas (BESERRA *et al.*, 2010). Já o *Ae. albopictus* é de origem asiática e está presente em regiões domésticas com maior vegetação próxima (BRAGA; VALLE, 2007; CHRISTOPHERS *et al.*, 1960; LAMBRECHTS *et al.*, 2010). As formas de transmissão estão ilustradas na FIG. 1.

**Figura 1:** Ciclos de transmissão das arboviroses do estudo (DENV, CHIKV, YFV, ZIKV).



**Legenda:** Infecção por arbovírus transmitidos por mosquito como DENV, ZIKV e FA através do ciclo silvestre e ciclo urbano. **Fonte:** Adaptado do CDC, 2017.

Além da picada do mosquito, outros meios não vetoriais de transmissão foram relatados (BRASIL, 2016). Para ZIKV já foram descritos inúmeros casos da identificação do RNA do vírus no líquido amniótico, em tecidos de abortos espontâneos, no tecido cerebral e em placentas, comprovando que a transmissão pode ocorrer via intrauterina (MARTINES *et al.*, 2016). Pesquisas também mostram a provável infecção por DENV e ZIKV através de relações sexuais (MOREIRA *et al.*, 2017; MUSSO *et al.*, 2015), as quais relataram a presença de RNA viral e o isolamento do vírus no sêmen e no trato genital feminino (PRISANT *et al.*, 2016; MURRAY *et al.*, 2017). Estudos publicados relataram a possível transmissão de DENV, FA, CHIKV e ZIKV através de transfusões sanguíneas (GALLIAN *et al.*, 2014; LEDERMAN *et al.*, 2010; MUSSO & GUBLER, 2016; STRAMER *et al.*, 2009).

Hoje se sabe que mosquitos *Ae. aegypti* e *albopictus* são nativos de florestas da África e Ásia, respectivamente (KRAEMER *et al.*, 2015; PAUPY *et al.*, 2009), e se expandiram nos anos 80 para outras regiões geográficas, facilitando a introdução de vírus circulantes ou novos vírus locais, principalmente em países da Europa, EUA e Brasil. Atualmente esses vetores estão presentes em várias cidades da Ásia, Europa, Oceano Índico e Pacífico, África e nas Américas (CARVALHO *et al.*, 2014; JOURDAIN *et al.*, 2015; MEDLOCK *et al.*, 2012).

No Brasil, país tropical, a predominância de diferentes formações florestais que contemplam variados ecossistemas, favorece a existência e disseminação de vetores de arboviroses, uma vez que esses conseguem sobreviver em diversos ciclos zoonóticos (FIGUEIREDO, 2007). Desde o século XIX o país passa por diferentes ciclos de epidemias

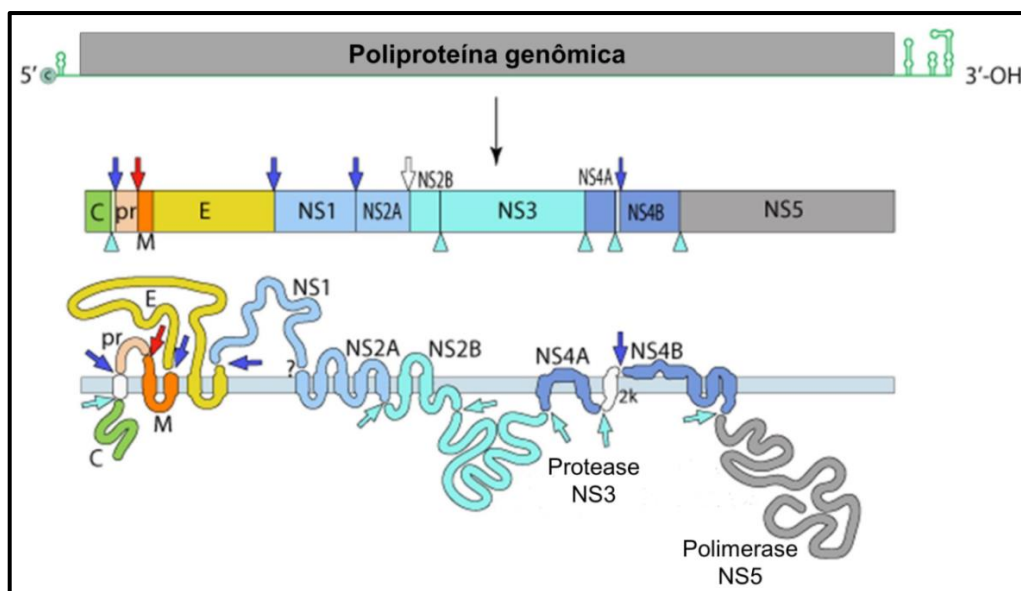
causadas por arbovírus em toda sua extensão, só no ano de 2015 foram registrados 9 vírus circulantes que causam diferentes doenças, entre eles o da encefalite Saint Louis, Mayaro, Oropouche Orthobunyavirus, Nilo Ocidental, DENV, CHIKV e ZIKV (FIGUEIREDO, 2015; LOPES *et al.*, 2014). Entre esses, os casos de infecção mais notificados são de DENV, CHIK, ZIKV e FA, arboviroses objeto deste estudo, cujas epidemiologias, manifestações clínicas e outras características serão descritas a seguir (DONALISIO *et al.*, 2017; LOPES *et al.*, 2014).

## 2.2 Família Flaviviridae, gênero Flavivirus

### 2.2.1 Partícula viral, genoma e ciclo de multiplicação

O DENV, ZIKV e YFV pertencem ao gênero Flavivirus da família Flaviviridae. Esses vírus possuem em torno de 50 nm de diâmetro e formato esférico, com o genoma representado por uma molécula de RNA de cadeia única e sentido positivo com cerca de 10,7 kb de comprimento que codifica uma única poliproteína que é clivada em três proteínas estruturais: Capsídeo (C), Pré-membrana quando a partícula viral está imatura/ membrana quando a partícula viral está madura (prM / M), Envelope (E) e sete proteínas não estruturais (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5) (KUNO *et al.*, 1998; LINDENBACH *et al.*, 2003), como ilustrado na FIG. 2 abaixo.

**Figura 2:** Genoma dos Flavivirus



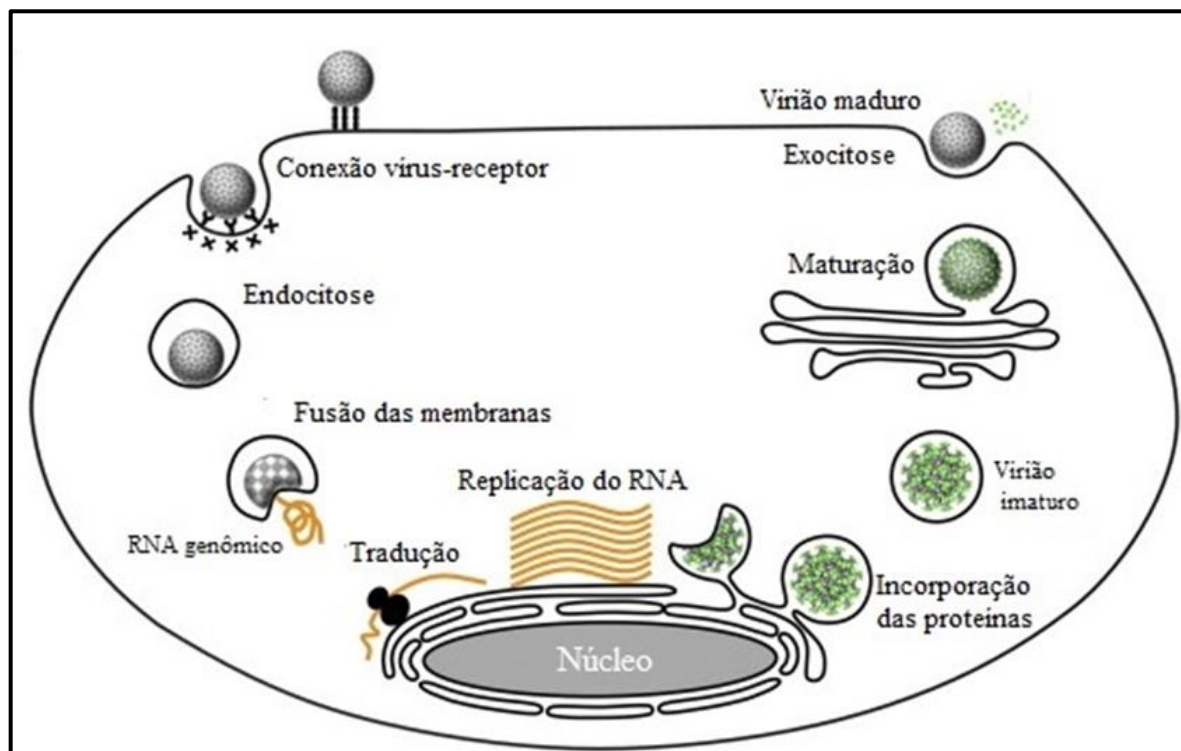
**Legenda:** Estrutura genômica de Flavivirus, quando clivada expressa proteínas estruturais e não estruturais.

**Fonte:** Adaptado de HERNANDEZ *et al.*, 2014.

A multiplicação dos Flavivirus se inicia através da ligação do virion ao receptor específico da célula do hospedeiro. Em seguida ocorre a penetração da partícula viral, a qual se dá pela internalização do receptor localizado na superfície celular através da endocitose

mediada pela proteína E viral. Posteriormente, quando a proteína viral já está localizada nos endossomos, o pH alcalino induz alterações estruturais na partícula, possibilitando a liberação do genoma viral no citoplasma logo após a fusão da membrana do vírus com a membrana endossômica. O remodelamento da membrana intracelular induzido pelo vírus permite a replicação do RNA viral em um complexo contendo RNA, proteínas virais e outras organelas da célula do hospedeiro. No retículo endoplasmático, novas partículas virais começam a ser formadas sendo envolvidas por uma bicamada lipídica incorporada com as proteínas prM e E. A maturação das partículas virais acontece no complexo de Golgi, sofrendo clivagem da proteína prM para produção da proteína M. Em seguida, a partícula viral madura é liberada por exocitose. (SONG *et al.*, 2017; GILLESPIE *et al.*, 2010; HSU *et al.*, 2010). Esse processo descrito está ilustrado na FIG. 3 abaixo.

**Figura 3:** Multiplicação dos Flavivirus no hospedeiro.



**Legenda:** Ciclo de replicação da partícula viral de Flavivirus na célula do hospedeiro. **Fonte:** Adaptado de Song, (2017).

### 2.2.2 Dengue (DENV)

Globalmente a Dengue é considerada a arbovirose mais comum e atinge ao menos 128 países, com registro aproximado de 96 milhões de casos ao ano em países tropicais e subtropicais (WHO, 2017). A infecção é causada pelo DENV e possui quatro sorotipos com variações genéticas e evolutivas diferentes (DENV 1-4) (HOLMES & TWIDDY, 2003).

### 2.2.2.1 Epidemiologia

Não há data exata na literatura do primeiro relato oficial de Dengue, uma vez que seus sintomas são parecidos com outras doenças. O registro mais antigo encontrado é de uma Enciclopédia Médica Chinesa última vez editada em 992 A.D. que associava uma doença parecida a vetores voadores que necessitavam de água (GUBLER, 1998).

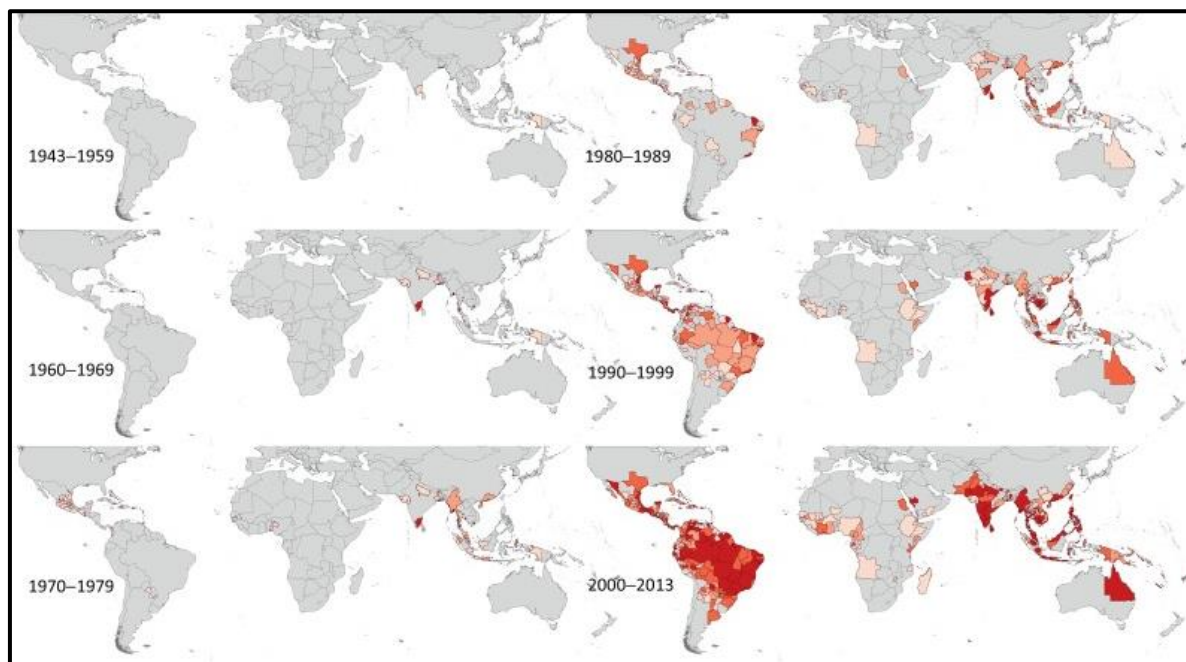
Após a Segunda Guerra Mundial, na Ásia e no Pacífico especificamente, encontravam-se ambientes favoráveis para reprodução do mosquito vetor e consequente transmissão da arbovirose, levando ao aumento de epidemias e causando a co-circulação de diferentes sorotipos do DENV (GUBLER, 1998; SABIN, 1952). Os sorotipos DENV-1 e DENV-2 foram isolados a primeira vez por Sabin, no ano de 1944 de pacientes diagnosticados com a doença (SABIN, 1952).

Entre 1953 e 1954 foi registrado pela primeira vez um surto de Dengue hemorrágica na cidade Manila, Filipinas, e em 1956 Hammon e colaboradores (1973) isolaram das crianças infectadas os sorotipos previamente conhecidos por Sabin e os sorotipos DENV-3 e DENV- 4. Um surto ainda maior aconteceu em 1958 na cidade de Bangkok (HALSTEAD, 1980; HAMMON, 1973; WHO, 1997).

Desde 1967 há relatos na África e Oriente Médio de casos com suspeita de Dengue, mas só a partir dos anos 1990 que foram relatadas epidemias, no Djibuti em 1991, em Jeddah, na Arábia Saudita e no Paquistão, em 1994 (GUBLER, 1998; KODIER *et al.*, 1996; WHO 1997). O sudeste Asiático também foi acometido por uma ampla epidemia no ano de 1970, devido a extensa disseminação do vírus infectando principalmente crianças, causando um grande número de óbitos (HALSTEAD, 1980).

Nos anos 80 houve um aumento da incidência de infecções registradas, resultado de uma maior dispersão de vetores transmissores e do DENV em todo globo, atingindo mais de 60 países (HAYES & GLUBER, 1992; WHO, 1997; 2002). O marco oficial de epidemias nas Américas ocorreu no ano de 1981, embora existam suspeitas de surtos ocorridos no Caribe e no norte da América do Sul nos anos de 1963, 1968-69, 1972-75 e 1977-78 (WHO, 1997). No ano de 2019 foram registrados na América aproximadamente 2.384.029 casos e 949 mortes, sendo os países Nicarágua (1.504 casos por 100.000 hab.), Brasil (939 casos por 100.000 hab.), Honduras (778 casos por 100.000 hab.), Belize (387 casos por 100.000 hab.) e El Salvador (258 casos por 100.000 hab.) os de maior incidência (PAHO, 2019). A FIG. 4 abaixo ilustra o risco de infecção por DENV em escala global no ano de 2012

**Figura 4:** Risco global de DENV



**Legenda:** Áreas representadas em tons de vermelho representam os países que apresentaram casos de infecção por DENV ao longo das décadas. **Fonte:** Adaptado MESSINA *et al.* 2014.

No Brasil, a doença teve sua primeira documentação de epidemia em 1981 no estado de Roraima causado pelos sorotipos DENV-1 e DENV-4 (OSANAI *et al.*, 1983). Em 1986 o vírus reemergiu no estado do Rio de Janeiro com o sorotipo DENV-1 e disseminou para outros estados, causando novas epidemias no estado do Ceará e Alagoas, e em 1987 em Pernambuco (FARES *et al.*, 2015; SCHATZMAYR *et al.*, 1986). O sorotipo DENV-2 foi relatado pela primeira vez em 1990 e o DENV-3 apenas no ano 2000, ambos documentados pela primeira vez no estado do Rio de Janeiro. Atualmente, sabe-se que há a co-circulação dos quatro sorotipos no país (FARES *et al.*, 2015; NOGUEIRA *et al.*, 1990; 2001; NOGUEIRA & EPPINGHAUS, 2011; PAHO, 2019).

Aproximadamente 1.015.124 casos foram confirmados no Brasil em 2019, desses 15.179 foram considerados casos de alerta e 1.111 foram classificados como dengue grave, 591 mortes confirmadas (PAHO, 2019). Os estados com maiores incidências são Minas Gerais (2.239,3 casos/100.000 hab.), Goiás (1.561,6 casos/100.000 hab.), Espírito Santo (1.493,3 casos/100.000 hab.), Mato Grosso do Sul (1.466,1 casos/100.000 hab.) e Distrito Federal (1.194,4 casos/100.000 hab.) (BRASIL, 2019). De acordo com o Ministério da Saúde, houve um aumento de 599,5% de casos prováveis no ano de 2019 se comparado ao ano de 2018.

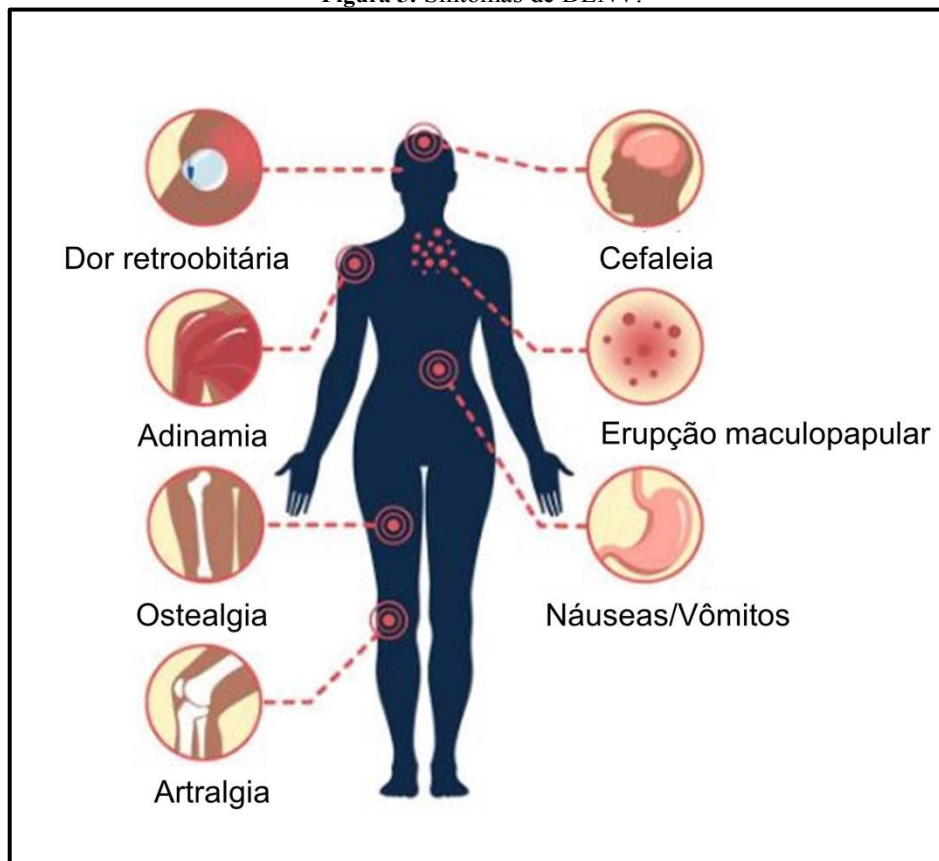
É importante ressaltar que somente os casos confirmados em laboratório são registrados por alguns países, não considerando o número real de infecções ocorrentes. Sendo assim, a Organização Mundial de Saúde (OMS) não recebe notificações de todos os países (WHO, 2017).

#### **2.2.2.2 Manifestações clínicas e complicações**

Após infecção com período de incubação que pode variar de 3 a 7 dias as manifestações clínicas podem apresentar de formas oligossintomáticas, clássica, grave hemorrágica ou com síndrome vascular hipovolêmica. Quando apresentado sintomas, podem ocorrer três fases clínicas, sendo a febril, crítica e a de recuperação (BRASIL, 2016; SIMMONS *et al.*, 2012).

A fase febril é a primeira manifestação, em que o paciente apresenta febre alta (39°C a 40°C) com duração de dois a sete dias, acompanhadas de cefaleia, mialgia, ostealgia, adinamia, artralgia e dor retroorbitária. Também podem ser associadas manifestações como vômito, diarreia e náuseas. A erupção maculopapular transitória acontece em 50% dos casos, podendo ocorrer na face, no tronco, nos braços e na planta dos pés. Nessa fase o paciente se recupera sem maiores complicações (BRASIL, 2016; SIMMONS *et al.*, 2012; WHO, 1997). As manifestações clínicas estão ilustradas na FIG. 5 abaixo.

Figura 5: Sintomas de DENV.



**Legenda:** Sintomas apresentados durante infecções por DENV.

**Fonte:** Adaptado do CDC, 2019.

Entre o terceiro e o sétimo dia, alguns pacientes podem apresentar a fase crítica, caracterizada pela diminuição da febre e surgimento de sinais de alarme, entre os sintomas são observados fortes dores abdominais e contínuas, acúmulo de líquidos (derrame pericárdico, derrame pleural), hipotensão postural e/ou lipotimia, vômitos persistentes, hepatomegalia maior que 2 cm abaixo do rebordo costal, sangramento de mucosa, letargia e/ou irritabilidade, aumento progressivo do hematócrito (BRASIL, 2016; GUZMAN & HARRIS, 2015).

A Dengue Hemorrágica pode apresentar extravasamento do plasma ocasionando choque ou acúmulo de líquidos causando problemas respiratórios, sangramentos e/ou disfunção no coração, pulmões, rins, fígado e Sistema Nervoso Central (SNC) (BRASIL, 2016; SIMMONS *et al.*, 2012; WHO, 1997).

O choque em específico ocorre entre o quarto e quinto dia como consequência de uma alta perda de plasma devido o extravasamento, podendo causar a morte do paciente em até 24 horas. Nos casos em que o choque se estende por um longo período de tempo, observa-se também a hipoperfusão de órgãos causando problemas funcionais, desencadeando a coagulação intravascular e a acidose metabólica, sucedendo-se ou não de hemorragia grave,



levando a diminuição de hematócritos e piorando o estado do paciente (BRASIL, 2016; GUZMAN & HARRIS, 2015; WHO, 1997; 2009).

O risco de hemorragias no parto e pós-parto são maiores nas gestantes infectadas, da mesma forma, essas estão mais propensas a alterações fisiológicas na gravidez, risco de aborto com probabilidade de hemorragias no primeiro trimestre, baixo peso do concepto ao nascer ou parto prematuro quando infectada no último trimestre (BRASIL, 2016).

A fase de recuperação se dá através da reabsorção do plasma que foi extravasado e melhora clínica gradual dos infectados que passaram pela fase crítica. Alguns pacientes podem apresentar exantema com ou sem prurido generalizado (BRASIL, 2016; WHO, 2009).

### **2.2.3 Zika (ZIKV)**

Considerando as arboviroses alvos do presente estudo, o ZIKV, *Flavivirus* da família Flaviviridae, compartilha características genéticas com a DENV. Com altas taxas de mutação molecular e rápida disseminação global, o vírus foi considerado uma pandemia (FARIA *et al.*, 2016; FAUCI *et al.*, 2016; YOKOYAMA; STARMER, 2017).

Acredita-se que o vírus se originou na África Ocidental se espalhando por todo o continente e depois na Ásia, resultando em diferentes linhagens. Somente no Brasil, até o ano de 2016, foram relatadas sete amostras sequencialmente diferentes circulantes (BRASIL, 2016; SHI *et al.*, 2016; WANG *et al.*, 2017).

#### **2.2.3.1 Epidemiologia**

Em 1947 na floresta Zika localizada na Uganda, o vírus foi isolado pela primeira vez do sangue de um macaco Rhesus que servia como sentinela em um estudo sobre Febre Amarela (BRITO, 2015; FARIA *et al.*, 2016; PAIXÃO *et al.*, 2016), e em 1948 na mesma floresta supracitada o vírus foi isolado de mosquitos *A. africanus*. (DICK *et al.*, 1952). A presença de anticorpos no sangue foi relatada em 1952, contudo, somente em 1964 o vírus foi isolado a partir do sangue humano (FAGBAMI, 1979; SIMPSON, 1964).

No ano de 1977, no centro JAVA/Indonésia durante um estudo de febre amarela, foram confirmados em 7 pacientes a infecção por ZIKV (OLSON, 1981). O primeiro surto fora da África e da Ásia foi documentado no Estado de Yap, Estados Federados da Micronésia em abril de 2007, sendo caracterizada por erupções cutâneas, conjuntivite, febre, artralgia e artrite (DUFFY *et al.*, 2009).

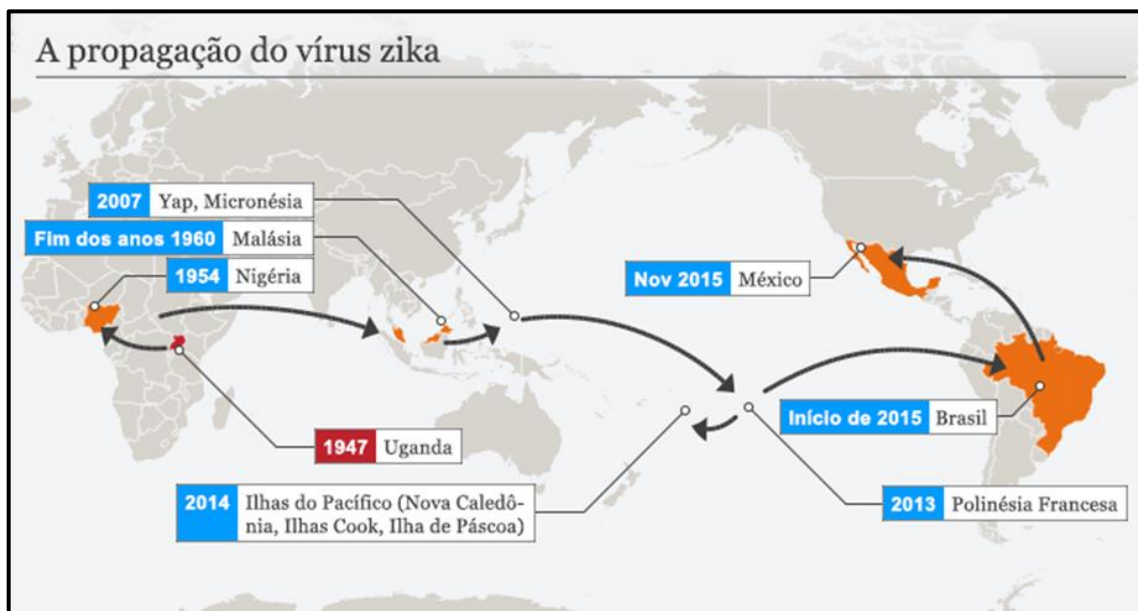
Posteriormente, um surto na Polinésia Francesa entre 2013 e 2014 infectou aproximadamente 11% da população por ZIKV e 70 casos apresentaram complicações

neurológicas ou auto-ímmunes (IOOS *et al.*,2014; FARIA *et al.*, 2016). Surto subsequentes ocorreram em outras ilhas do Pacífico, sendo Nova Caledônia, Ilha de Páscoa e Ilhas Cook em 2014, Samoa em 2015 e em 2016 ocorreu na ilha Samoa Americana (PETERSEN *et al.*, 2016; KINDHAUSER *et al.*, 2016).

Em março de 2015 o ZIKV foi identificado na América, com um surto que ocorreu no Brasil, um ano depois o vírus já havia se espalhado para outros 33 países da América (FARIA *et al.*, 2016).

Em outubro do ano de 2015 o Ministério da Saúde do Brasil notificou a relação de ZIKV com a ocorrência de microcefalia congênita no país, a infecção pelo vírus também foi relacionada à síndrome neurológica, como a Síndrome de Guillain-Barré (OLIVEIRA *et al.*, 2015; CARDOSO *et al.*, 2015; PETERSEN *et al.*, 2016). Com o aumento dos casos de microcefalia associado ao vírus, em fevereiro de 2016 a Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou o fato como uma emergência de saúde pública de importância internacional (FARIA *et al.*, 2016; KINDHAUSER *et al.*, 2016). A FIG. 9 abaixo ilustra a cronologia da disseminação do ZIKV.

**Figura 6:** Propagação do ZIKV.



**Legenda:** Mapa representativo da propagação do ZIKV globalmente desde a descoberta do vírus na Uganda.

**Fonte:** Universidade de Lancaster.

### 2.2.3.2 Manifestações clínicas e complicações

Até o surto ocorrente na Polinésia Francesa entre 2013 e 2014, o ZIKV era considerado uma doença exantemática benigna com sintomas leves e limitados, sendo após a epidemia associado a quadros neurológicos (DONASILIO *et al.*, 2007).

A infecção por ZIKV pode desencadear em humanos sintomas que se assemelham aos de gripe, como febre, erupção cutânea, cefaleia, dor nas articulações, conjuntivite (olhos vermelhos) e mialgia (CDC, 2017). Os sintomas se manifestam normalmente durante o período de viremia e naturalmente cessam dentro de uma semana, contudo a artralgia pode persistir por mais tempo (DONASILIO *et al.*, 2007; FOY *et al.*, 2011). Mais recentemente, a infecção pelo ZIKV tem sido associada à microcefalia, complicações neurológicas e oftalmológicas (SAIZ *et al.*, 2017; PETERSEN *et al.*, 2016). É importante ressaltar que muitos casos de infecção pelo vírus são assintomáticos e apenas 18-57% são sintomáticos com incubação de 4-10 dias.

A baixa disponibilidade de testes para o ZIKV é um grande problema para diagnosticar a infecção, outra dificuldade em relação ao diagnóstico é a semelhança na reação sorológica com outros arbovírus (DENV, YFV, CHIKV), causando resultados falso-positivos e muitas vezes sendo diagnosticado de forma incorreta (DONALD *et al.*, 2016; PETERSEN *et al.*, 2016).

#### **2.2.4 Febre Amarela**

A FA é uma arbovirose febril aguda, também pertencente ao gênero *Flavivirus*. Atualmente não há registros da circulação do vírus no ciclo urbano, mas são relatadas epidemias ocasionadas por transmissões através do ciclo silvestre infectando humanos que adentram nas áreas enzoóticas. O ‘‘amarelo’’ no nome está associado à cor amarela nos olhos e na pele devido à icterícia que é apresentada pelos doentes (BRASIL, 2017).

O YFV possui mais de sete genótipos, sendo cinco deles localizados África e dois nas Américas. Há teorias de que o primeiro genótipo se originou de um flavivírus ancestral a mais de 3500 anos atrás (BRYANT *et al.*, 2007). Apesar dos diferentes genótipos, a FA possui um único sorotipo que promoveu a criação da vacina (17D) e possibilitou a extinção do ciclo urbano e controle do silvestre (MONATH, 2005).

Dentre as arboviroses desse estudo, é a única que está presente apenas no ciclo silvestre, os últimos registros de infecções urbanas nas Américas ocorreram no ano de 1954 em Trindad e na cidade Santa Cruz de la Sierra localizada na Bolívia em 1997 (BRASIL, 2004).

##### **2.2.4.1 Epidemiologia**

Considerando as arboviroses do presente estudo, a FA possui um dos registros mais antigos datado em 1495, um surto que levou a morte de um grande número de Europeus

e indígenas que se refugiaram em florestas e montanhas na ilha Espanhola (Haiti) durante a batalha Vega-Real (BRASIL, 1969). Doença semelhante foi relatada em um manuscrito Maia na cidade de Yucátan, México em 1648 em que descreviam a doença originária do fundo da selva, se espalhando pela povoação provocando vômitos de sangue e levando os habitantes a óbito (BRASIL, 1969; MONATH, 2005). No ano de 1686 suspeitou-se que a doença havia se originado na África, mas apenas em 1778 que foi descrito uma epidemia no continente (BRASIL, 1969).

Casos de infecções pelo vírus foram observados em diferentes continentes principalmente Europa e América. A partir 1620 no Caribe ocorreram aproximadamente 83 epidemias durante os 280 anos seguintes. Também na América em 1699, houveram registros de casos na Filadélfia e Charleston. Em 1700 epidemias foram relatadas na Europa e trinta anos depois, no ano de 1730 na Península Ibérica, com registros de pacientes que evoluíram para óbito (FERREIRA *et al.*, 2011). Posteriormente, no ano de 1793 e 1878 ocorreram novos surtos no estado da Pensilvânia, cidade Filadélfia (LUCEY & GOSTIN, 2016). No início do século XX, Walter Reed observou que a doença era transmitida para seres humanos através do *Aedes Aegypti*, contribuindo para campanhas de controle do vetor (REED *et al.*, 2001).

No Brasil o primeiro registro de FA ocorreu em 1685 na cidade de Recife, estado Pernambuco, onde o vírus permaneceu aproximadamente por 10 anos causando epidemias esporádicas (BRASIL, 2004). O YFV se disseminou para outras localidades do país, provocando mais de 25 mil infecções e 900 mortes na cidade de Salvador de 1686 até 1692, mais de um século depois em 1849 foi registrado um novo surto na cidade e foi associada a chegada de um navio americano (BRASIL, 1969). Cidades portuárias começaram a ter casos de infecção, chegando ao Rio de Janeiro em 1850 levando 4.160 pessoas a óbito. A doença se tornou um grande problema de saúde pública no país e em 1886 foi criada a Inspetoria Geral de Higiene e Inspetoria Geral de Saúde dos Portos para criar medidas profiláticas (BENCHIMOL, 2001; VASCONCELOS *et al.*, 2011).

Novos surtos foram observados de 1800 a 1899 em praticamente todo território brasileiro, do Amazonas ao Rio Grande do Sul. Dois anos depois, em 1901, Emílio Ribas promoveu a primeira campanha contra o vetor no país (RIBAS, 1901), seguido por Oswaldo Cruz que criou o Serviço de Profilaxia da Febre Amarela em 1903 quando se tornou diretor geral de saúde pública (BENCHIMOL, 2001; BRASIL, 2004). Além das medidas profiláticas, estudos epidemiológicos realizados em 1932 durante uma epidemia no Vale do Canaã em

Espírito Santo descreveu o ciclo silvestre do YFV, o que contribuiu para o controle do *Aedes Aegypti* (SOPER *et al.*, 1933).

Várias tentativas de criação da vacina para controle da doença foram feitas, mas somente em 1936 em Nova York começaram os estudos em humanos com a cepa 17D (BENCHIMOL, 2001; THEILER & SMITH, 1937). Os bons resultados da aplicação do antídoto fizeram com que em 1937, Hugh H. Smith iniciasse pesquisas com a vacina no Brasil e em março do mesmo ano iniciou-se a aplicação em larga escala em municípios de Minas Gerais que haviam sido infectados (SOPER & SMITH, 1938). Posteriormente, em 1942 foi registrado o último caso de FA urbana no Brasil na cidade de Sena Madureira, Acre (BRASIL, 2004).

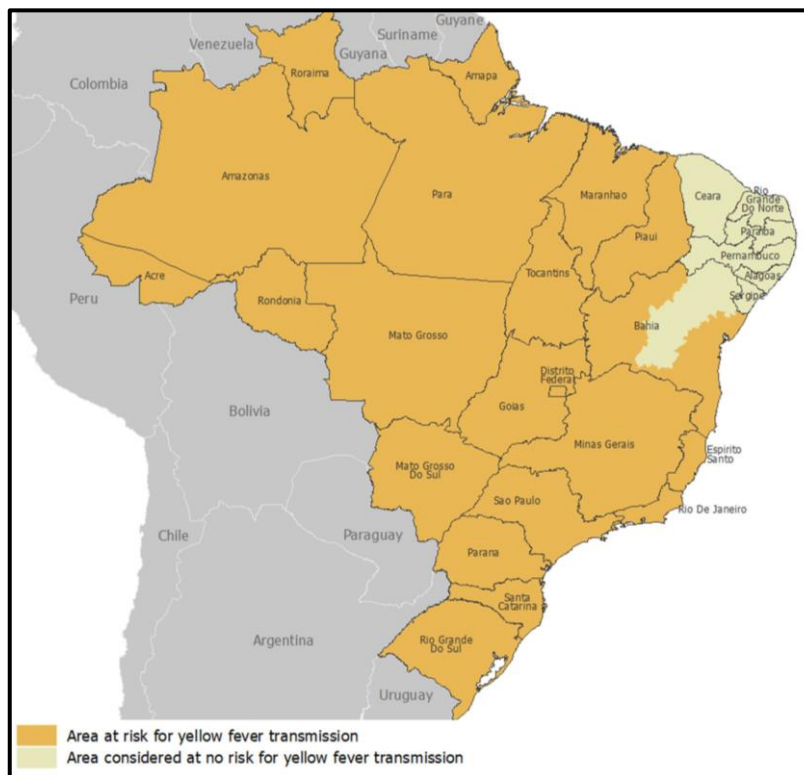
Apesar da vacinação e campanhas profiláticas terem contribuído para o controle de epidemias e erradicado o ciclo urbano nos 50 anos seguintes no Brasil, à reintrodução do vírus no país possibilitou a transmissão através do ciclo silvestre em todos os estados (VASCONCELOS *et al.*, 2001), como em 1952 nos estados São Paulo, Minas Gerais, Paraná, Goiás e Acre. Em 1973 no estado de Goiás atingindo 36 municípios e 38 infectados que evoluíram para óbito (BRASIL, 2004; PINHEIRO *et al.*, 1978). Uma década depois, no ano de 1984 um surto na região norte notificou 45 casos e 28 mortes. Mais tarde, de 1993 a 1994 ocorreu uma nova epidemia no estado do Maranhão e dois anos depois no Amazonas (DÉGALLIER *et al.*, 1996; MONDET *et al.*, 1996; VASCONCELOS *et al.*, 2001). Subsequente, de 1998 a 2000 foram registradas epidemias recorrentes no estado do Pará, Tocantins e Goiás. Entre 2001 e 2003 sucederam surtos em Minas Gerais, inicialmente atingindo a região centro oeste com 32 casos e desses 16 evoluíram para óbito e no ano de 2002 outro surto ocorreu na região nordeste do estado no Vale do Jequitinhonha com 63 pacientes infectados e 23 mortes (BRASIL, 2004). Entre os anos 2002 a 2008, observou-se a expansão de áreas com circulação de FA do leste e sul do país (BRASIL, 2009).

Entre julho de 2014 a dezembro de 2016, ocorreu um novo episódio de reemergência do YFV na região extra-amazônica, com registros de epizootias no estado de Minas Gerais (BRASIL, 2017, POSSAS *et al.*, 2018). Em dezembro de 2016, iniciou-se no Brasil uma das mais significativas epidemias de FA silvestre já reportadas, com ocorrência de casos em regiões que historicamente apresentavam pouca ou nenhuma circulação do vírus.

No ano de 2019 foram notificados no Brasil 1.281 casos, apenas 82 foram confirmados e desses 14 evoluíram para óbito. No estado de São Paulo foram confirmados o maior número de casos (68), e na região sul do país foram registrados 13 pacientes infectados

no estado do Paraná e 1 em Santa Catarina. A FIG. 10 abaixo demonstra as áreas de risco de infecção por YFV no país.

**Figura 10:** Áreas de risco para YFV no Brasil.



**Legenda:** Mapa representativo das áreas de risco para infecção por YFV.

**Fonte:** European Centre for Disease Prevention and Control, 2019.

#### 2.2.4.2 Manifestações clínicas e complicações

O período de incubação do vírus varia de 3 a 6 dias, podendo se estender até 15 dias, apresentando um período de viremia entre 24 horas antes do começo das manifestações clínicas até 5 dias depois que se iniciam (BRASIL, 2017).

As manifestações clínicas podem variar de assintomáticas a febre hemorrágica que em alguns casos evoluem para óbito. Os primeiros sintomas, quando apresentados, são febre de início súbito maior que 39°C, calafrios, cefaleia, tontura, mal estar, dor muscular e náuseas. Também podem ser observados braquicardia acompanhados de febre e congestão conjutival (BRASIL, 2004; MONATH, 2001; PAHO, 2005).

Entre o terceiro ao quinto dia de sintomatologia sucede-se o período de remissão, nessa fase os sintomas cessam e há uma melhora do paciente. No entanto, em 24 horas de recuperação, 15% a 25% dos casos evoluem para o período de intoxicação, caracterizada pelo deslocamento do vírus da circulação sanguínea para o fígado, baço, linfonodos e/ou outros

órgãos, também é observado nessa fase o comprometimento do funcionamento dos mesmos afetando diferentes sistemas (BRASIL, 2004; VASCONCELOS, 2002). Sintomas como febre, icterícia, dor epigástrica, vômitos e manifestações hemorrágicas (epistaxe, hematêmese, sangramentos na pele e metrorragia) (BRASIL, 2017; PAHO, 2005). Após o surgimento dos sintomas do período de intoxicação, entre os sexto e o décimo dia, o paciente infectado pode recuperar ou apresentar sinais de fase terminal como: hipotensão, agitação psicomotora, acidose metabólica, estupor e coma (MONATH, 2001; PAHO, 2005).

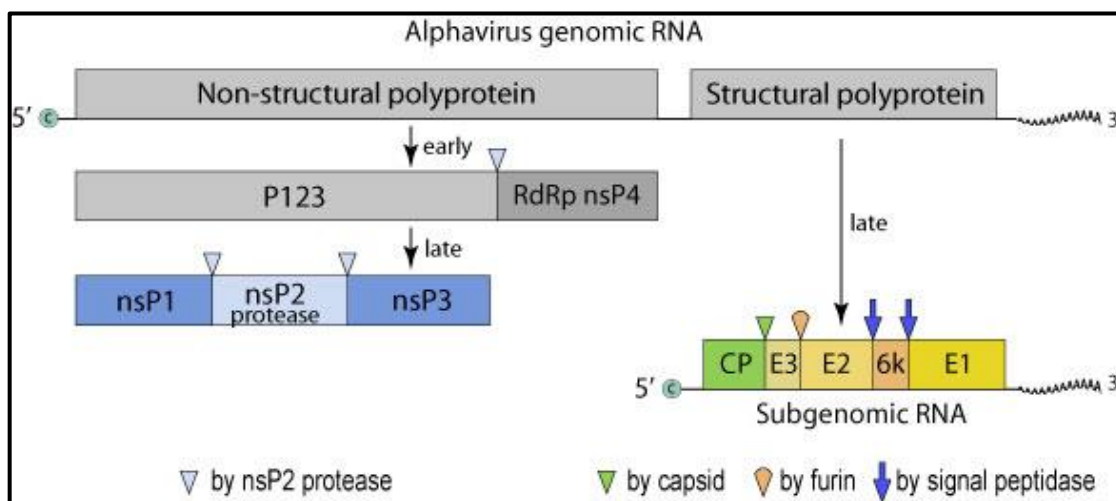
Algumas anormalidades podem ser diagnosticadas, como miocardite, arritmia, pneumonia bacteriana e sepse. Raros casos podem ser fulminantes, apresentando ou não complicações hepatorreais (BRASIL, 2004).

## 2.3 Família Togaviridae, gênero Alphavirus

### 2.3.1 Partícula viral, genoma e ciclo de multiplicação

O CHIKV é um Alphavírus pertencente à família Togaviridae, esses vírus possuem 65 a 70 nm, são esféricos e com genoma de RNA sentido positivo, com tamanho aproximado de 10 a 12 kb. O seu genoma codifica 10 proteínas distintas, sendo 4 não estruturais (nsP1, nsP2, nsP3 e nsP4) que participam na replicação do genoma e 5 estruturais (C, E3, E2, 6K /TF e E1) que formam o vírus, ilustradas na FIG. 6 (CHENG *et al.*, 1995; STRAUS & STRAUSS, 1994; ZHANG *et al.*, 2011).

**Figura 8:** Genoma viral Alphavirus.



**Legenda:** Genoma de Alphavirus, demonstrando a clivagem das proteínas não estruturais e estruturais. **Fonte:** HERNANDEZ *et al.*, 2014.

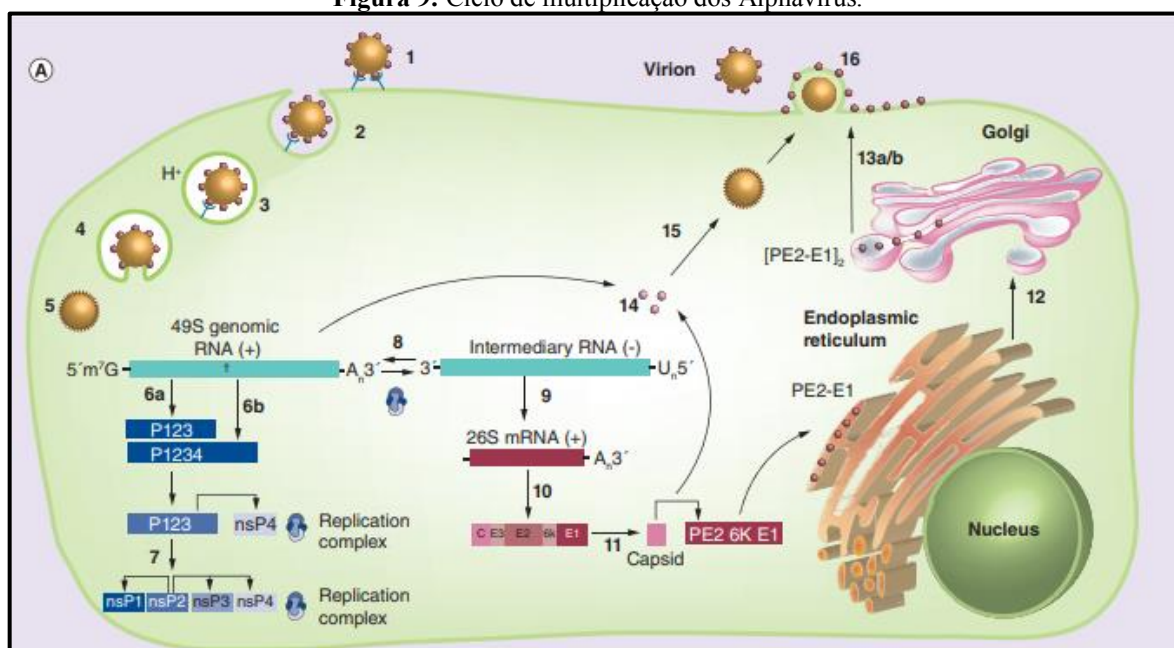
Estudos filogenéticos revelaram a existência de quatro genótipos distintos: Oeste Africano, Leste-Centro-Sul Africano (ECSA) e Asiático. Isolados de surtos ocorridos no

Oceano Índico e na Ásia entre os anos 2005 e 2011 evidenciaram que a linhagem Oceano Índico emergiu a partir do genótipo ECSA. As amostras dessa nova linhagem desenvolveram mutações na glicoproteína do envelope viral E1 e E2, se adaptando ao novo artrópode, causando infecções no *Aedes albopictus* e conseqüentemente aumentando a transmissão do CHIKV, provocando novos surtos (FARIA *et al.*, 2016; TSETSARKIN *et al.*, 2014).

A multiplicação desses vírus ocorre através da ligação da partícula viral ao receptor específico da célula hospedeira através da proteína E2. Após a ligação acontece a endocitose pela via independente de clatrina e dependente de Eps15 e colesterol. A partícula viral então penetra no endossomo, onde encontra um ambiente de baixo pH, iniciando a fusão da membrana do envelope viral e da membrana endossômica através da proteína E1. Em seguida, o RNA viral é liberado e traduzido em uma poliproteína (P1234) que é clivada por uma protease para dar origem a proteínas não estruturais, produzindo P123 e ns4, formando o complexo de replicação viral inicial que sintetiza um RNA intermediário de sentido negativo que funciona como molde para síntese dos RNAs subgenômicos 26S, esse RNA será então clivado originando as proteínas estruturais. Um complexo heterodímero é formado e transportado pelo retículo endoplasmático e complexo de Golgi para maturação, logo depois é realizada a formação da partícula viral associada ao nucleocapsídeo e RNA viral, sendo recrutados para a membrana plasmática repleta de glicoproteínas maduras do envelope, dando origem ao envelope do virion e liberação por exocitose (KIELIAN *et al.*, 2010; MOTA *et al.*, 2015; WONG & CHU, 2018). Esse processo está ilustrado na FIG. 7 abaixo.



**Figura 9:** Ciclo de multiplicação dos Alphavirus.



**Legenda:** 1: ligação ao receptor de membrana. 2: endocitose. 3: acidificação do vacúolo. 4: fusão de membranas. 5: desmontagem. 6: tradução. 7: processamento. 8 e 9: transcrição. 10: tradução. 11: processamento. 12: processamento de maturação de glicoproteínas. 13: transporte de glicoproteínas processadas e ativação por furina. 14: empacotamento do genoma viral. 15: montagem do nucleocapsídeo. 16: brotamento de novas partículas virais. Modelo de replicação em células de vertebrado e invertebrado.

**Fonte:** Mota *et al.* (2015).

## 2.3.2 Chikungunya (CHIKV)

O nome Chikungunya significa “aquele que se curva”, na língua Makonde, falada no sudeste da Tanzânia e no norte do Moçambique. Refere-se à postura encurvada adquirida pelos pacientes acometidos com a artralgia característica (BRASIL, 2017).

### 2.3.2.1 Epidemiologia

Em 1952 ocorreu na África, no país Tanzânia, o primeiro isolamento do CHIKV (ROBINSON, 1955). O primeiro surto identificado aconteceu no ano de 1956 na África do Sul e em 1958 na cidade Bangkok capital da Tailândia (HALSTEAD *et al.*, 1966; 1969).

Novos surtos consecutivos com intervalos de 7 a 20 anos foram documentados entre as décadas de 60 e 80 em países da África e Ásia, com registros na Indonésia, Índia, República Democrática do Congo, Sudão, República Centro-Africana, Malawi, Senegal, Uganda, Zimbábue, Quênia, Burundi, Costa do Marfim, Angola, Guiné, África do Sul e Nigéria. Diversos países passaram a ser considerados locais ativos de infecção pelo vírus (MYERS & CAREY, 1967; POWERS & LOGUE, 2007; RENAULT *et al.*, 2012).

A partir do ano de 1986 ocorreu a reemergência do vírus em diversos lugares, com registros no Senegal, Costa do Marfim (1996/1997), Indonésia (2003), Quênia (2004), Camões (2005), também foram registrados surtos nas Ilhas Seychelles, Maurícias,

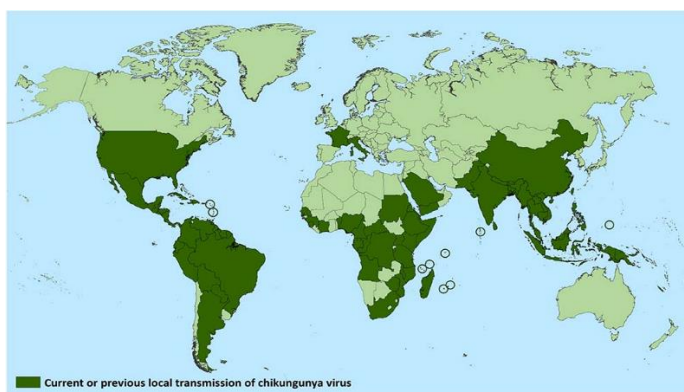
Madagáscar, Réunion (2005 a 2006) e o vírus propagou-se para 17 estados da Índia causando aproximadamente 1,4 milhões de infecções (2006/2007) (DIALLO *et al.*, 1999; PORTER *et al.*, 2004; SAXENA *et al.*, 2006; SERGON *et al.*, 2007).

Até o ano de 2007 sucederam novas epidemias com documentações nas ilhas do Oceano Índico, Guiné, norte da Tanzânia, Sudão, Gabão, Camarões, Mbeya e houveram notificações de casos em novas áreas como em Hong Kong, Canadá, Taiwan, Sri Lanka, EUA e Europa (BORGHERINI *et al.*, 2007; DEMANOU *et al.*, 2010; GOULD *et al.*, 2008; HERTZ *et al.*, 2012; POWERS & LOGUE, 2007; SERGON *et al.*, 2008; WARNER *et al.*, 2006). O primeiro surto documentado na Europa ocorreu no ano de 2007 em Emília Romanha na Itália, onde inicialmente foi identificado o vírus em transmissão autóctone e mais de 200 casos foram notificados (LIUMBRUNO *et al.*, 2008).

Mais tarde no ano de 2008, 45 casos foram confirmados na Tailândia, em 2009 e 2010 foram registrados novamente casos na Ilha da Réunion, Índia, Indonésia, Myanmar, Tailândia, Maldivas (BRASIL, 2014). Em 2011 uma nova epidemia aconteceu na República Democrática do Congo registrando 350 infecções, em Brazzaville com 7.014 casos e se disseminou atingindo Pool com 460 casos (JENTES *et al.*, 2010; IRIN, 2011). Subsequente, nos anos de 2010, 2013 e 2014 ocorreram surtos epidêmicos na França (DELISLE *et al.*, 2015).

A primeira transmissão por CHIKV nas Américas ocorreu em dezembro de 2013 no Caribe, o vírus se espalhou e a partir de 2014 foram identificados surtos do vírus em países da América do Norte, América Central e América do Sul (Guiana Francesa, Haiti, Miami, Guiana, Ilhas Virgens Britânicas, São Bartolomeu, Dominica, e Porto Rico) (LEPARC-GOFFARD *et al.* 2014, WAHID *et al.*, 2017). Casos importados foram identificados anteriormente em 2010 no Brasil, EUA, Taiwan (BRASIL, 2014). A FIG. 8 abaixo ilustra todos os países que já registraram casos confirmados de CHIKV até o ano de 2019.

**Figura 10:** Países que já reportaram casos de CHIKV até o ano de 2019.



**Legenda:** Mapa representativo das áreas de risco para infecção por CHIKV.

**Fonte:** CDC, 2019.

Em setembro de 2014 no Brasil, foi confirmada a transmissão autóctone da linhagem Asiática que circulava no Caribe, no estado do Amapá. Na semana seguinte foi detectada a linhagem ECSA no estado da Bahia na cidade Feira de Santana, desde então diversos casos foram notificados no país de infecções causadas pelos dois genótipos cocirculantes (BRASIL, 2017; NUNES *et al.*, 2015).

Em 2019, até o mês de setembro foram registrados 110.627 casos prováveis de CHIKV no Brasil, sendo os estados mais afetados o do Rio de Janeiro (447,4 casos/100.000 hab.), Rio Grande do Norte (255,8 casos/100.000 hab.) e Pará (40,2 casos/100.000 hab.) e 40 óbitos foram confirmados (34 no Rio de Janeiro, 2 Rio Grande do Norte, 1 na Bahia, 1 na Paraíba, 1 no Distrito Federal, 1 em Minas Gerais), sendo 22 do sexo masculino e 18 feminino (BRASIL, 2019).

O estado de Minas Gerais teve registro dos primeiros casos autóctones de CHIKV em 2016. O ano com maior número de casos prováveis ocorreu em 2017, com uma porcentagem maior de pessoas infectadas nas Unidades Regionais de Saúde (URS's) de Governador Valadares, Teófilo Otoni, Pedra Azul e Coronel Fabriciano. Atualmente, até novembro de 2019, registraram-se 2.831 casos, desses 58 são gestantes (SESMG, 2019).

### **2.3.2.2 Manifestações clínicas e complicações**

Uma vez infectado pelo vírus através da picada do mosquito, o CHIKV apresenta um período de incubação de 3 a 7 dias, com viremia de duração de até 10 dias. Sendo que 70% dos indivíduos infectados apresentam sintomas, podendo manifestar nas fases aguda, subaguda e crônica (BORGHERINI *et al.*, 2007; BRASIL, 2017).

A fase aguda, também conhecida como fase febril, é caracterizada por uma duração aproximada de 3 a 10 dias, em que o primeiro sintoma apresentado pelo paciente é febre de início súbito em torno de 39°C, fortes dores nas articulações acompanhadas de dores nas costas, cefaleia, fadiga e erupção maculopapular que atinge torno de 50% dos infectados, surge entre o segundo e quinto dia após início da febre. Os indivíduos doentes também podem apresentar dor retro-ocular, calafrios, conjuntivite sem secreção, faringite, náusea, vômitos, diarreia, dor abdominal e neurite (BRASIL, 2017; TAUBITZ *et al.*, 2007).

Aproximadamente 73-80% dos pacientes apresentam agravamento ou persistência dos sintomas articulares, entre eles podem ser citados a poliartrite distal, aumento das dores sentidas nas articulações durante a fase febril e tenossinovite hipertrófica subaguda

nas mãos, punhos e tornozelos, tais sintomas caracterizam a fase subaguda (BBRASIL, 2017; PIALOUX *et al.*,2007).

Os sintomas podem persistir durante 4 meses em 33% dos pacientes infectados por CHIKV, 20 meses em 15% e 3-6 anos em 10%, normalmente são apresentados dores nas articulações afetadas, movimentos limitados, dores nas regiões sacroilíaca, lombossacral, cervical e temporomandibulares. Quando ultrapassam mais de 3 meses se inicia a fase crônica, com maiores riscos de prevalência em infectados acima de 45 anos, do sexo feminino, que possuíram lesões intensas na fase aguda e problemas articulares já existentes. Também podem ser descritos nessa fase: fadiga, cefaleia, alopecia, bursite, tenossinovite, disestesia, parestesia, déficit de atenção, alterações de humor, distúrbio do sono, alterações da memória, turvação visual e depressão (BRASIL, 2017; CDC, 2011).

Outras manifestações mais atípicas e graves podem acometer os indivíduos infectados pelo CHIKV, atingindo o sistema nervoso e causando meningoencefalite, encefalopatia, convulsão, síndrome de Guillain-Barré, síndrome cerebelar, paresias, paralisias e neuropatias. Além do sistema nervoso, pode afetar o olho ocasionando neurite óptica, iridociclite, episclerite, retinite e uveíte. No coração observa-se manifestações como miocardite, pericardite, insuficiência cardíaca, arritmia, instabilidade hemodinâmica e nos rins pode ocorrer insuficiência renal aguda e nefrite. Outros sintomas como discrasia sanguínea, pneumonia, insuficiência respiratória, hepatite, pancreatite, síndrome da secreção inapropriada do hormônio antidiurético, insuficiência adrenal, hiperpigmentação por fotossensibilidade, dermatoses vesiculobolhosas e ulcerações aftosa-like também podem ser observados. Geralmente as formas graves ocorrem em idosos acima dos 65 anos, crianças, pacientes que possuem diabetes, asma, insuficiência cardíaca, alcoolismo, anemia falciforme, talassemia e/ou hipertensão arterial sistêmica, e os pacientes infectados que fizeram uso de fármacos como aspirina, paracetamol e anti-inflamatórios. Alguns casos podem evoluir para óbito (BRASIL, 2017; CDC, 2011; QUEYRIAUX *et al.*,2008).

Em gestantes há 50% de chances de transmitir o vírus para o recém-nascido via transplacentária caso ela esteja infectada durante o intraparto. Existem poucos relatos de abortos espontâneos associados ao CHIKV (BRASIL, 2017).

## **2.4 Diagnóstico laboratorial das arboviroses**

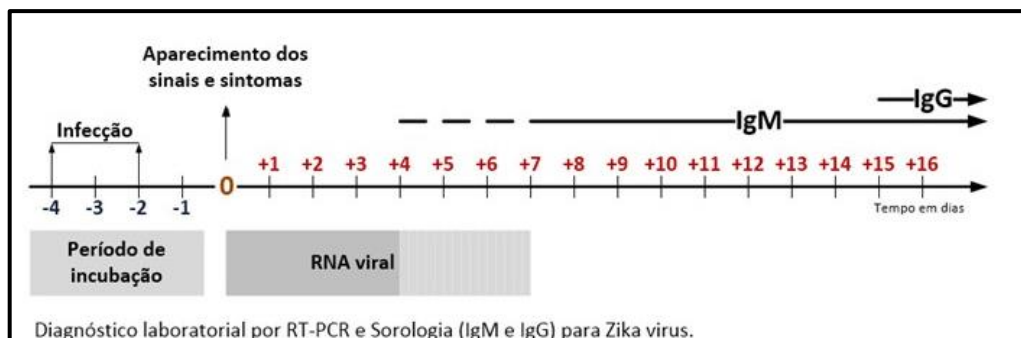
Estudos demonstram que há dificuldade na detecção dos diferentes flavivírus devido à reação cruzada nos testes sorológicos e semelhanças genômicas. Já foi demonstrado em diferentes pesquisas que o grau de semelhanças antigênicas entre ZIKV e DENV são um

grande problema para o diagnóstico correto (DEJNIRATTISAI *et al.*, 2016; FELIX *et al.*, 2017; LANCIOTTI *et al.*, 2007).

O diagnóstico laboratorial para a dengue é realizado de acordo com o tempo de infecção do paciente. Os testes mais recomendados são o RT-PCR para detecção do ácido nucleico viral, detecção da proteína não estrutural presente no genoma do vírus (NS1) e/ou imunohistoquímica até o sexto dia após o aparecimento dos sintomas (BRASIL, 2016; SIMMONS *et al.*, 2012). Geralmente a partir do sexto dia após o início dos sintomas é recomendado o ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) para detecção de anticorpos IgM (BRASIL, 2016; WHO, 1997).

As técnicas utilizadas para diagnóstico do ZIKV são semelhantes ao diagnóstico de DENV, no entanto, na técnica de PCR além da detecção da proteína NS1 no sangue/soro em até quatro dias após o surgimento dos sintomas, outras proteínas não estruturais como NS3 e NS5 e a proteína estrutural E podem ser utilizadas para detecção por serem regiões altamente conservadas no genoma do vírus (MUSSO & GLUBER, 2016). Além da detecção através do soro/sangue, é possível realizá-la em até quinze dias após aparecimento dos sintomas por RT-PCR através da urina que apresenta cargas de RNA viral que variam de  $3,8/10^3$  a  $2,2/10^8$  cópias/ml, do sêmen com as cargas de  $1,1/10^7$  a  $2,9/10^7$  cópias/ml e do leite materno com cargas de  $2,9/10^4$  a  $2/10^6$  cópias/ml. Já o teste sorológico ELISA é feito do sexto dia até doze semanas após o aparecimento dos sintomas para detecção de IgM e após quinze dias para anticorpos IgG (BESNARD *et al.*, 2014; CDC, 2019; MUSSO *et al.*, 2015). Outra técnica utilizada é o teste de neutralização por redução de placa (PRNT) que mede os anticorpos neutralizantes do vírus, utilizado principalmente para confirmação do IgM quando há reação cruzada (CDC, 2019). A FIG. 11 abaixo ilustra o período de detecção do ZIKV para os testes laboratoriais.

**Figura 11:** Período de detecção do ZIKV para testes laboratoriais.



**Mapa:** Período em dias para detecção viral e/ou sorológica dos testes utilizados no diagnóstico laboratorial de ZIKV. **Fonte:** Brasil, 2014.

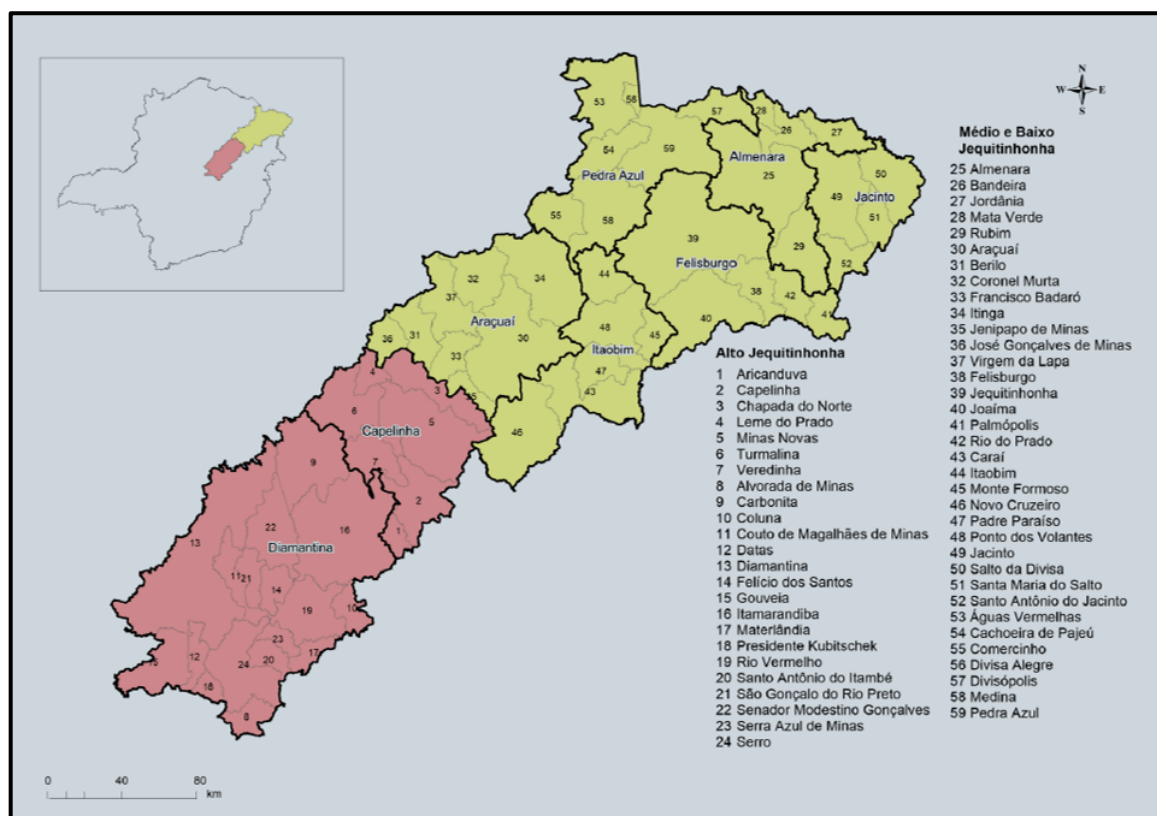
O YFV é detectado igualmente aos outros flavivírus (DENV e ZIKV), em que a técnica RT-PCR é recomendada até o quinto dia após o surgimento dos sintomas, mas o teste mais difundido é a detecção de IgM por ELISA após o sétimo dia e em alguns casos pode ser detectado em até 90 dias (BRASIL, 2004; VASCONCELOS & MONATH, 2015). Outras técnicas sorológicas também podem ser recomendadas como de inibição de hemaglutinação (HI), fixação de complemento e testes de neutralização. O diagnóstico histopatológico é realizado quando o paciente evolui para óbito, sendo necessária a retirada de uma amostra do fígado, rim, coração e/ou linfonodos (BRASIL, 2004; PAHO, 2005). A técnica de amplificação isotérmica mediada por *loop* (LAMP) já foi relatada anteriormente e pode ser utilizada em áreas mais remotas por não necessitar de máquinas (OLE KWALLAH *et al.*, 2013; VASCONCELOS & MONATH, 2015).

Os testes para CHIKV são utilizados para detectar as infecções nos diferentes estágios da doença, mas pesquisas buscam aprimorar as técnicas para um melhor diagnóstico (JOHNSON *et al.*, 2017). Os testes utilizados para diagnóstico molecular incluem RT-PCR, o qual amplifica fragmentos do nsP1, nsP2, nsP3, nsP4 ou E1 que compõem o genoma do vírus e a técnica de LAMP (CDC, 2011; JOHNSON *et al.*, 2017). Além do teste sorológico ELISA, outros como HI e PRNT também podem ser utilizadas nos casos de infecção (BRASIL, 2017; JOHNSON *et al.*, 2017). O isolamento do vírus em até oito dias após os sintomas é comumente utilizado para diagnóstico, a inoculação do CHIKV em diversas linhagens celulares ou em camundongos ocasiona efeitos citopáticos típicos da doença, mas o isolamento deve ser confirmado por outras técnicas como o RT-PCR (BRASIL, 2014; 2017).

## **2.5 Vale do Jequitinhonha e Diamantina**

O Vale do Jequitinhonha é formado por 55 municípios, divide-se em parte alta, média e baixa, ilustradas na FIG. 12 abaixo, estando localizado entre o norte e nordeste de Minas Gerais, representando 14% do território do estado. O Baixo Jequitinhonha abrange as regiões de Almenara e Jacinto, o Médio as regiões de Pedra Azul, Araçuaí e Itaobim e o Alto Jequitinhonha compreende as microrregiões de Diamantina e Capelinha, sendo os municípios com os maiores indicadores sociais da macrorregião do Vale do Jequitinhonha (HENRIQUES, 2018).

**Figura 12:** Mapa da Macrorregião do Jequitinhonha

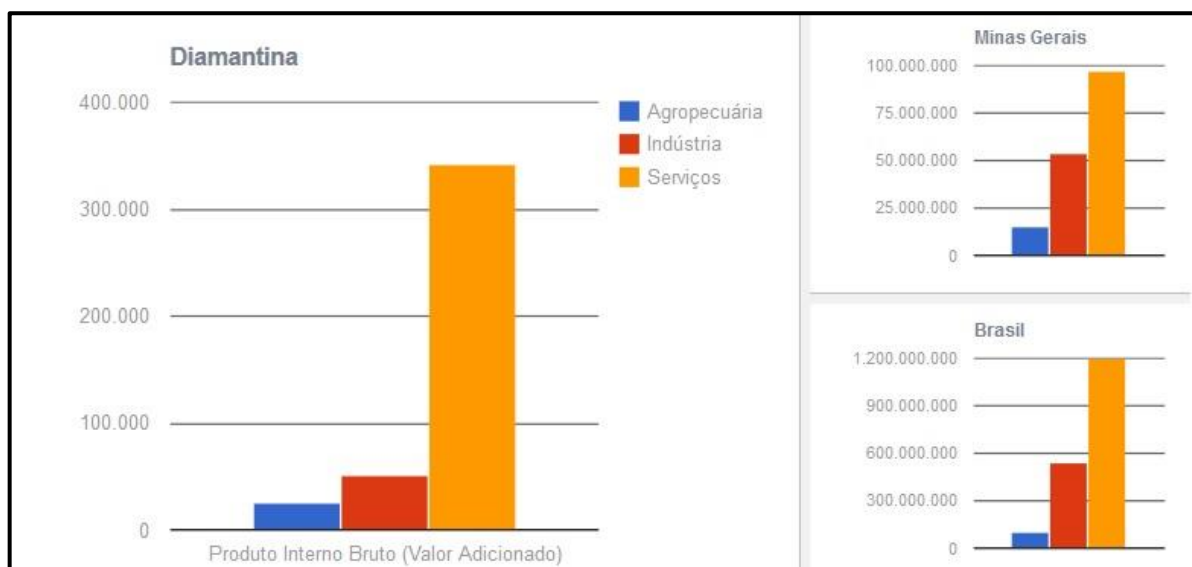


**Legenda:** Está representado o Baixo Jequitinhonha em verde e o Alto Jequitinhonha em rosa. **Fonte:** UFMG, 2018

É uma região que apresenta um dos menores indicadores socioeconômicos de Minas Gerais, em que mais da metade dos seus municípios possuem um Índice de Desenvolvimento Humano (IDH) de 0,57 a 0,65 e a taxa de mortalidade infantil é de aproximadamente 40 óbitos a cada 1000 nascidos vivos. Grande parte da população vive em extrema pobreza, sendo conhecido como o Vale da pobreza. (LANA *et al.*, 2007).

O município de Diamantina tem um panorama econômico semelhante ao do estado de Minas Gerais, bem como do Brasil, apresentando sua principal receita centrada na prestação de serviços em geral, na agricultura, pecuária, na agroindústria e outras manufaturas de pequeno e médio porte. Esse panorama pode ser evidenciado pelos dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), sumarizados na FIG. 13 abaixo que mostra os valores do Produto Interno Bruto (PIB).

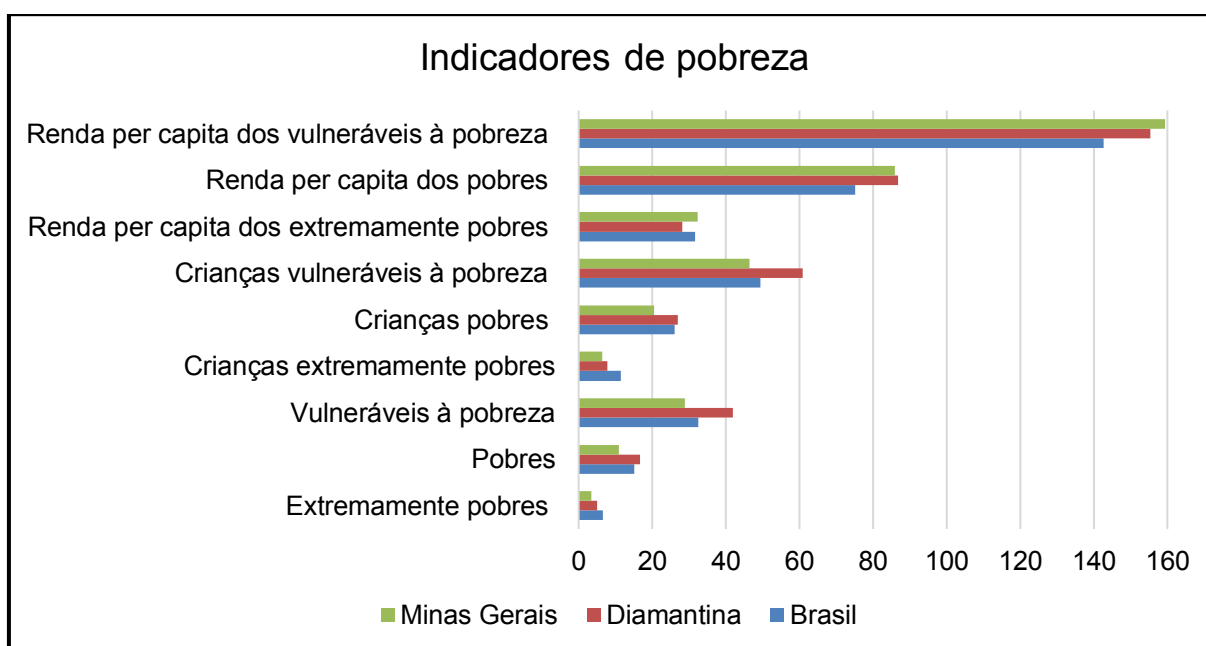
**Figura 13:** PIB de Diamantina, Minas Gerais e Brasil em relação a agropecuária, indústria e outros serviços



**Legenda:** PIB da agropecuária em azul, em vermelho das indústrias e em amarelo dos serviços em gerais referentes à Diamantina, Minas Gerais e Brasil, respectivamente.

Historicamente, a região apresenta um índice de desenvolvimento humano municipal com indicadores sociais alarmantes para os níveis de pobreza, expondo a carência nos serviços básicos como saúde, saneamento, educação, entre outros, como pode ser observado nas imagens (FIG. 14 e 15) abaixo que ilustram o panorama social do município em comparação com o Estado de Minas Gerais e Brasil.

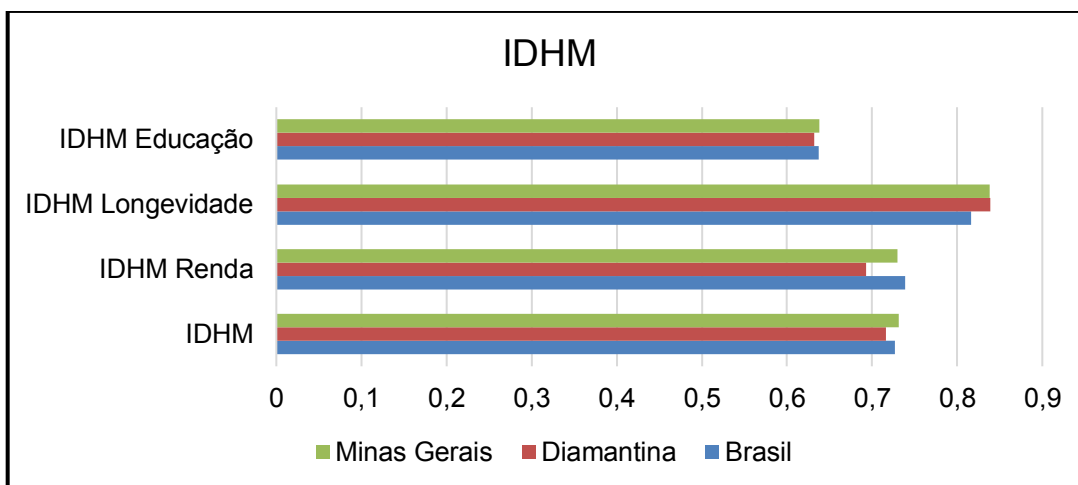
**Figura 14:** Comparativo dos indicadores de pobreza do Brasil, Estado de Minas Gerais e município de Diamantina



**Legenda:** Indicadores de pobreza no Brasil em azul, de Minas Gerais em verde e do município de Diamantina em vermelho. **Fonte:** IBGE, 2010.



**Figura 15:** Comparativo do Índice de Desenvolvimento Humano do Brasil, Estado de Minas Gerais e município de Diamantina



**Legenda:** Indicados do Índice de Desenvolvimento Humano no Brasil indicado pela barra azul, do estado de Minas Gerais indicado pela barra verde e da cidade de Diamantina indicado pela barra vermelha.

No ano de 2019 foram registrados no Vale Jequitinhonha mais de 3.214 casos prováveis de Dengue, 27 de Chikungunya e 12 casos de Zika (BRASIL, 2019).

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivos Gerais**

Caracterizar os aspectos sorológicos e de saúde pública dos casos de infecções por arboviroses que acometem a população da região de Diamantina.

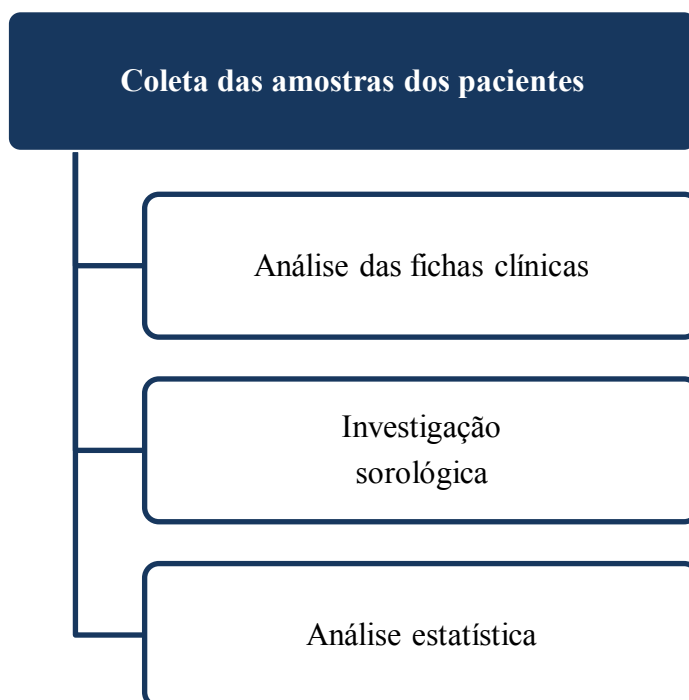
#### **3.2 Objetivos específicos**

- Investigar a infecção pelos arbovírus emergentes (DENV, CHIKV, FA, ZIKV) em pacientes no Vale do Jequitinhonha e acompanhar o curso de infecção de pacientes com doenças graves, atendidos na cidade de Diamantina;
- Traçar o perfil epidemiológico das arboviroses (DENV, CHIKV, FA, ZIKV) emergentes na região do Vale do Jequitinhonha;
- Analisar as prevalências sorológicas das amostras das pacientes gestantes, associadas às características demográficas;
- Caracterizar os parâmetros clínicos e laboratoriais dos pacientes acometidos.

## 4. METODOLOGIA

Trata-se de um estudo quantitativo e transversal, em que foi realizada uma investigação epidemiológica descritiva, baseada em registros de dados clínicos e/ou laboratoriais de pacientes com suspeita de arboviroses, bem como uma análise analítica, feita com base em investigação de agentes etiológicos de arbovírus nas amostras clínicas destes pacientes. Esse projeto foi aprovado no comitê de ética em pesquisa (CEP) da Universidade Federal do Vale do Jequitinhonha e Mucuri com número do parecer: 2.073.117.

### 4.1 Amostras dos pacientes da Santa Casa de Caridade de Diamantina (SCCD)



#### 4.1.1 Coleta das amostras clínicas

As amostras de soro foram coletadas de pacientes com suspeita de arbovirose que davam entrada no Hospital Santa Casa de Caridade de Diamantina, segundo os procedimentos de rotina do laboratório do hospital, que contam com pessoal técnico especializado e estrutura própria para tais procedimentos, sendo que a própria equipe da unidade de saúde foi responsável pela coleta dessas amostras. Os espécimes clínicos obtidos durante os anos de 2018 e 2019 foram destinados à detecção de anticorpos por técnicas sorológicas. Foram analisadas 264 amostras e todos os participantes foram identificados por um sistema de código formado por números e letras, de forma a preservar a identidade.

#### 4.1.2 Análise das fichas clínicas

A população do estudo foi composta por pacientes que passaram pela análise médica e suspeitou-se de infecção por arbovírus. As informações das fichas clínicas foram coletadas por alunas do curso de medicina da Universidade Federal dos Vales do

Jequitinhonha e Mucuri, colaborando com o presente estudo. As informações coletadas foram utilizadas para formulação de planilhas que caracterizaram os pacientes demograficamente em diferentes grupos que possibilitaram as análises estatísticas.

#### **4.1.3 Diagnóstico sorológico**

Foram realizados testes sorológicos para DENV e CHIKV nas amostras coletadas na Santa Casa de Caridade de Diamantina.

##### **4.1.3.1 Diagnóstico de DENV e CHIKV**

Todas as amostras (264) foram submetidas ao teste ELISA que geralmente é a técnica mais utilizada para diagnósticos sorológicos. Baseia-se na imunologia, em que antígenos fazem ligação a anticorpos específicos (GAN & PATEL, 2013). Existem diferentes métodos de execução do diagnóstico através do ensaio ELISA, como: sanduíche, de competição, direto e indireto, sendo o último citado o utilizado no presente trabalho de acordo com o protocolo dos fabricantes.

No método indireto as placas para realização do ELISA são revestidas por antígenos específicos do vírus de interesse e em seguida adicionadas as amostras dos pacientes nos poços da placa, ficando incubados por aproximadamente uma hora para que ocorra a ligação antígeno-anticorpo. Em seguida foi adicionado um segundo anticorpo acoplado a uma enzima para que os antígenos fossem detectados. Posteriormente adicionou-se um substrato cromogênico que associado à enzima provoca uma alteração na cor ou fluorescência dos poços, indicando a presença de anticorpos. A placa então é lida no espectrofotômetro que fornece valores de absorvância dos poços, esses valores são então utilizados para cálculos que resultam em uma razão (medida relativa da concentração de anticorpos).

Os kits utilizados para detecção de anticorpo IgM contra o DENV foi o ELISA de captura para IgM Anti-Dengue (Panbio – Austrália), com uma sensibilidade sorológica de 85,4% a 98,9% e especificidade de 95,7-100% de acordo com o fabricante. Já para análise sorológica de anticorpos IgM para CHIKV foi utilizado o kit Anti-virus Chikungunya ELISA (IgM) (Euroimmun, Alemanha). Esse teste apresenta uma especificidade de 99-100% e sensibilidade de 92,7%. As amostras foram consideradas positivas e negativas de acordo com a bula do fabricante as amostras consideradas com valor duvidoso de acordo com a bula foram consideradas negativas nesse estudo.

#### **4.1.4 Variáveis do estudo**

As variáveis relacionadas aos resultados dos testes sorológicos foram definidas como positivas para DENV as amostras em que a razão obtida foram  $> 11$ , já para CHIKV foi

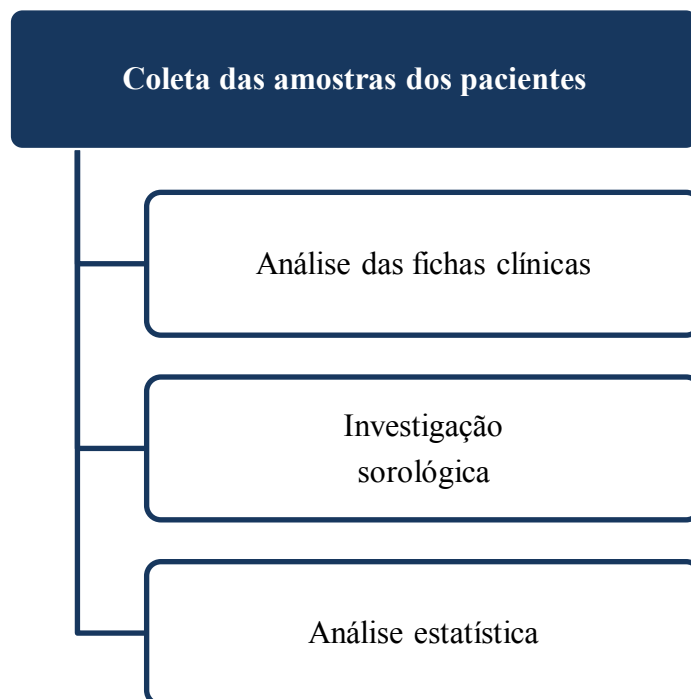
considerado as  $\geq 1,1$  e as negativas as que foram  $<1,1$  para DENV e  $<1,1$  para CHIKV, os valores foram determinados de acordo com os resultados dos cálculos específicos para cada uma das bulas de referência.

Utilizando as informações das fichas dos pacientes, foram definidas as variáveis demográficas: sexo (masculino e feminino), idade (subdivididas entre as idades) e sinais de alarme (sintomas apresentados durante o primeiro atendimento do paciente).

#### 4.1.5 Análise estatística

Os dados foram submetidos a análises estatísticas através da aplicação de testes não paramétricos (amostras independentes). O teste *Chi-quadrado* ( $x^2$ ) foi aplicado aos casos em que havia mais de duas categorias para a variável analisada (grau de liberdade maior que 1), e em situações em que a frequência fosse maior ou igual a 5 em 80% das observações analisadas, enquanto o *Teste Exato de Fisher* foi aplicado nos casos em que a variável aleatória foi classificada em apenas duas categorias, tabela de contingência 2:2 (CONTADOR & SENNE, 2016; FISHER, 1932). Os testes foram realizados utilizando-se do software IBM SPSS Estatístico (versão 20), o nível de significância adotado para ambos os testes foi de 95 % ( $p = 0,05$ ).

#### 4.2 Amostras de gestantes do Vale do Jequitinhonha



##### 4.2.1 Coleta das amostras clínicas

As amostras foram adquiridas com o professor Romero Alves Teixeira do departamento de nutrição da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri. O

professor desenvolveu uma pesquisa nutricional com pacientes grávidas e disponibilizou 134 amostras para o estudo aqui apresentado. Esse projeto foi aprovado no CEP da Universidade Federal do Vale do Jequitinhonha e Mucuri com número do parecer: 2.073.117.

#### **4.2.2 Análise das fichas clínicas**

Informações demográficas foram adquiridas juntamente ao professor Romero Alves Teixeira, possibilitando a criação de planilhas contendo dados demográficos das pacientes do estudo.

#### **4.2.3 Diagnóstico sorológico**

Os testes sorológicos utilizado nas amostras das grávidas foram os mesmos utilizado anteriormente nas amostras dos pacientes da Santa Casa de Caridade de Diamantina, buscando fazer o diagnóstico sorológico através dos kits ELISA para detecção de anticorpos IgM contra DENV, CHIKV e ZIKV. A detecção de anticorpos IgM para ZIKV foi realizada em 100 amostras de gestantes, utilizando o teste Zika vírus IgM capture ELISA (Novatec, Alemanha) com sensibilidade de 97,6% e especificidade 96-98,8%. As amostras positivas e negativas foram determinadas de acordo com os valores estipulados no protocolo do fabricante e os valores considerados duvidosos nesta pesquisa foram considerados negativos.

#### **4.2.4 Variáveis do estudo**

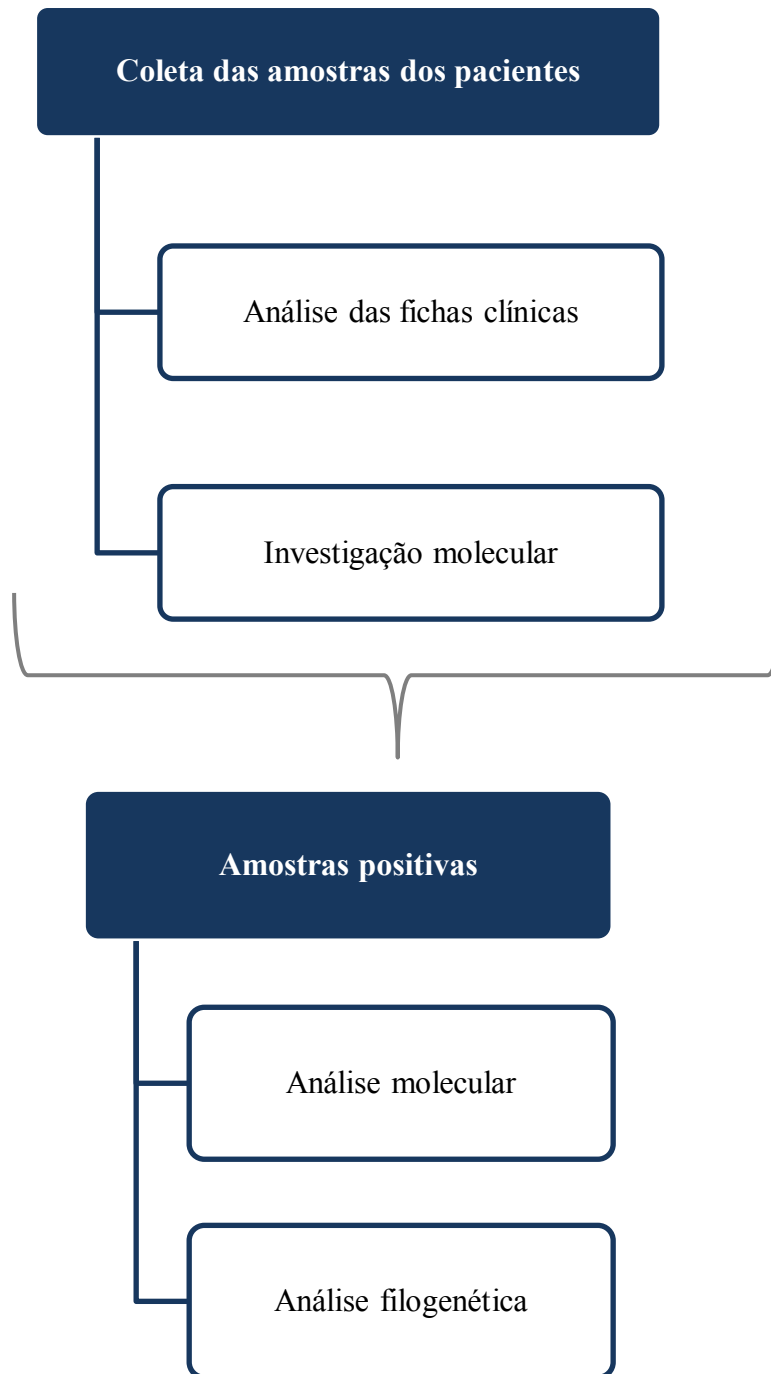
As variáveis relacionadas aos resultados dos testes sorológicos foram definidas como “positivas” e “negativas” de acordo com a bula do fornecedor.

Utilizando as informações das fichas dos pacientes, foram definidas as variáveis demográficas: idade (subdivididas entre as idades), renda (até um salário mínimo, de um a três salários mínimos, de três a seis salários mínimos, acima de seis salários mínimos), raça (negra, parda e branca) e escolaridade (abaixo de ensino fundamental/sem escolaridade, ensino fundamental, ensino médio, ensino superior).

#### **4.2.5 Análise estatística**

Os dados foram analisados utilizando o programa IBM SPSS e Prisma 7. O teste qui-quadrado foi utilizado para análise das variáveis categóricas. As proporções de soropositivas e negativas foram descritas de forma percentual. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando p valor foi  $< 0,05$ .

### 4.3 Levantamento epidemiológico YFV



#### 4.3.1 Coleta das amostras clínicas

As amostras de soro foram coletadas de 8 pacientes internados e diagnosticados com FA na Santa Casa de Caridade de Diamantina no ano de 2017. Os espécimes clínicos foram coletados por uma equipe especializada do hospital. Os participantes foram identificados por um sistema de código formado por letras, a fim de manter a privacidade dos mesmos. O presente estudo foi aprovado pelo CEP da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, com parecer nº 53135216.9.0000.5147.

### **4.3.2 Análise das fichas clínicas**

Os registros clínicos dos pacientes diagnosticados com FA foram disponibilizados através do Prontuário Eletrônico da Santa Casa de Caridade de Diamantina, permitindo a análise de das informações.

### **4.3.3 Diagnóstico molecular**

As amostras dos enfermos foram utilizadas para realização de PCR em tempo real a partir do soro dos pacientes para confirmação do diagnóstico, posteriormente os dados foram utilizados para a redação de artigo de revisão.

#### **4.3.3.1 Extração de RNA viral do soro**

Inicialmente foi extraído RNA viral das amostras de soro dos pacientes para detecção e caracterização do YFV. Para extração do RNA foi utilizado o Kit QIAmp® Viral RNA (QIAGEN®, U.S.A.). Cerca de 140 µL do soro dos pacientes infectados foram lisados pela solução tampão AVL e, após a lise, as amostras foram aplicadas a uma coluna com afinidade para o RNA e submetidas a uma centrifugação de 8.000 x g, por 1 min. Em seguida, as amostras foram lavadas duas vezes: a primeira com a solução tampão AW1 e a segunda com a solução tampão AW2. Após o processo de lavagem, o RNA foi eluído da coluna, pela solução AVE e estocado a -70°C (BRONZONI *et al.*, 2004; TERZIAN *et al.*, 2010).

#### **4.3.3.2 Síntese de cDNA**

O RNA extraído foi utilizado como molde para a produção de uma cadeia complementar de DNA (cDNA) utilizando a enzima M-MLV RT com iniciadores randômicos (Invitrogen®).

Para a produção de DNA complementar (cDNA), cerca de 1 a 5 µl de RNA extraído foi incubado a 70°C por 5 min, juntamente com os iniciadores (2,5 pmol/µL). Após incubação em banho de gelo, os seguintes componentes foram adicionados à reação: 4 µL de tampão de RT-PCR 5X (Tris a 250mM pH 8.9, MgCl<sub>2</sub> a 15mM, KCl a 375mM, DTT a 50mM), 2 µL de dNTP (10mM) e 0,5 µL (20U) de RNAsin (Ribonuclease Inhibitor-Promega), seguido por incubação a 42°C por 5 min. No terceiro ciclo foi adicionado 1 µL (200U) de enzima M-MLV RT (200U/µL) (Promega Corporation-EUA). Essa mistura foi incubada por 60 min a 37°C, sendo então resfriada em banho de gelo. O produto da transcrição reversa foi conservado à temperatura de -80°C até sua utilização.

#### **4.3.3.3 Diagnóstico molecular**

Para o diagnóstico molecular foi aplicada a técnica RT-PCR, nas reações foram utilizados aproximadamente 2,5 µl de cDNA, 2,5µl de tampão 10X, 10 pmol de cada



oligonucleotídeo iniciador, 2 µl de MgCl<sub>2</sub> (2,5mM), 1 µl de dNTP's (10 mM) (dATP, dCTP, dTTP e dGTP), 1 µl de Taq polimerase (Promega, USA) (5U/µl) e 25 µl de H<sub>2</sub>O ultra pura q.s.p. Como controles positivos das reações foram utilizados cDNAs obtidos de amostras de referência. (LANCIOTTI, *et. al.*,1992; NIX *et. al.*,2006; BURREL *et al.*, 2010).

#### **4.3.4 Sequenciamento do genoma e análise filogenética**

O sequenciamento dos fragmentos amplificados e sequenciamento do genoma foi feito para amostra de um paciente evoluiu para óbito, as análises foram realizadas em parceria com o Laboratório de Vírus da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG).

O sequenciamento foi realizado utilizando sequenciador automático capilar “ABI 3730 DNA Analyzer” (Applied Biosystems), utilizando o kit “*BigDye® Terminator v3.1* Cycle Sequencing “ (Applied Biosystems), seguindo as condições de reação e leitura indicadas pelo fabricante.

Para as análises filogenéticas, as árvores foram construídas no programa MEGA 6, baseados nos métodos de distância Neighbor-Joining (NJ) e em caracteres discretos, Máxima Parcimônia (MP).

#### **4.3.5 Levantamento bibliográfico e epidemiológico**

Realizou-se um levantamento bibliográfico dos boletins epidemiológicos de FA entre os anos 2016-2018, período em que foi documentado o maior surto de FA silvestre no Brasil. Além disso, foi realizado o levantamento das taxas de vacinação no país e em Minas Gerais durante os anos supracitados, os dados obtidos foram utilizados para confecção de mapas temáticos através do programa Qgis 3.4.4 e a redação de um artigo intitulado “*Yellow Fever outbreak in Minas Gerais state: the beginning of the brazilian experience*”, que foi submetido para publicação e aguarda resposta dos revisores.

Os boletins epidemiológicos e as tabelas de taxa de vacinação por regional de saúde foram obtidos nos sites do Ministério da Saúde do Brasil e na Secretaria Estadual de Saúde de Minas Gerais, sendo as principais fontes de dados.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Análise soroepidemiológica de pacientes com suspeita de arboviroses da Santa Casa de Caridade de Diamantina

#### 5.1.1 Caracterização da população estudada

No período de 2018 a 2019 foram coletados 264 soros no hospital Santa Casa de Caridade de Diamantina de pessoas com suspeita de infecção por arbovírus. Informações de censo demográfico sobre os pacientes contribuíram para categorizar as variáveis do estudo, no entanto, não foi possível o registro de todas as informações.

As amostras foram subdivididas em grupos, do número total 114 pertenciam ao sexo masculino (43,2%) e 150 ao sexo feminino (56,8%). As idades de 63 pacientes foram obtidas, com uma variação de 12 a 74 anos e média de  $34,5 \pm 13,7$  anos. Devido às dificuldades para coleta de informações durante o atendimento, sinais de alarme como hipotensão ortostática e/ou lipotimia, dores abdominais, letargia ou irritabilidade, sangramento das mucosas, vômitos persistentes e hepatomegalia >2 cm abaixo do rebordo costal foram registrados em apenas 26 amostras. Os dados demográficos estão demonstrados na TAB. 1 abaixo.

**Tabela 1:** Dados demográficos de pacientes com suspeita para arbovirose obtidos na SCCD de 2018 a 2019.

Características	Total	
	17,83 (12 a 22 anos)	13
	27,6 (23 a 33 anos)	22
<b>Idade média (64)</b>	39,44 (34 a 44 anos)	15
	55,54 (Acima de 45)	14
<b>Sexo (264)</b>	Feminino	150
	Masculino	114
	Dor abdominal intensa	14
	Hipotensão ortostática e/ou lipotimia	20
<b>Sintomas e sinais de alarme (26)</b>	Letargia e/ou irritabilidade	7
	Vômitos persistentes	2
	Hepatomegalia > 2 cm	1

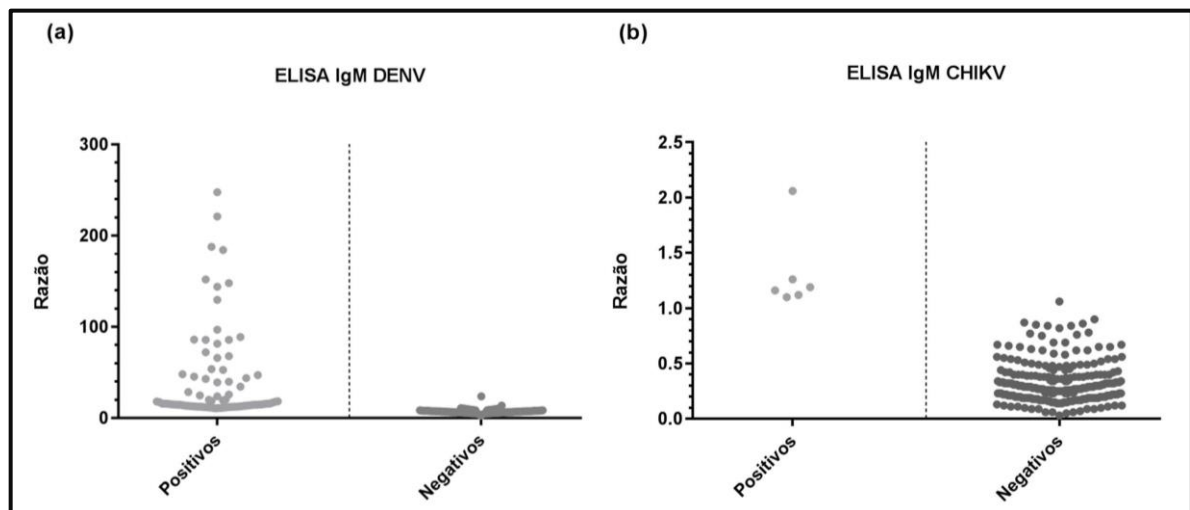
abaixo do rebordo costal	
Sangramento de mucosas	3
Aumento progressivo do Ht	1

### 5.1.2 Detecção de anticorpos

A análise dos anticorpos, ilustrados na FIG. 16 abaixo, realizados nos soros dos pacientes por ELISA, resultou em 89 positivos indicando que 33,7% (IC 95%) possuíam algum anticorpo para arbovírus. O diagnóstico obtido foi de oitenta e três pacientes IgM DENV positivos (93,1%) e seis IgM CHIKV positivos (6,8%). O maior número de infecções por DENV também foi encontrado no estudo de Azeredo *et al.* (2018), em que foram analisadas 134 amostras para IgM DENV, CHIKV e ZIKV e obtiveram 22,3% das amostras positivas para DENV. Além do ELISA, foi também realizado o teste NS1 anti-DENV, as análises em conjunto resultaram em 51,4% positivas para a arbovirose.

Essa prevalência de DENV pode ser explicada pelo fato de que o número de casos notificados da doença vem aumentando significativamente todo ano, gerando impactos na saúde e na economia mundial (OMS, 2019). Além disso, dados do Ministério da Saúde demonstram que no Brasil os números de casos de dengue aumentaram 149% no ano de 2019 se comparado ao ano de 2018 (BRASIL, 2019), período em que ocorreu a coleta das amostras do estudo.

**Figura 16:** Análise sorológica para ELISA IgM DENV e CHIKV das amostras de soro da SCCD no período de 2018 a 2019.



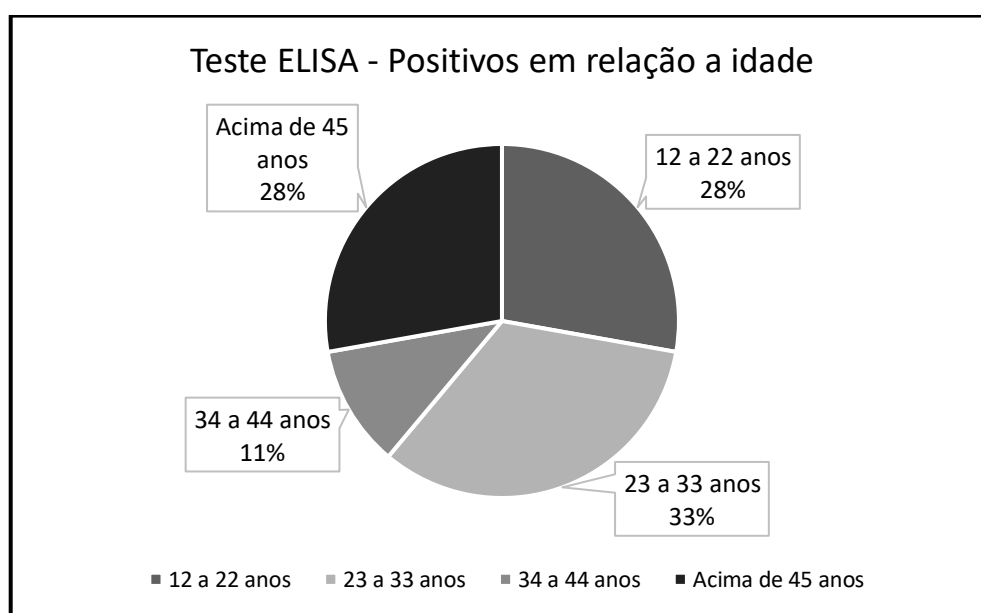
**Legenda:** (a) Resultado do teste ELISA para detecção de anticorpos IgM para DENV; (b) resultado do teste ELISA para detecção de anticorpos IgM para CHIKV

Dos resultados obtidos, duas amostras foram positivas tanto para DENV como para CHIKV. A soropositividade para ambas arboviroses em testes sorológicos já é

conhecida, imunoglobulinas produzidas por um determinado arbovírus em uma primeira infecção podem reagir de maneira cruzada com amostras de outro arbovírus presente em uma segunda infecção, ocasionando resultados falso-positivos (FRANCO *et al.*, 2019; MANSFIELD *et al.*, 2011). Um estudo realizado com 38 pacientes positivos para CHIKV realizou o teste ELISA para DENV e outros flavivírus e 7% das amostras apresentaram reatividade cruzada (KAM *et al.*, 2015). Embora os testes utilizados demonstrem um alto grau de especificidade, deve-se levar em consideração o possível resultado falso-positivo. Outra possível justificativa do resultado positivo para as duas arboviroses seria a co-infecção dos pacientes, observadas em áreas que os arbovírus compartilham vetores.

Dentre as 63 amostras analisadas em relação à idade, 28,1% (18/63) foram positivas, sendo 17 para IgM DENV e 1 para CHIKV. O teste qui-quadrado foi realizado e não houve significância estatística para a variável ( $p = 0,50$ ). A ausência de associação entre soropositividade e idade é semelhante ao encontrado por Teixeira *et al.* (2003), Vasconcelos *et al.* (1998) e Benthem *et al.* (2005). Embora não tenha relação entre idade e infecções pelos arbovírus no presente estudo, pesquisas demonstram uma maior soropositividade à medida que a idade aumenta, sugerindo que está relacionado a fatores comportamentais, com uma maior exposição aos vetores artrópodes e menor proteção pessoal (MEASE *et al.*, 2011; MORO *et al.*, 2010; OCHIENG *et al.*, 2007). No entanto, no presente estudo o grupo que apresentou maior soropositividade foi de 23 anos a 33 anos (6/18). Os resultados ELISA IgM positivos para cada faixa etária estão ilustrados na FIG. 17 abaixo.

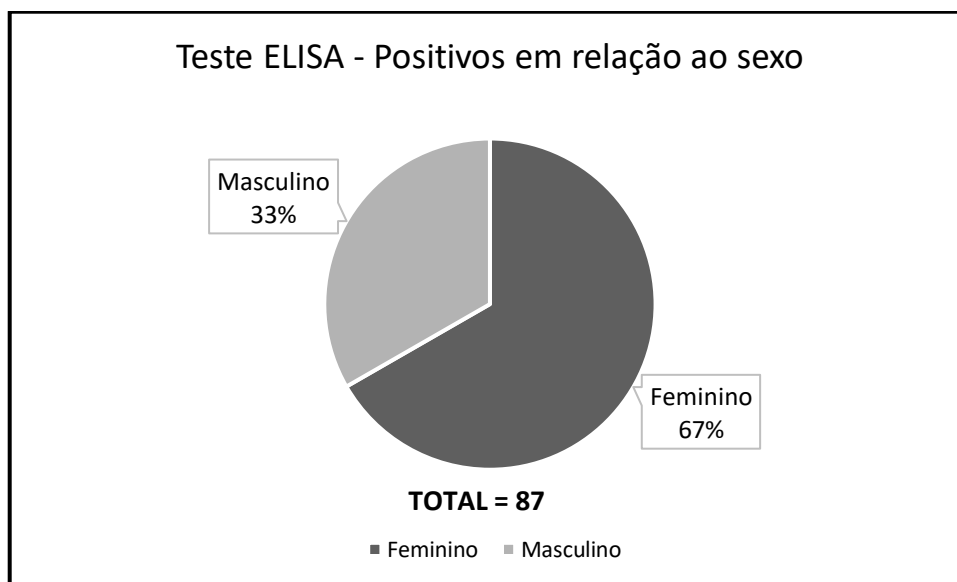
**Figura 17:** Teste ELISA – positivos em relação à idade.



**Legenda:** Pacientes positivos em relação aos grupos de 12 a 22 anos, 23 a 33 anos, 34 a 44 anos e acima dos 45 anos.

Os resultados, ilustrados na FIG. 18 abaixo, obtidos através do teste ELISA associado a variável sexo, resultou em seis amostras positivas para IgM CHIKV, todas pertencente ao sexo feminino, entre as amostras positivas para IgM DENV vinte e nove (34,8%) pertenciam ao sexo masculino e cinquenta e quatro (65,1%) ao sexo feminino. O resultado do qui-quadrado indicou significância estatística entre número de casos positivos e o sexo ( $p = 0,02$ ), tal resultado possibilitou que a hipótese nula fosse rejeitada. Os resultados foram semelhantes aos autores Inziani e colaboradores (2020), Grossi-Soyster *et al.* (2017) e Mease *et al.* (2011) que ressaltaram a relação entre o sexo e a positividade para DENV e/ou CHIKV em seus estudos. No entanto, Pessanha *et al.* (2010), Vasconcelos *et al.* (1999) e Kularatne *et al.* (2012) não observaram essa correlação da variável sexo e resposta sorológica positiva, discordando dos dados aqui encontrados. Diversas pesquisas voltadas para investigação das arboviroses entre homens e mulheres são realizadas, no entanto não é possível confirmar a real associação das infecções e o sexo, embora existam diferenças ocupacionais e comportamentais dos papéis de gênero adotados dentro da sociedade que podem estar relacionados à maior exposição ao vetor.

**Figura 18:** Teste ELISA – Positivos em relação ao sexo

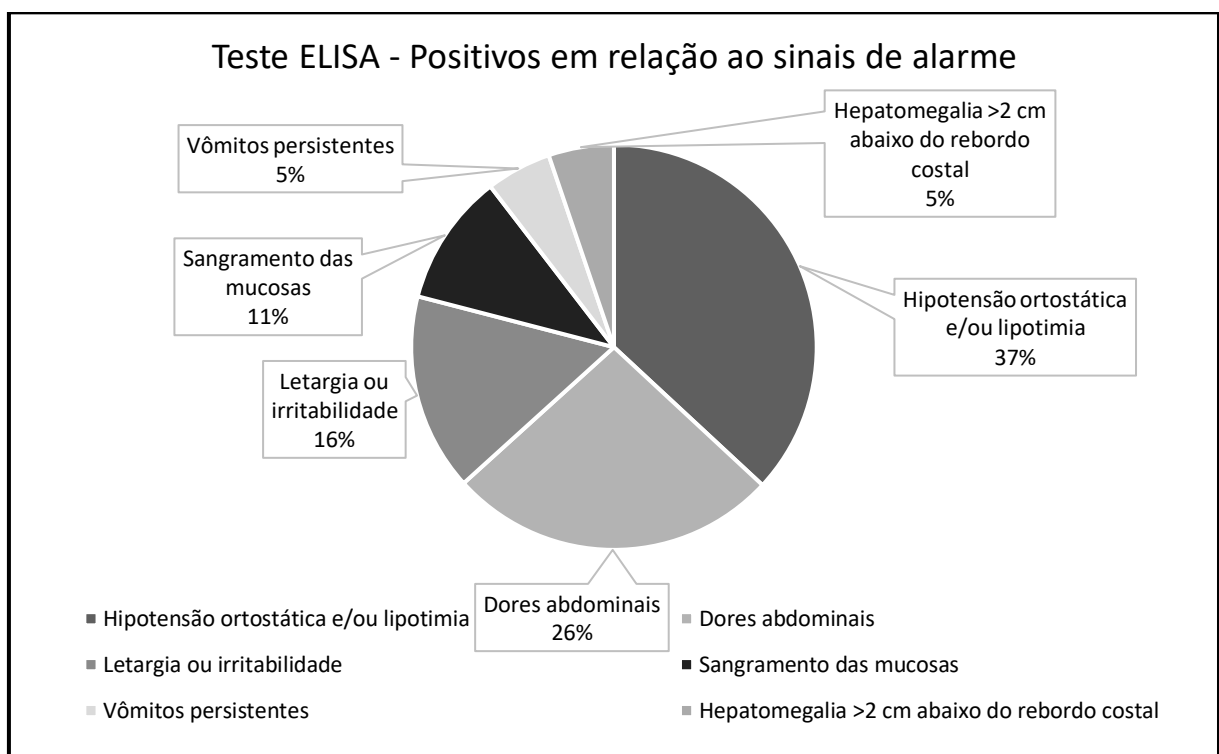


**Legenda:** Pacientes positivos em relação ao sexo feminino e masculino.

Das 26 amostras descritas com sinais de alarme, 25 foram positivas para DENV e 1 para CHIKV, os seguintes sinais de alarme foram diagnosticados: hipotensão ortostática e/ou lipotimia em 36,8% (7/26), 26,3% (5/26) dores abdominais, 15,7% (3/26) com letargia ou irritabilidade, 10,5% (2/26) sangramento das mucosas, 5,2% (1/11) vômitos persistentes e hepatomegalia >2 cm abaixo do rebordo costal, mais de um sintoma foi apresentado por

paciente. Martins e colaboradores (2014) analisaram 677 amostras de pacientes com suspeita de DENV e 23 apresentaram sinais de alarme (MARTINS *et al.*, 2014). Vasconcelos *et al* (1993) observaram que a hipotensão ortostática e/ou lipotimia foram apresentadas em grande parte dos pacientes soropositivos para DENV (VASCONCELOS *et al.*,1993). Já Alexander *et al.* (2011) obtiveram 1734 amostras de pacientes positivos para DENV com 147 deles apresentando algum dos sinais de alarme, sendo dor ou sensibilidade abdominal o mais prevalente. Também descreveram letargia, sangramento da mucosa e diminuição da contagem de plaquetas, associando tais sintomas a um maior risco de dengue grave (ALEXANDER *et al.*, 2011). Os principais sinais de alarme apresentados pelos pacientes neste trabalho são semelhantes aos descritos pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2007) e estão ilustrados na FIG. 19 abaixo.

**Figura 19:** Teste ELISA – Positivos em relação aos sinais de alarme



A cidade de Diamantina se encontra na macrorregião do Jequitinhonha, onde está localizada a unidade regional de saúde, sendo realizados os atendimentos dos pacientes dos diversos municípios/distritos da região no hospital Santa Casa de Caridade de Diamantina. Além dos casos confirmados no presente estudo de pacientes da região que deram entrada no hospital com suspeita de arbovirose, vale ressaltar que no Vale Jequitinhonha no ano de 2019

foram mais de 3.214 casos prováveis de DENV, 2.805 de CHIKV e 12 casos de ZIKV (BRASIL, 2019). O elevado número de casos demonstra a importância de políticas públicas voltadas para a região a fim de minimizar a alta incidência de infecções pelos arbovírus.

## 5.2 Avaliação soropidemiológica em gestantes do Vale do Jequitinhonha

### 5.2.1 Caracterização da população estudada

No ano de 2019 foi realizada a análise da soroteca em relação à presença de anticorpos contra DENV, CHIKV e ZIKV. Essa coleção é formada por 135 soros pertencentes a gestantes do Vale do Jequitinhonha que não possuíam indicação de infecção por arbovírus, disponibilizadas pelo Prof. Dr. Romero Alves Teixeira do Departamento de Nutrição da UFVJM. Cada grávida possuía um código de identificação e informações demográficas que possibilitaram categorizar as variáveis do estudo para análises estatísticas. Os dados utilizados estão informados na TAB. 2.

As gestantes apresentaram uma idade média de  $26,6 \pm 5,9$  anos, variando de 14 a 43 anos. Ao serem perguntadas como se declaravam para raça, 86 (64,1%) delas se autodeclararam pardas, 24 (17,9%) negras e 25 (18,6%) brancas. Em relação à escolaridade, 41 (30,4%) não possuíam escolaridade ou haviam cursado o ensino fundamental, 71 (52,6%) possuíam o ensino médio e 23 (17,0%) delas possuíam curso superior.

As pacientes também foram classificadas em grupos considerando a renda mensal de acordo com o salário mínimo do ano de 2019 (R\$ 998,00), sendo divididas em quatro grupos: até um salário mínimo, de um a três salários mínimos, de três a seis salários mínimos, acima de seis salários mínimos.

**Tabela 2:** Dados demográficos de gestantes positivas para arboviroses

<b>Características</b>	<b>Total</b>	
<b>Renda (118)</b>	Até um salário mínimo	38
	De um a três salários mínimos	51
	De três a seis salários mínimos	26
	Acima de seis salários mínimos	4
<b>Idade (134)</b>	14 a 24	52
	25 a 35	71
	Acima de 36	11

<b>Escolaridade (135)</b>	Até o Ensino fundamental	41
	Ensino Médio	71
	Ensino Superior	23
<b>Raça (135)</b>	Branca	25
	Negra	24
	Parda	86

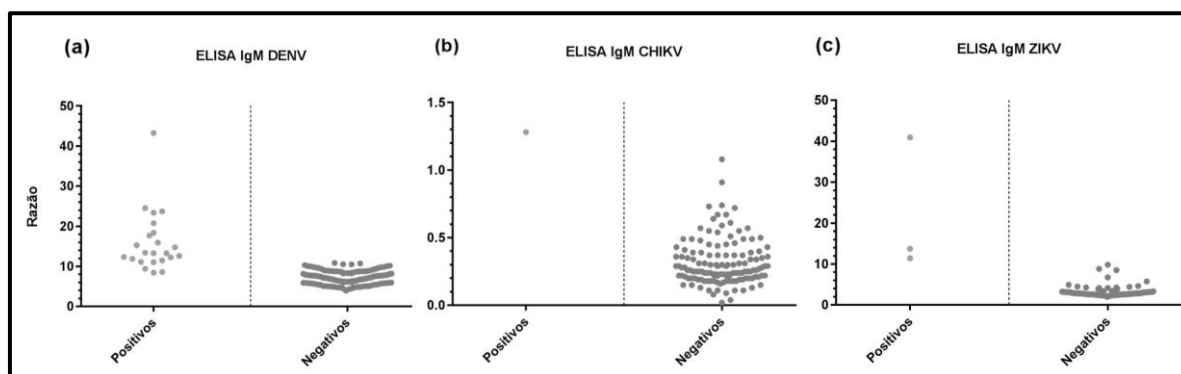
---

### 5.2.2 Detecção de anticorpos

Os testes sorológicos utilizados foram os mesmos das amostras da Santa Casa de Caridade de Diamantina (ELISA IgM DENV e CHIKV). Além desses também foi utilizado o teste ELISA IgM ZIKV. Dos 135 soros processados para DENV e CHIKV vinte e uma foram positivos para alguma dessas arboviroses, sendo 20 para DENV (14,8%) e 1 para CHIKV (0,74%). Do número total de soros obtidos para análise, o teste ELISA IgM ZIKV contemplou 100 grávidas resultando em 3 (3%) positivos. A FIG. 20 abaixo ilustra os resultados dos testes ELISA IgM. O maior número de casos soropositivos foi detectado para infecções por DENV, corroborando com o estudo de Figueiroa e colaboradores (2017) que coletaram 103 notificações de suspeita de infecção por arbovírus de grávidas atendidas pelo Centro de atendimento a gestantes (CISAM) em Recife, no período entre o mês de agosto de 2015 a junho de 2016, encontrando uma prevalência de 44% para DENV dos casos analisados. No entanto, uma pesquisa realizada em 2016 no Rio de Janeiro obteve resultados distintos, observando maior número de infecções por ZIKV (37,2%) e CHIKV (27,3%) nas amostras das gestantes (CARVALHO *et al.*, 2019). Ainda que o aumento do número de casos de ZIKV e CHIKV no ano de 2016, o DENV ainda foi responsável pelo maior número de notificações por arbovirose urbana (OLIVEIRA *et al.*, 2017).



**Figura 20:** Análise sorológica de gestantes por meio do teste ELISA IgM DENV, CHIKV e ZIKV.



**Legenda:** (a) Resultado do teste ELISA IgM para detecção de anticorpos para DENV; (b) resultado do teste ELISA IgM para detecção de anticorpos para CHIKV; (c) resultado do teste ELISA IgM para detecção de anticorpos para ZIKV.

Dentre os resultados positivos para ZIKV duas amostras também foram positivas para DENV, sendo considerada a possível reação cruzada ou co-infecção. Apesar da co-infecção ser conhecida, não se sabe exatamente as consequências nas gestantes, sendo considerada um sério problema e desafio para a saúde pública devido as maneiras de transmissão, espectro clínico, complicações na saúde e resultados laboratoriais (ESTOFOLETE *et al.*, 2019). Um estudo realizado na Colômbia (2016) registrou a co-infecção tripla (DENV, CHIKV e ZIKV) em uma gestante analisada. Segundo os autores as ultrassonografias, realizadas durante as semanas 14,6 e 29, apresentaram-se normais (VILLAMIL-GÓMEZ *et al.*, 2016). No Brasil um caso semelhante também foi registrado (2018) em uma gestante que apresentou co-infecção de CHIKV e ZIKV, e o estudo relata a morte do feto da paciente analisada (PRATA-BARBOSA *et al.*, 2018). É de grande importância que gestantes sintomáticas sejam testadas para as diferentes arboviroses que co-circulam em áreas endêmicas.

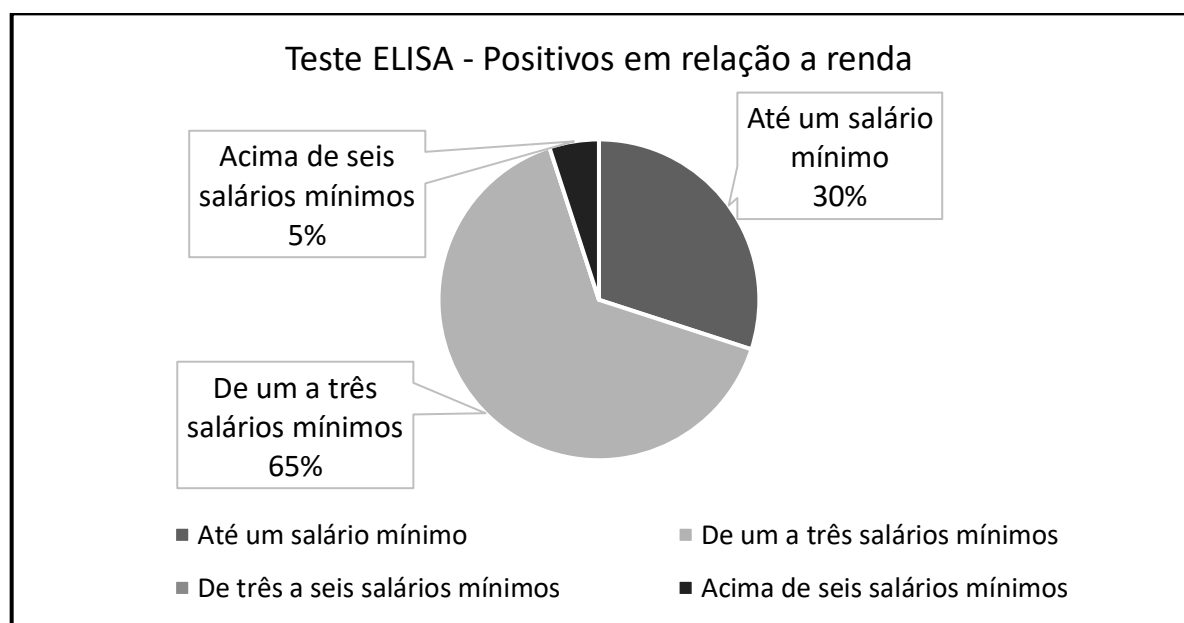
Embora o ZIKV seja considerado o principal arbovírus teratogênico desde o surto no Brasil em 2015, as diferentes arboviroses durante a gravidez podem acarretar disfunção placentária e complicações adversas para a mãe e para o feto (CHARLIER *et al.*, 2017). Ainda que os riscos de infecção por DENV sejam menores, vale ressaltar que são alarmantes, podendo levar a um parto prematuro, um risco maior de aborto, natimorto, baixo peso ao nascer e hemorragia na mãe (BASURKO *et al.*, 2009; BRASIL, 2016; PAIXÃO *et al.*, 2016).

Além desses riscos relacionados às arboviroses, o Ministério da Saúde (2014) considera também alguns outros fatores de risco durante a gestação, como: a idade materna (< 20), a baixa escolaridade da mãe (< 8 anos de estudo) e baixo nível socioeconômico da família (BRASIL, 2014). As diferentes pesquisas voltadas para o perfil das mães infectadas

por arboviroses durante a gravidez demonstram que em sua maioria são mulheres jovens, com pouca escolaridade, baixa renda e que vivem em áreas com menor nível econômico, sem saneamento básico e coleta de lixo adequados, propiciando um ambiente com criadouros para o *Aedes*, favorecendo a reprodução do vetor e dificultando o controle das diferentes arboviroses (BARBEITO-ANDRÉS *et al.*, 2020; DINIZ, 2016; FIGUEIROA *et al.*, 2017). Neste estudo, as gestantes recebendo de um a três salários mínimos, ensino médio completo e com 20 a 25 anos de idade obtiveram o maior número de casos, sendo assim os grupos predominantes não estão incluídos nos fatores de risco.

O subgrupo com renda até um salário mínimo obteve 30% (6/22) de amostras positivas, com 6 para DENV. Já o grupo com renda de um a três salários mínimos obteve 15 amostras positivas (65%), 15 infecções por DENV e 2 para ZIKV, sendo que as duas amostras positivas para ZIKV apresentaram soropositividade para DENV. Em relação ao grupo de três a seis salários mínimos não foram obtidos resultados positivos para detecção de arbovírus e as amostras analisadas para o grupo acima de seis salários mínimos obteve 1 gestante (5%) soropositiva. O teste  $\chi^2$  não apresentou resultado estatístico significativo ( $p = 0,60$ ). Uma das pacientes positivas para ZIKV não informou a renda. Vale destacar que para essa categoria as amostras foram agrupadas de acordo com o salário mínimo do ano de 2019. A FIG. 21 abaixo ilustra os resultados soropositivos em relação à renda declarada pelas pacientes analisadas.

**Figura 21:** Teste ELISA – Grávidas positivas em relação a renda

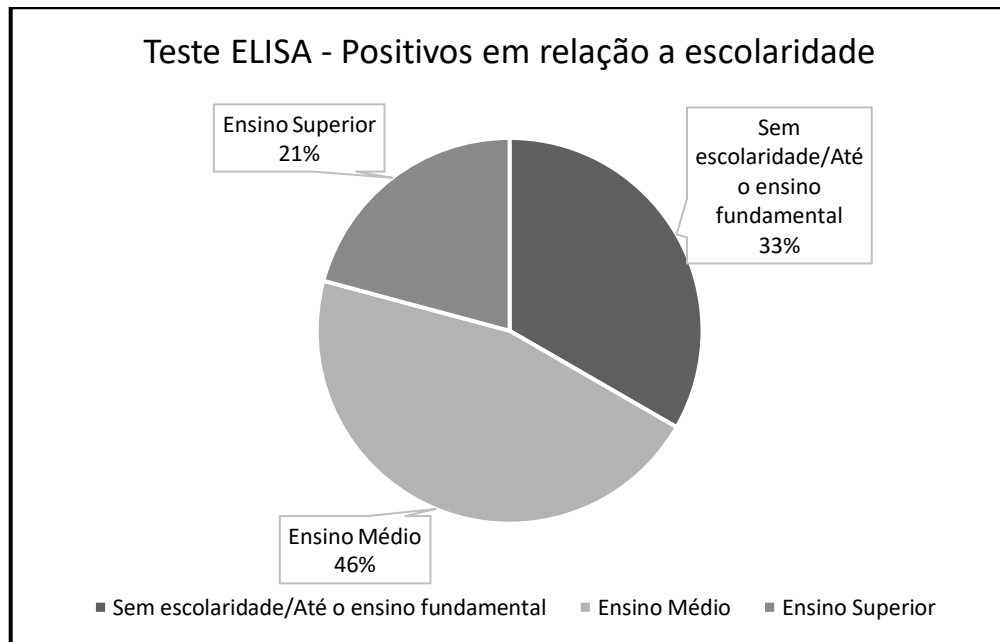


**Legenda:** Porcentagem das gestantes positivas em relação aos seus respectivos grupos em relação a renda.

Segundo o Cadastro Único do Governo Federal (2014), podem ser consideradas pessoas de baixa renda aquelas que recebem metade de um salário mínimo ou renda familiar inferior a 3 salários mínimos. Abreu *et al.* (2016) em seus estudos encontraram uma maior prevalência em grupos de baixa renda, assim como Silva *et al.* (2018) observaram uma prevalência de 93% das mães infectadas por ZIKV durante a gravidez recebiam menos de R\$140,00. Considerando o salário mínimo do ano de 2019 de R\$998,00, o presente estudo contemplou duas amostras positivas de gestantes que se enquadram na categoria de baixa renda, declarando uma renda mensal de R\$112,00 e R\$350,00. No entanto esse grupo não foi o que apresentou maior prevalência de casos positivos.

Além das categorias acima, também foi analisada a associação com a escolaridade das gestantes. O grupo sem escolaridade ou com escolaridade até o ensino fundamental obteve 8 (33,3%) amostras positivas, sendo 7 para DENV e 2 para ZIKV. Uma das amostras foi positiva tanto para DENV quanto para ZIKV, levando as hipóteses mencionadas anteriormente de ocorrência de co-infecção ou reação cruzada. Já o grupo ensino médio foram 11 (45,8%) amostras positivas, 1 para CHIKV, 1 para ZIKV e 9 para DENV, enquanto o grupo ensino superior registrou 5 (20,8%) amostras positivas, todas para DENV. A FIG. 22 abaixo ilustra os resultados positivos para cada grupo analisado em relação a escolaridade. No presente trabalho não houve diferença estatística significativa para a categoria supracitada analisada ( $p = 0,74$ ). No entanto, assim como Figueiroa *et al.* (2017) foi observada uma maior predominância de infecções em mães com ensino médio completo.

**Figura 22:** Teste ELISA – Positivos em relação a escolaridade

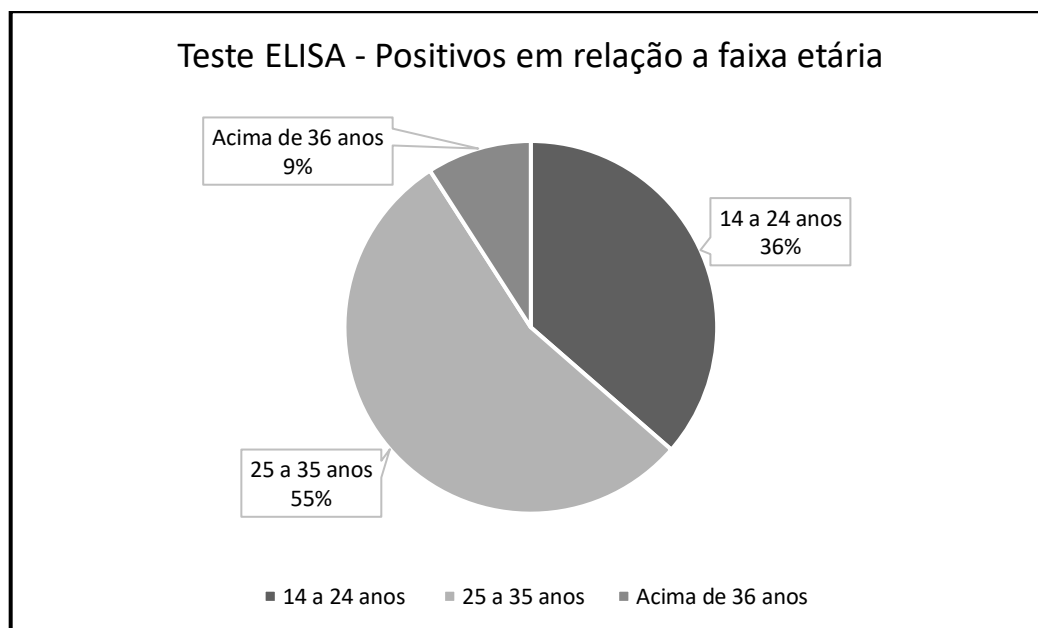


**Legenda:** Gestantes positivas em relação aos grupos de escolaridade: Sem escolaridade/Até o fundamental, ensino médio e ensino superior.

O desenvolvimento da criança e o desenvolvimento da gravidez podem ser comprometidos em mães de baixas condições socioeconômicas e/ou baixa escolaridade, uma vez que essas mulheres estão mais vulneráveis socialmente, podendo ter um acesso restrito aos serviços de saúde, um suporte familiar inadequado, não possuir acesso às informações importantes durante o pré e pós-natal, além de não conseguir suprir as necessidades do bebê (ABREU *et al.*, 2016).

Quanto ao fator idade, as amostras foram divididas em grupos de 14 a 24 anos sendo 8 (36,4%) positivas, de 25 a 35 com 12 (54,5%) positivas e acima de 36 com 2 (9,1%) soropositivas. Do número total de positivas nessa categoria, ilustrados na FIG. 23, 21 amostras foram IgM positivas para DENV, 1 para CHIKV e 3 para ZIKV. Assim como no presente estudo, outros pesquisadores observaram uma prevalência de infecções por DENV em faixas etárias similares a abordada em tela (BRASIL *et al.*, 2016; CARDSO *et al.*, 2011; VASCONCELOS *et al.*, 1999). Contudo o teste  $\chi^2$  neste estudo não apresentou significância estatística ( $P = 0,96$ ), demonstrando que não há relação entre idade e infecção por arbovírus nos grupos estudados. A idade é um importante fator a ser considerado durante a gravidez, uma vez que abaixo de 20 anos é considerado precoce e acima de 35 anos é caracterizado como postergação, ambos sendo um risco para a gestação (BRASIL, 2014). Neste trabalho foi observado 1 gestante positiva abaixo dos 20 anos e 3 positivas acima dos 35 anos.

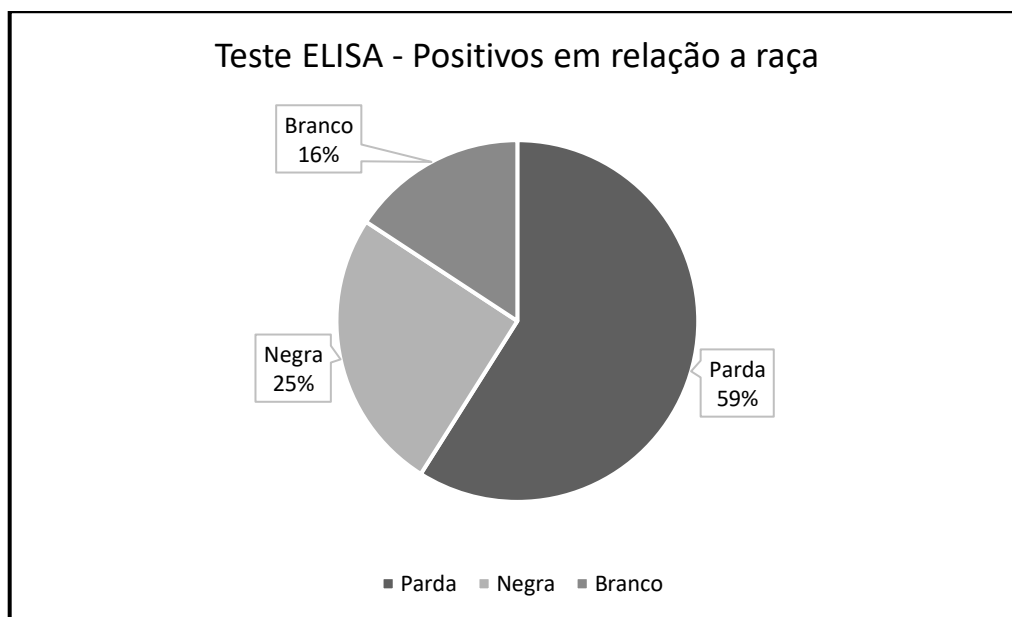
**Figura 23:** Teste ELISA – Positivos em relação a faixa etária



**Legenda:** Gestantes positivas em relação a idade, subdividas nos grupos de 14 a 24 anos, 25 a 35 anos e acima de 36 anos.

As amostras também foram caracterizadas quanto a raça, em que a predominância de soropositivas foi para pardas com 15 (62,5%) amostras, sendo 1 para CHIKV, 3 para ZIKV e 11 para DENV, as negras obtiveram 5 (20,8%) amostras positivas e as brancas 4 (16,7%) positivas, ambas para DENV. Os resultados estão ilustrados na FIG. 24. Marinho *et al.* (2016) analisou 1.608 dados de gestantes em que a maior prevalência de casos ocorreu em pardas e negras. No entanto, o número de casos positivos entre brancas e negras neste trabalho foram semelhantes. Apenas mulheres autodeclaradas pardas apresentaram um número significativamente maior de amostras positivas. O teste qui-quadrado não apresentou significância estatística em relação as variáveis, sendo necessário um número maior de amostras para fazer a relação das variáveis do estudo com os casos positivos de infecção por arbovírus.

**Figura 24:** Teste ELISA – Positivos em relação a raça



**Legenda:** Gestantes positivas em relação a raça parda, negra ou branca.

### **5.3 Avaliação das infecções por YFV no estado de Minas Gerais**

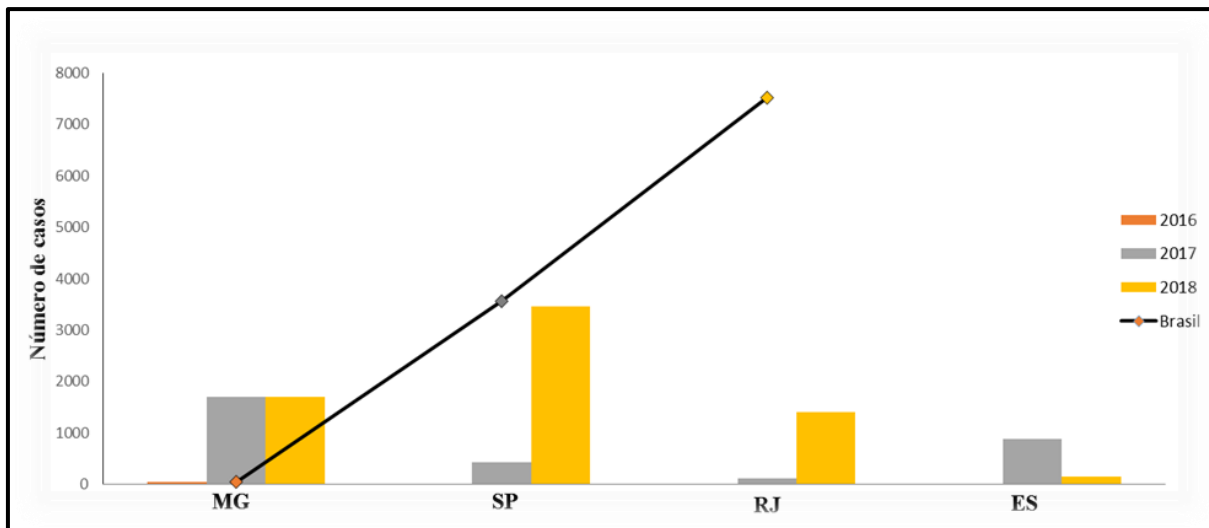
#### **5.3.1 Levantamento da taxa de vacinação no Brasil e em Minas Gerais**

No Brasil a circulação do YFV aumentou entre os anos 2002 e 2008, expandindo em áreas no sentido leste e sul do país. Diante disso, em 2008, o Ministério da Saúde redefiniu a classificação das áreas com circulação do vírus no país. As antigas denominações de área endêmica, área de transição e área indene foram substituídas por área com recomendação de vacina (ACRV) e área sem recomendação de vacina (ASRV) (BARNETT, 2007; BARRETT & HIGGS, 2007; BRASIL, 2014; MARFIN E MONATH, 2008; GARDNER E RYMAN, 2010).

Dados divulgados pelo Ministério da Saúde desde o ano de 1980 compõe uma série histórica da doença, e desde então o surto atual de 2016 é o maior já registrado. De acordo com dados do Ministério da Saúde, no período de monitoramento de dezembro de 2016 a julho de 2017 foram registrados 3.564 casos (BRASIL, 2018; DOUAM & PLOSS, 2018). Minas Gerais foi o epicentro dos casos, com cerca de 1.695 deles, seguido de Espírito Santo (878), São Paulo (432) e Rio de Janeiro (111). De acordo com o provável sítio de infecção, os casos foram relatados em 188 municípios, dos quais 49,4% estão em Minas Gerais, seguido do Espírito Santo (93), São Paulo (quatro) e Rio de Janeiro (dois) (BRASIL, 2017; PAHO, 2017). Para o período sazonal de monitoramento de julho de 2017 a junho de 2018 foram registrados na região Sudeste 6.715 casos em que o estado de SP notificou o

maior número de infectados (3.459). MG diminuiu o número de notificações, mas foi o segundo maior registro com 1.706 doentes, seguido por RJ com 1.402 e ES com 148 casos notificados. No país foram registrados 7.518 casos (BRASIL, 2017; 2018), como pode ser observado no gráfico abaixo (FIG. 25).

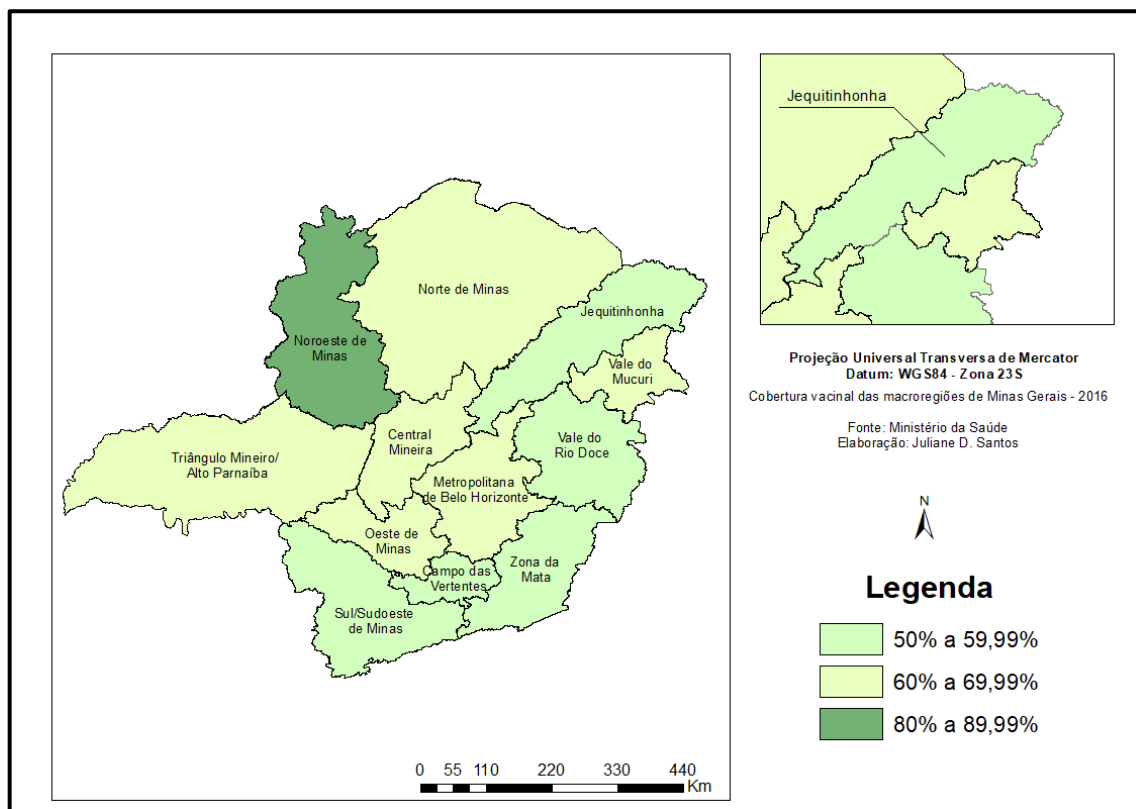
**Figura 25:** Número de casos de infecção por YFV de 2016-2018 nos estados do sudeste e Brasil.



**Legenda:** Casos de infecção por YFV notificados em Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro e Espírito Santo nos anos 2016 (laranja), 2017 (cinza) e 2018 (amarelo). Os casos do Brasil estão representados em linha.

Desde 2008 é recomendada a vacinação em todo estado de Minas Gerais, que possui 28 Unidades Regionais de Saúde. No ano de 2016 foi confirmada uma taxa de 57,2% de cobertura vacinal no estado, sendo que a Regional de Unaí, localizada na macrorregião Noroeste de Minas, é a única com cobertura vacinal acima de 80%. No ano de 2017 houve um aumento significativo para 82,9%, apenas as Unidades de Pouso Alegre, Varginha, São João Del Rei, Alfenas e Pedra Azul não obtiveram a cobertura acima de 80%; sendo a macrorregião Sul/Sudoeste de Minas a única a não atingir essa porcentagem. Atualmente, o estado aproxima-se de 91,1% de cobertura e a região Sul/Sudoeste de Minas prevalece abaixo dos 80% (BRASIL, 2016). A região do Jequitinhonha, no ano de 2016 apresentou uma cobertura vacinal entre 50% a 59,99%, e a partir do ano de 2017 houve um aumento exponencial acima de 80%. Campanhas de vacinação em massa contribuíram de forma significativa para a diminuição de casos e prevenção de surtos em todo o mundo (DOUAM & PLOS, 2018). As FIG. 26 e 27 abaixo ilustram um mapa da cobertura vacinal de YFV do estado de Minas Gerais por macrorregiões nos anos de 2016-2018.

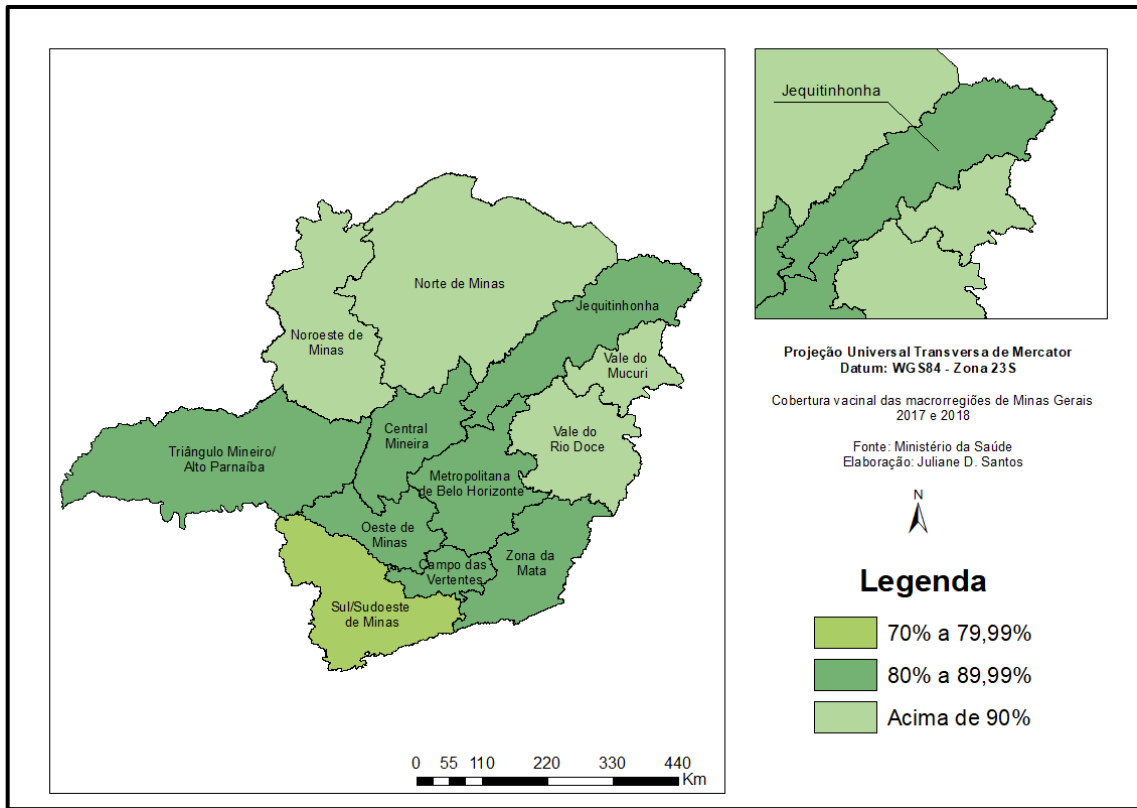
**Figura 26:** Mapa da cobertura vacinal das macrorregiões do estado de Minas Gerais no ano de 2016.



**Legenda:** Taxa vacinal de 50% a 89,99% no ano de 2016 nas macrorregiões de Minas Gerais.



**Figura 27:** Cobertura vacinal das macrorregiões do estado de Minas Gerais nos anos de 2017 e 2018.



**Legenda:** Taxa vacinal de 70% a acima de 90% no ano de 2017 e 2018 nas macrorregiões de Minas Gerais.

No período de monitoramento de 2016/2017 foram confirmados em Minas Gerais 162 óbitos, sendo que a parte mais significativa dos casos se concentrou na região dos Vales do Rio Doce e Mucuri, abrangendo também parte da Zona da Mata e Jequitinhonha. No período de 2017/2018 concentrou-se na região Metropolitana de Belo Horizonte, Zona da Mata e áreas correspondentes as regiões de Campos das Vertentes, Oeste e Sul/Sudoeste de Minas, onde foram confirmados 178 óbitos (BRASIL, 2018; SES/MG, 2018;).

### 5.3.2 Caracterização da população estudada

No ano de 2017 foram notificados 54 casos de FA silvestre em municípios atendidos pela Unidade Regional de Saúde de Diamantina (SESMG, 2017). Destes, 03 foram confirmados na cidade de Minas Novas, 02 em Coluna, 02 em Felício dos Santos, 02 em Rio Vermelho e 01 em Araçuaí.

Dos casos confirmados, oito foram internados na Santa Casa de Caridade de Diamantina, sendo 80% pertencente ao sexo masculino e 20% ao sexo feminino. Tuboi e colaboradores (2007) observaram uma taxa bem próxima à encontrada no presente estudo, na qual 81,3% das 251 amostras infectadas pelo YFV pertenciam ao sexo masculino. Essa maior

incidência de número de casos no sexo masculino pode estar associada a homens que realizam atividades em áreas nas florestas ou próximo a elas, correndo maior risco de exposição ao vetor da doença silvestre (COLLABORATIVE GROUP FOR STUDIES ON YELLOW FEVER VACCINES, 2014).

### 5.3.2.1 Caracterização clínico-laboratorial dos casos

Os pacientes infectados ficaram internados de um a dezoito dias, com uma média de seis dias na enfermaria e até onze dias na Unidade de Terapia Intensiva (UTI) com média aproximada de três dias. Jones & Wilson realizaram uma pesquisa com 103 pacientes infectados por YFV. Esses pacientes ficaram internados por um período de cinco a quarenta e dois dias e uma média de quatorze dias, apresentando um maior número de dias internados se comparado aos deste estudo (JONES & WILSON, 1972). Os resultados encontram-se ilustrados na TAB. 3.

Durante o período de internação os pacientes apresentaram diferentes sintomas. 62,5% tiveram baixa de plaquetas, necessitando de transfusão de plasma; 75% apresentaram quadro de icterícia, com níveis elevados de transaminase glutâmico-oxalacética (TGO) e transaminase glutâmico-pirúvica (TGP). Outros estudos demonstram que a icterícia é um sintoma presente na maioria dos casos de infecção pelo YFV e pode estar associada ao risco de morte, casos fatais na Venezuela e no Brasil apresentaram características semelhantes ao relatado, como icterícia e aumento nos exames laboratoriais para TGO e TGP (CDC 2000; 2002; COIMBRA *et al.*, 1997). Tuboi *et al* (2007), descreveram a ocorrência de icterícia em 150 dos 251 casos confirmados, com o TGO maior em pacientes com infecção moderada, seguido de pacientes com infecção grave, já o TGP foi maior em pacientes considerados graves, seguido dos casos moderados (TUBOI *et al.*, 2007).

**Tabela 3:** Caracterização dos casos de infecção por febre amarela de pacientes internados na SCCD.

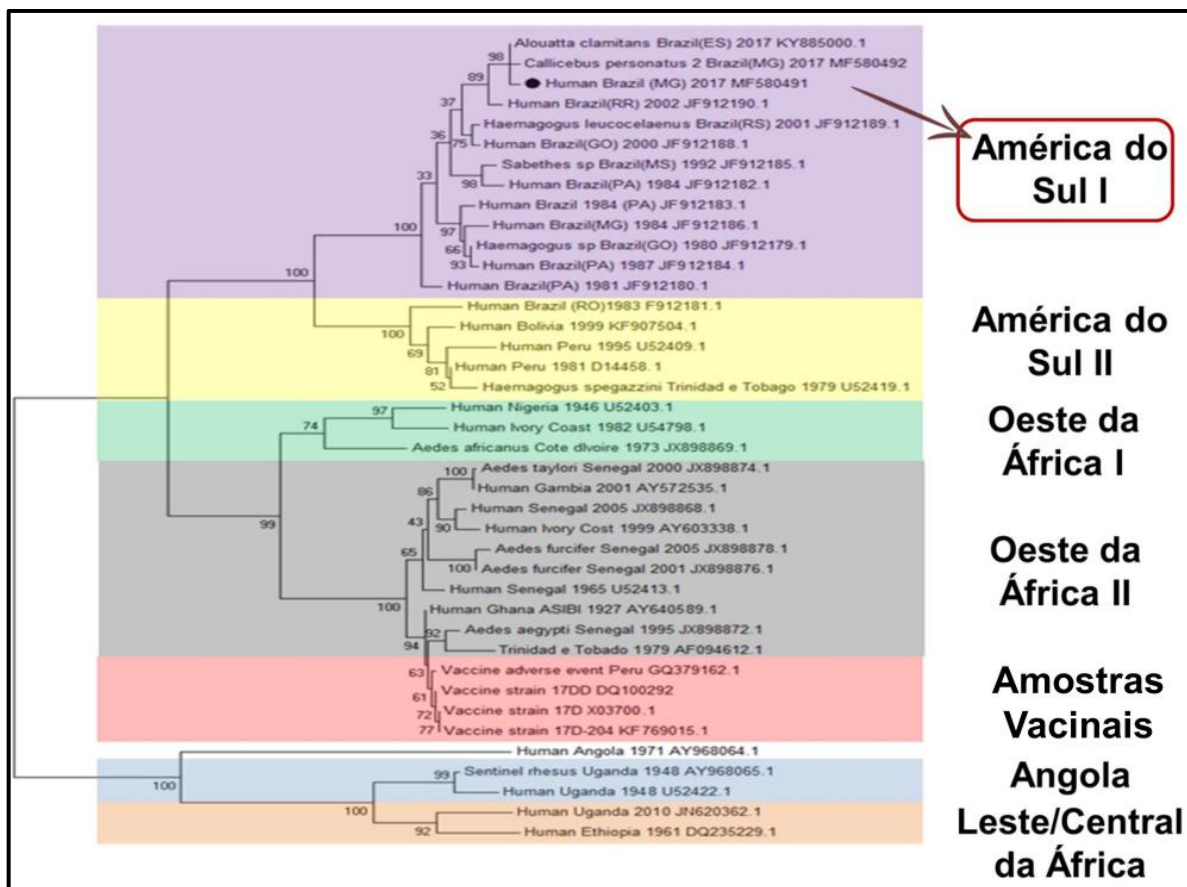
Pacientes	Sexo	Dias de hospitalização	UTI	Icterícia	Hemodiálise	Transfusão de plasma	PCR
1	M	9	1	Sim	Sim	Sim	-
2	M	2	2	Sim	Sim	Sim	-
3	M	4	4	Sim	Sim	Não	-
4	M	4	-	Sim	Não	Não	-
5	M	18	10	Sim	Sim	Sim	-
6	F	7	-	Não	Não	Sim	-
7	F	5	3	Sim	Sim	Não	+
8	M	-	-	-	-	-	+
<b>Total</b>				6 pacientes	5 pacientes	4 pacientes	2 pacientes

### **5.3.3 Análise molecular e filogenética**

Duas pessoas dos soros analisados evoluíram para óbito, e dentre estes casos um dos pacientes havia relatado que dois dias antes recebeu dose da vacina contra o YFV. O paciente inicialmente apresentou sintomas semelhantes ao de gripe, e durante a internação ele apresentou febre e trombocitopenia severa, sendo necessária a transfusão de plasma. No sexto dia de internação houve piora do quadro, com insuficiência hepática e trombocitopenia progressiva. Subsequente, no oitavo dia houve falha hepática, hemorragia e encefalite. No nono dia o paciente evoluiu para óbito. Segundo Monath (2001), 20 a 50% dos casos de febre amarela que apresentam doença hepatorenal evoluem para óbito e é raro a ocorrência da infecção do tecido cerebral levando a encefalite (MONATH, 2001), embora não possa ser afirmado se a encefalite foi ocasionada pelo quadro de infecção por YFV ou multiplicação viral no cérebro do paciente que foi a óbito.

Devido às suspeitas se a infecção ocorreu de forma clássica pelo mosquito ou através da vacina, foi realizado o sequenciamento da porção NS5 do genoma viral e a análise filogenética comparada a sequências genéticas presentes no GenBank<sup>®</sup> utilizando o software MEGA 6. Com a análise filogenética foi possível observar que o paciente foi infectado pelo genótipo América do Sul Genótipo I e não pela amostra utilizada na vacina, como observado o ponto preto na árvore filogenética na FIG. 28.

**Figura 28:** Análise filogenética da amostra do vírus isolado do soro do paciente com suspeita de infecção pela vacina.



**Legenda:** Localização filogenética da amostra isolada do paciente que evoluiu para óbito após ser vacinado dois dias antes. A análise foi realizada utilizando o sequenciamento do fragmento NS5 do genoma.

Embora a análise tenha demonstrado que a infecção não ocorreu devido a vacina, há relatos de 1996 a 2001 em que cinco pessoas apresentaram sintomas após receberem dose da vacina 17D. De 1999 a 2000 dois brasileiros adoeceram após serem vacinados. Todos apresentaram sintomatologia 2 a 5 dias após a vacinação e seis dos casos evoluíram para óbito (CDC, 2001). Outro estudo investigou dois casos que apresentaram sintomatologia após a vacinação: uma mulher de 22 anos e uma criança de 5 anos, sendo que ambas evoluíram para óbito (VASCONCELOS *et al.*, 2001). Apesar dos registros de pessoas que desenvolveram sintomas após a aplicação da vacina, desde 1930 ela tem se mostrado bastante eficaz ao promover imunidade humoral ao longo do tempo, sendo considerada a principal profilaxia contra a doença (LOPES *et al.*, 2019).

## 6. CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou a importância de pesquisas epidemiológicas voltadas para caracterização dos casos de infecção por arbovírus, demonstrando que indicadores sociodemográficos podem estar associados a maior vulnerabilidade de infecção.

Através da análise por teste ELISA de 264 pacientes que deram entrada no Hospital Santa Casa de Caridade de Diamantina com suspeita de arbovirose, observou-se, nos soropositivos, maior prevalência do sinal de alarme hipotensão ortostática e/ou lipotimia, no sexo feminino e em pessoas que possuíam idade entre 23 a 33 anos.

Amostras de 135 gestantes também foram analisadas para DENV, CHIKV e ZIKV, mostrando prevalência maior de infecções em mulheres com idade entre 25 a 35 anos, ensino médio completo, autodeclaradas pardas e com renda de um a três salários mínimos.

Embora atualmente as taxas de vacinação para Febre Amarela nas diferentes macrorregiões de Minas Gerais sejam consideradas altas, ainda há inúmeros casos de infecção pela doença, sendo registrados dois óbitos de oito pacientes internados na cidade de Diamantina. Um dos pacientes que faleceu havia relatado que recebeu a dose da vacinação dias antes e suspeitou-se que a vacina havia acarretado os sintomas, através de testes moleculares e filogenéticos foi observado que o paciente havia se infectado através do ciclo silvestre.

A Lei n ° 8080/90 definiu que a vigilância epidemiológica tem como objetivo fornecer orientações técnicas, desenvolver ações de controle e prevenção de doenças, agravos e eventos de saúde (BRASIL, 1990). Dessa maneira, ações de controle e prevenção dos arbovírus se configuram de grande importância para a vigilância epidemiológica, no entanto são doenças de difícil controle, sendo considerado um problema de saúde pública.

Assim, os resultados desta pesquisa possibilitam auxiliar na definição de políticas públicas de controle contra as arboviroses analisadas, principalmente voltadas para a região do Vale do Jequitinhonha, indicando características que podem direcionar ações profiláticas. No entanto, os testes estatísticos não apresentaram significância, demonstrando a necessidade de mais estudos com um número maior de casos para averiguar a relação da soropositividade com as diferentes variáveis, possibilitando traçar um perfil mais próximo da realidade por contemplar mais amostras.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, T. T.; NOVAIS, M. C. M.; GUIMARÃES, I. C. B. Children with microcephaly associated with zika virus congenital infection: clinical and epidemiological characteristics in a tertiary hospital. **Rev Ciênc Méd Biol**, v. 15, n. 3, p. 426-33, 2016.
- ALEXANDER, N. *et al.* Multicentre prospective study on dengue classification in four South-east Asian and three Latin American countries. **Tropical Medicine & International Health**, v. 16, n. 8, p. 936-948, 2011.
- AZEREDO, E. L. *et al.* Clinical and laboratory profile of zika and dengue infected patients: lessons learned from the co-circulation of dengue, zika and chikungunya in Brazil. **PLoS currents**, v. 10, 2018.
- BARBEITO-ANDRÉS, J. *et al.* Congenital Zika syndrome is associated with maternal protein malnutrition. **Science Advances**, v. 6, n. 2, p. eaaw6284, 2020.
- BASURKO, C. *et al.* Maternal and foetal consequences of dengue fever during pregnancy. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 147, n. 1, p. 29-32, 2009.
- BENCHIMOL, J. L. Febre amarela: a doença e a vacina, uma história inacabada. **Fiocruz**, 2001.
- BENTHEM, V. B. H. B. *et al.* Spatial patterns of and risk factors for seropositivity for dengue infection. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 72, n. 2, p. 201-208, 2005.
- BESNARD, M., *et al.* Evidence of perinatal transmission of Zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014. **Eurosurveillance**, v. 19, n. 13, p. 20751, 2014.
- BORGHERINI, G. *et al.* Outbreak of chikungunya on Reunion Island: early clinical and laboratory features in 157 adult patients. **Clinical infectious diseases**, v. 44, n. 11, p. 1401-1407, 2007.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Manual de vigilância de Febre Amarela. Brasília – DF, 2004.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Guia de vigilância de epizootias em primatas não humanos e entomologia aplicada à vigilância da febre amarela. 2. ed. atual. Brasília, 2017.
- BRASIL, P. *et al.* Zika virus outbreak in Rio de Janeiro, Brazil: clinical characterization, epidemiological and virological aspects. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 10, n. 4, 2016.
- BRASIL. Ministério da Saúde. História da Febre Amarela no Brasil. Rio de Janeiro, 1969.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Preparação e resposta à introdução do vírus Chikungunya no Brasil. Brasília – DF, 2014.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Dengue: Diagnóstico e manejo clínico. 5 ed. Brasília – DF, 2016.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Ministério da Saúde alerta para aumento de 149% dos casos de dengue no país. 2019. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/45257-ministerio-da-saude-alerta-para-aumento-de-149-dos-casos-de-dengue-no-pais>. Acesso em: 12 de jan. 2020.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Saúde Brasil 2009. Uma análise da situação de saúde e da agenda nacional e internacional de prioridades em saúde. Brasília- DF, 2009.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas transmitidas pelo Aedes (dengue, chikungunya e Zika), Semanas Epidemiológicas 1 a 34. 2019. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/setembro/11/BE-arbovirose-22.pdf>. Acesso em: 19 de nov. 2019.
- Brasil. Ministério da Saúde. Guia de vigilância em saúde. 2014. Disponível em: [http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_vigilancia\\_saude\\_unificado.pdf](http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_saude_unificado.pdf). Acesso em: 12 de dez. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Guia de vigilância em saúde. Vacina de Febre Amarela será estendida a todo Brasil. 2018. Disponível em: <<http://portalms.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/42849-vacina-de-febre-amarela-sera-ampliada-para-todo-o-brasil>>. Acesso em: 12 de dez. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico: Emergência epidemiológica da febre amarela no Brasil, de dezembro de 2016 a julho de 2017. V. 48, n. 28, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Monitoramento do período sazonal de Febre Amarela 2017-2018. 2018. Disponível em: <<http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/outubro/08/Informe-FA.pdf>>. Acesso em: 15 de jan. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Monitoramento de Febre Amarela – Brasil 2019. 2019. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/junho/13/Informe-de-Monitoramento-de-Febre-Amarela-Brasil--n-18.pdf>. Acesso em: 24 de nov. de 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Zika: Exames laboratoriais. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/zika-virus/17826-tratamento-zika>. Acesso em: 27 de nov. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Atenção à saúde do recém-nascido. Guia para profissionais de saúde. 2 ed. Brasília – DF, 2014.

BRITO, C. Zika virus: a new chapter in the history of medicine. **Acta Médica Portuguesa**, v. 28, n. 6, p. 679-680, 2015.

BRYANT, J. E.; HOLMES, E. C.; BARRETT, A. D. T. Out of Africa: a molecular perspective on the introduction of yellow fever virus into the Americas. **PLoS pathogens**, v. 3, n. 5, p. e75, 2007.

CARDOSO, I. M. *et al.* Dengue: clinical forms and risk groups in a high incidence city in the southeastern region of Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 4, p. 430-435, 2011.

CARVALHO, F. R. *et al.* Simultaneous circulation of arboviruses and other congenital infections in pregnant women in Rio de Janeiro, Brazil. **Acta tropica**, v. 192, p. 49-54, 2019.

CARVALHO, R.G., L. de O. R.; BRAGA, I.A. Updating the geographical distribution and frequency of *Aedes albopictus* in Brazil with remarks regarding its range in the Americas. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 109, p. 787–96, 2014.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Fever, jaundice, and multiple organ system failure associated with 17D-derived yellow fever vaccination, 1996-2001. **MMWR. Morbidity and mortality weekly report**, v. 50, n. 30, p. 643, 2001.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Fatal yellow fever in a traveler returning from Venezuela, 1999. **MMWR. Morbidity and mortality weekly report**, v. 49, n. 14, p. 303, 2000.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Fatal yellow fever in a traveler returning from Amazonas, Brazil, 2002. **MMWR. Morbidity and mortality weekly report**, v. 51, n. 15, p. 324, 2002.

CHARLIER, C. *et al.* Arboviruses and pregnancy: maternal, fetal, and neonatal effects. **The Lancet Child & Adolescent Health**, v. 1, n. 2, p. 134-146, 2017.

CHENG, R. H. *et al.* Nucleocapsid and glycoprotein organization in an enveloped virus. **Cell**, v. 80, n. 4, p. 621-630, 1995.

COIMBRA, T. L. M. *et al.* Investigação epidemiológica de casos de febre amarela na região noroeste do estado de São Paulo, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 21, p. 193-199, 1987.

COLLABORATIVE GROUP FOR STUDIES ON YELLOW FEVER VACCINES *et al.* Duration of post-vaccination immunity against yellow fever in adults. **Vaccine**, v. 32, n. 39, p. 4977-4984, 2014.

DÉGALLIER, N.; *et al.* New entomological and virological data on the vectors of sylvatic yellow fever in Brazil. *Journal of the Brazilian Association for the Advancement of Science*. Volume 44(2/3) March/June 1992.

DEJNIRATTISAI, W. *et al.* Dengue virus sero-cross-reactivity drives antibody-dependent enhancement of infection with zika virus. **Nature immunology**, 17(9), 1102, 2016.

DEMANOU, M. *et al.*, Chikungunya outbreak in a rural area of Western Cameroon in 2006: A retrospective serological and entomological survey. **BMC research notes**, 2010. 3(1): p. 128.

DELISLE, E. *et al.* Chikungunya outbreak in montpellier, France, September to October 2014. **Euro Surveill**, v. 20, n. 17, p. 21108, 2015.

DIALLO, M. *et al.* Vectors of chikungunya virus in Senegal: current data and transmission cycles. **Am J Trop Med Hyg**, v. 60, p. 281–286, 1999.

DICK, G. W. A.; KITCHEN, S. F.; HADDOW, A. J. Zika vírus (I). Isolations and serological specificity. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 46, n. 5, p. 509–520, 1952, 1952.

DINIZ, D. Zika virus and women. **Cadernos de saúde pública**, v. 32, p. e00046316, 2016.

DONALISIO, M. R.; FREITAS, A. R. R.; ZUBEN, A. P. B. V. Arboviruses emerging in Brazil: challenges for clinic and implications for public health. **Revista de Saúde Pública**, v. 51, p. 30, 2017.

DOUAM, F.; PLOSS, A. Yellow fever virus: knowledge gaps impeding the fight against an old foe. **Trends in microbiology**, v. 26, n. 11, p. 913-928, 2018.

DUFFY, M. R.; *et al.* Zika vírus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 24, p. 2536-2543, 2009.

ESTOFOLETE, C. F. *et al.* Co-infection between Zika and different Dengue serotypes during DENV outbreak in Brazil. **Journal of infection and public health**, v. 12, n. 2, p. 178-181, 2019.

FAGBAMI, A. H. Zika virus infections in Nigeria: virological and seroepidemiological investigations in Oyo State. **Epidemiology & Infection**, v. 83, n. 2, p. 213-219, 1979.

FARES, R. C. G. *et al.* Epidemiological scenario of dengue in Brazil. **BioMed research international**, v. 2015, 2015.

FARIA, N. R. *et al.* Zika virus in the Americas: early epidemiological and genetic findings. **Science**, v. 352, n. 6283, p. 345-349, 2016.

FARIA, N. R. *et al.* Epidemiology of chikungunya virus in Bahia, Brazil, 2014-2015. **PLoS currents**, v. 8, 2016.

FAUCI, A. S.; MORENS, D. M. Zika virus in the Americas—yet another arbovirus threat. **New England Journal of Medicine**, v. 374, n. 7, p. 601-604, 2016.

FELIX, A. C. *et al.* Cross reactivity of commercial anti-dengue immunoassays in patients with acute Zika virus infection. **Journal of medical virology**, v. 89, n. 8, p. 1477-1479, 2017.

FERREIRA, K. V. *et al.* Histórico da febre amarela no Brasil e a importância da vacinação anti-amarela. **Arquivos Brasileiros de Ciências da Saúde**, São Paulo, v.36, n.1, p. 40-47, jan.-abr. 2011.

FIGUEIREDO, L. T. M. Arboviroses emergentes no Brasil. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 40, n. 2, p. 224-229, 2007.

FIGUEIREDO, L. T. M. The recent arbovirus disease epidemic in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 48, n. 3, p. 233-234, 2015.

FIGUEIROA, M. N. *et al.* Prevalence of Arbovirus Infections Among Pregnant Women at a Maternity Hospital School. **International Archives of Medicine**, v. 10, p. 1-10, 2017.

FOY, B. D. *et al.* Probable non-vector-borne transmission of Zika virus, Colorado, USA. **Emerging infectious diseases**, v. 17, n. 5, p. 880, 2011.



FRANCO, L. S. *et al.* Seeking Flavivirus cross-protective immunity. **Frontiers in Immunology**, v. 10, p. 2260, 2019.

GALLIAN, P. *et al.* Prospective detection of chikungunya virus in blood donors, Caribbean 2014. **Blood**, v. 123, n. 23, p. 3679, 2014.

GAN, S. D.; PATEL, K. R. Enzyme immunoassay and enzyme-linked immunosorbent assay. **J Invest Dermatol**, v. 133, n. 9, p. e12, 2013.

GARDNER, L. M. *et al.* Inferring the risk factors behind the geographical spread and transmission of Zika in the Americas. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 1, 2018.

GILLESPIE, L. K. *et al.* The endoplasmic reticulum provides the membrane platform for biogenesis of the flavivirus replication complex. **Journal of virology**, v. 84, n. 20, p. 10438-10447, 2010.

GITHEKO, A. K. *et al.* Climate change and vector-borne diseases: a regional analysis. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 78, p. 1136-1147, 2000.

GOULD, L.H. *et al.* An outbreak of yellow fever with concurrent chikungunya virus transmission in South Kordofan, Sudan, 2005. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 102, n. 12, p. 1247-1254, 2008.

GRARD, G. *et al.* Zika virus in Gabon (Central Africa)–2007: a new threat from *Aedes albopictus*?. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 8, n. 2, 2014.

GROSSI-SOYSTER, E. N. *et al.* Serological and spatial analysis of alphavirus and flavivirus prevalence and risk factors in a rural community in western Kenya. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 11, n. 10, p. e0005998, 2017.

GUBLER, D. J. The global resurgence of arboviral diseases. **Trans. roy Soc. trop. Med. Hyg.**, v. 90, p. 449-451, 1996.

GUBLER D. J. Dengue and dengue hemorrhagic fever. **Clinical microbiology reviews**, v. 11, n. 3, p. 480–496, 1998.

GUBLER, D. J. Human Arbovirus Infections Worldwide. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 951, n. 1, p. 13-24, 2001.

GUBLER, D.J. The changing epidemiology of yellow fever and dengue, 1900 to 2003: full circle? Comparative Immunology, **Microbiology and Infectious Diseases**, v. 27, n. 5, p. 319–330, 2004.

GUBLER, D. J. Dengue/dengue haemorrhagic fever: history and current status. In: **Novartis foundation symposium**. Chichester; New York; John Wiley; 1999, 2006.

GUBLER, D.J. Vector-borne diseases. **Revue Scientifique et Technique de l'OIE**, v. 28, n. 2, p. 583–588, 2009.

GUZMAN M.G.; HARRIS E. Dengue. **Lancet**. v. 385, n. 9966, p. 453-65, 2015.

HAMRICK, P. N. *et al.* Geographic patterns and environmental factors associated with human yellow fever presence in the Americas. **Neglected Tropical Diseases**, Estados Unidos, v.11, n.9, p.1-27, 2017.

HALSTEAD, S. B. Mosquito-borne haemorrhagic fevers of South and South-East Asia. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 35, n. 1, p. 3, 1966.

HALSTEAD, S. B. *et al.* Dengue and chikungunya virus infection in man in Thailand, 1962–1964. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 18, n. 6, p. 997-1021, 1969.

HALSTEAD, S B. Dengue haemorrhagic fever--a public health problem and a field for research. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 58, n. 1, p. 1-21, 1980.

HAMMON, W.M. Dengue hemorrhagic fever-do we know its cause? **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 22, n. 1, p. 82-91, 1973.

HAYES, E. B.; GUBLER, D. J. Dengue and dengue hemorrhagic fever. **The Pediatric infectious disease journal**, v. 11, n. 4, p. 311-317, 1992.

HERTZ, J.T. *et al.* Chikungunya and dengue fever among hospitalized febrile patients in northern Tanzania. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 86, n. 1, p. 171-177, 2012.

HOLMES, E.; TWIDDY, S. The origin, emergence and evolutionary genetics of dengue virus. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 3, n. 1, p. 19–28, 2003.

HSU, N. Y. *et al.* Viral reorganization of the secretory pathway generates distinct organelles for RNA replication. **Cell**, v. 141, n. 5, p. 799-811, 2010.

INZIANI, M. *et al.* Seroprevalence of yellow fever, dengue, West Nile and chikungunya viruses in children in Teso South Sub-County, Western Kenya. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 91, p. 104-110, 2020.

IOOS, S. *et al.* Current Zika virus epidemiology and recent epidemics. **Medecine et maladies infectieuses**, v. 44, n. 7, p. 302-307, 2014.

INTEGRATED REGIONAL INFORMATION NETWORKS (IRIN). Chikungunya spreads to Pool region. IRIN, 2011. Disponível em: <<http://www.thenewhumanitarian.org/report/93112/congo-chikungunya-spreads-pool-region>>. Acesso em: 30 de nov. 2019.

JENTES, E.S. *et al.* Acute arboviral infections in Guinea, west Africa, 2006. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 83, n. 2, p. 388-394, 2010.

JOHNSON, B. W.; RUSSELL, B. J.; GOODMAN, C. H. Laboratory diagnosis of chikungunya virus infections and commercial sources for diagnostic assays. **The Journal of infectious diseases**, v. 214(suppl\_5), p. S471-S474, 2016.

JONES, K. E. *et al.* Global trends in emerging infectious diseases. **Nature**, v. 451, n. 7181, p. 990-3, 2008.

JONES, E. M.M.; WILSON, D. C. Clinical features of yellow fever cases at Vom Christian Hospital during the 1969 epidemic on the Jos Plateau, Nigeria. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 46, n. 5, p. 653, 1972.

JOURDAIN, F. *et al.* Facteurs entomologiques d'émergence des arboviroses. **Transfusion Clinique et Biologique**, v. 22, n. 3, p. 101–106, 2015.

KAM, Y. W. *et al.* Sero-prevalence and cross-reactivity of chikungunya virus specific anti-E2EP3 antibodies in arbovirus-infected patients. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 9, n. 1, 2015.

KIELIAN, M.; CHANEL-VOS, C.; LIAO, M. Alphavirus entry and membrane fusion. **Viruses**, v. 2, n. 4, p. 796-825, 2010.

KINDHAUSER, M. K. *et al.* Zika: the origin and spread of a mosquito-borne virus. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 94, n. 9, p. 675, 2016.

KUNO, G *et al.* "Phylogeny of the genus Flavivirus." **Journal of virology** vol. 72,n. 1, p. 73-83, 1998.

KODIER, G.R. *et al.* Epidemic dengue 2 in the city of Djibouti 1991–1992. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 90, n. 3, p. 237-240, 1996.

KRAEMER, M. U. G. *et al.* The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. **Elife**, v. 4, p. e08347, 2015.

KULARATNE, S. A. M. *et al.* Epidemiology, clinical manifestations, and long-term outcomes of a major outbreak of chikungunya in a hamlet in Sri Lanka, in 2007: a longitudinal cohort study. **Journal of tropical medicine**, v. 2012, 2012.

LANA, F. C. F. *et al.* Hanseníase em menores de 15 anos no Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Enfermagem**, v. 60, n. 6, p. 696-700, 2007.

LANCIOTTI, R. S. *et al.* Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia. **Emerging infectious diseases**, v. 14, n. 8, p. 1232, 2007.

LEDERMAN, E. *et al.* Transfusion-related transmission of yellow fever vaccine virus-California, 2009. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 59, n. 2, p. 34-37, 2010.

LEPARC-GOFFART, I. *et al.* Chikungunya in the Americas. **The Lancet**, v. 383, n. 9916, p. 514, 2014.

LINDENBACH, B. D.; RICE, C. M. Molecular biology of flaviviruses. **Advances in virus research**, v. 59, p. 23-62, 2003.

LIUMBRUNO, G.M. *et al.* The Chikungunya epidemic in Italy and its repercussion on the blood system. **Blood Transfus**, v. 6, n. 4, p. 199-210, 2008.

LOPES, N.; NOZAWA, C.; LINHARES, R. E. C.. Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 5, n. 3, p. 55-64, 2014.

LOPES, R. L. *et al.* Kidney involvement in yellow fever: a review. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 61, 2019.

LUCEY, D.; GOSTIN, L. O. A yellow fever epidemic: a new global health emergency? **Jama**, v. 315, n. 24, p. 2661-2662, 2016.

MANSFIELD, K. L. *et al.* Flavivirus-induced antibody cross-reactivity. **The Journal of general virology**, v. 92, Pt 12, p. 2821, 2011.

MARCHETTE, N. J.; GARCIA, R.; RUDNICK, A. Isolation of Zika virus from *Aedes aegypti* mosquitoes in Malaysia. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 18, n. 3, p. 411-415, 1969.

MARINHO, F. Microcefalia no Brasil: prevalência e caracterização dos casos a partir do Sistema de Informações sobre Nascidos Vivos (Sinasc), 2000-2015. **Epidemiol. Serv. Saude**, v. 25, n. 4, p. 701-712, 2016.

MARTINES, R. B. *et al.* Pathology of congenital Zika syndrome in Brazil: a case series. **The Lancet**, v. 388, n. 10047, p. 898-904, 2016.

MARTINS, V. do C. A. *et al.* Clinical and virological descriptive study in the 2011 outbreak of dengue in the Amazonas, Brazil. **PLoS One**, v. 9, n. 6, 2014.

MEDLOCK, J.M. *et al.* A 673 review of the invasive mosquitoes in Europe: ecology, public health risks, and control options. **674 Vector-Borne Zoonotic Dis.**, v. 12, p. 435-47, 2012.

MEASE, L. E. *et al.* Seroprevalence and distribution of arboviral infections among rural Kenyan adults: a cross-sectional study. **Virology journal**, v. 8, n. 1, p. 371, 2011.

MERCADO, M. *et al.* Clinical and histopathological features of fatal cases with dengue and chikungunya virus co-infection in Colombia, 2014 to 2015. **Eurosurveillance**, v. 21, n. 22, p. 30244, 2016.

MONATH, T. P. Yellow fever vaccine. **Expert review of vaccines**, v. 4, n. 4, p. 553-574, 2005.

MONDET, B.; ROSA, A. P. D. A. T.; VASCONCELOS, P. F. D. C. Les risques d'épidémisation urbaine de la fièvre jaune au Brésil par les vecteurs de la dengue: *Aedes aegypti* et *Aedes albopictus*. **Buli. Soco Path. Ex.**, v. 89, p. 107-114, 1996.

MOREIRA, J. *et al.* Sexually acquired Zika virus: a systematic review. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 23, n. 5, p. 296-305, 2017.

MORO, M. L. *et al.* Chikungunya virus in North-Eastern Italy: a seroprevalence survey. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 82, n. 3, p. 508-511, 2010.

MOTA, M. T. D. O. RIBEIRO, M. R.; VEDOVELLO, D.; NOGUEIRA, M. L. Mayaro virus: a neglected arbovirus of the Americas. **Future virology**, v. 10, n. 9, p. 1109-1122, 2015.

MOYEN, N. *et al.* First reported chikungunya Fever outbreak in the republic of congo, 2011. **PLoS One**, v. 9, n. 12, p. e115938, 2014.

MUSSO, D. *et al.* Potential sexual transmission of Zika virus. **Emerging infectious diseases**, v. 21, n. 2, p. 359, 2015.

MUSSO, D.; GUBLER, D. J. Zika virus. **Clinical microbiology reviews**, v. 29, n. 3, p. 487-524, 2016.

MURRAY, K. O. *et al.* Prolonged detection of Zika virus in vaginal secretions and whole blood. **Emerging infectious diseases**, v. 23, n. 1, p. 99, 2017.

MYERS, R. M.; CAREY, D. E. Concurrent isolation from patient of two arboviruses, chikungunya and dengue type 2. **Science** v. 157, p. 1307–1308, 1976.

NOGUEIRA, R. M. R. *et al.* Isolation of dengue virus type 2 in Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 85, n. 2, 1990.

NOGUEIRA, R. M. R. *et al.* Dengue virus type 3 in Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 7, p. 925-926, 2001.

NOGUEIRA, R. M. R.; EPPINGHAUS, A. L. F. Dengue virus type 4 arrives in the state of Rio de Janeiro: A challenge for epidemiological surveillance and control. **Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 106, n. 3, p. 255-256, 2011.

NUNES, M. R. T. *et al.* Emergence and potential for spread of Chikungunya virus in Brazil. **BMC medicine**, v. 13, n. 1, p. 102, 2015.

OLE KWALLAH, A. *et al.* A real-time reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay for the rapid detection of yellow fever virus. **Journal of virological methods**, v. 193, n. 1, p. 23-27, 2013.

OLSON, J.G.; *et al.* Zika virus, a cause of fever in Central Java, Indonesia. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 75, n. 3, p. 389-393, 1981.

OLIVEIRA, W. K., *et al.* Infection-related microcephaly after the 2015 and 2016 Zika virus outbreaks in Brazil: a surveillance-based analysis. **The Lancet**, v. 390, n. 10097, p. 861-870, 2017.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). Folha informativa – Dengue e Dengue grave. 2019. 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 de jan. 2020.

OSANAI, C.H. *et al.* Surto de Dengue em Boa Vista, Roraima: Nota Prévia. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 25, n. 1, p. 53-4, 1983.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION (PAHO). Preparedness and Response for Introduction in the Americas Chikungunya Virus. 2011. Disponível em: <[https://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=3545:2010-preparedness-response-chikungunya-virus-introduction-americas&Itemid=39837&lang=en](https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=3545:2010-preparedness-response-chikungunya-virus-introduction-americas&Itemid=39837&lang=en)>. Acesso em: 2 de jan. 2020.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION (PAHO). Epidemiological Update Dengue. 2019. Disponível em: <[https://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&view=download&category\\_slug=dengue-2217&alias=50321-13-september-2019-dengue-epidemiological-update&Itemid=270&lang=en](https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=dengue-2217&alias=50321-13-september-2019-dengue-epidemiological-update&Itemid=270&lang=en)>. Acesso em: 13 de dez. 2019.

PAIXAO, E.S. *et al.* History, epidemiology, and clinical manifestations of Zika: a systematic review. **American Journal of Public Health**, v. 106, n. 4, p. 606-612, 2016.

PAIXÃO, E. S. *et al.* Dengue during pregnancy and adverse fetal outcomes: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet infectious diseases**, v. 16, n. 7, p. 857-865, 2016.

PAUPY, C. *et al.* Aedes albopictus, an arbovirus vector: from the darkness to the light. **Microbes and infection**, v. 11, n. 14-15, p. 1177-1185, 2009.

PESSANHA, J. E. M. *et al.* Dengue em três distritos sanitários de Belo Horizonte, Brasil: inquérito soroepidemiológico de base populacional, 2006 a 2007. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 27, p. 252-258, 2010.

PETERSEN, L. R; *et al.* Zika virus. **New England Journal of Medicine**, v. 374, n. 16, p. 1552-1563, 2016.

PIALOUX, G. *et al.* Chikungunya, an epidemic arbovirolosis. **The Lancet infectious diseases**, v. 7, n. 5, p. 319-327, 2007.

PINHEIRO, F., F. D. P. *et al.* An epidemic of yellow fever in central Brazil, 1972-1973. I. Epidemiological studies. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 27, n. 1, p. 125-132, 1978.

PORTER, K. R. *et al.* A serological study of Chikungunya virus transmission in Yogyakarta, Indonesia: evidence for the first outbreak since 1982. **Southeast Asian J Trop Med Public Health**, v. 35, p. 408–415, 2004.

POSSAS, C. *et al.* Yellow fever outbreak in Brazil: the puzzle of rapid viral spread and challenges for immunisation. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. v. 113, n. 10, p. e180278, 2018.

POWERS, A. M.; LOGUE, C. H. Changing patterns of chikungunya virus: re-emergence of a zoonotic arbovirus. **J. Gen. Virol.** v. 88, p. 2363–2377, 2007.

PRATA-BARBOSA, A. *et al.* Co-infection with Zika and chikungunya viruses associated with fetal death—A case report. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 72, p. 25-27, 2018.

PRISANT, N. *et al.* Zika virus in the female genital tract. **The Lancet infectious diseases**, v. 16, n. 9, p. 1000-1001, 2016.

QUEYRIAUX, B. *et al.* Clinical burden of chikungunya virus infection. **Lancet Infect Dis.** v. 8, n. 1, p. 2-3, 2008.

REED, W.; CARROLL, J.; AGRAMONTE, A. Experimental yellow fever. **Military medicine**, v. 166, n. 9, p. 55, 2001.

RENAULT, P. *et al.* Epidemiology of Chikungunya infection on Reunion Island, Mayotte, and neighboring countries. **Médecine et maladies infectieuses**, v. 42, n. 3, p. 93-101, 2012.

RIBAS, E. O mosquito como agente de propagação da febre amarela. **Bras Med.** v. 15, n. 34, p. 331-4, 1901.

ROBINSON, M. C. An epidemic of virus disease in Southern Province, Tanganyika territory, in 1952–1953. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 49, n. 1, p. 28-32, 1955.

RODRIGUEZ-MORALES, A. J.; VILLAMIL-GÓMEZ, W. E.; FRANCO-PAREDES, C. The arboviral burden of disease caused by co-circulation and co-infection of dengue, chikungunya and Zika in the Americas. **Travel Medicine and Infectious Disease**. v. 14, n. 3, p. 177, 2016

RUST, R. S. Human Arboviral Encephalitis. **Seminars in Pediatric Neurology**, v. 19, n. 3, p. 130-151, 2012.

RUSSELL, B. M.; KAY, B. H.; SHIPTON, W. Survival of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) eggs in surface and subterranean breeding sites during the northern Queensland dry season. **Journal of medical entomology**, v. 38, n. 3, p. 441-445, 2001.

SABIN, A. B. Research on dengue during World War II. **American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 1, n. 1, p. 30-50, 1952.

SAXENA, S. K. *et al.* Resurgence of chikungunya virus in India: an emerging threat. **Euro Surveill**, v. 11, p. E060810–E060812, 2006.

SCHATZMAYR, H.G.; NOGUEIRA, R.M.; TRAVASSOS, A. P. da R. An outbreak of dengue virus at Rio de Janeiro--1986. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 81, n. 2, p. 245-6, 1986.

SECRETARIA DO ESTADO DE SAÚDE DE MINAS GERAIS (SESMG). Boletim epidemiológico: Febre Amarela selvagem em Minas Gerais. 2018. Disponível em: <<http://www.saude.mg.gov.br/images/documentos/Boletim%20-%20Febre%20Amarela%2020%20de%20fevereiro%20de%202018.pdf>>. Acesso em: 18 de jan. 2020.

SECRETARIA DO ESTADO DE SAÚDE DE MINAS GERAIS. Boletim de monitoramento de casos de Dengue, Chikungunya e Zika. 2019. Disponível em: <[http://www.saude.mg.gov.br/images/noticias\\_e\\_eventos/000\\_2019/set\\_out\\_nov\\_deze/aedes/Boletim\\_Aedes\\_04.11.2019.pdf](http://www.saude.mg.gov.br/images/noticias_e_eventos/000_2019/set_out_nov_deze/aedes/Boletim_Aedes_04.11.2019.pdf)>. Acesso em: 21 de jan. 2020.

SECRETARIA DO ESTADO DE SAÚDE DE MINAS GERAIS. Boletim epidemiológico de doenças transmitidas pelo *Aedes*: Dengue, Chikungunya e Zika. 2019. Disponível em: <<http://www.saude.mg.gov.br/component/gmg/story/11953-boletim-epidemiologico-de-monitoramento-dos-casos-de-dengue-chikungunya-e-zika-18-12>>. Acesso em: 14 de jan. 2020.

SERGON, K. *et al.* Seroprevalence of chikungunya virus (CHIKV) infection on Lamu Island, Kenya, October 2004. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 78, n. 2, p. 333-337, 2008.

SERGON, K. *et al.* Seroprevalence of chikungunya virus infection on Grande Comore Island, Union of the Comoros, March 2005. **Am J Trop Med Hyg**, v. 76, p. 1189–1193, 2007.

SHI, W. *et al.* Increasing genetic diversity of Zika virus in the Latin American outbreak. **Emerging microbes & infections**, v. 5, n. 7, p. e68, 2016.

SILVA, E. P.; ROHENKOHL, J. E. Síndrome Congênita do vírus Zika e a pobreza multidimensional: uma aplicação do método Alkire-Foster com as mães paraibanas. **Pensamento & Realidade**, v. 33, n. 3, p. 49-67, 2018.

SIMMONS, C. P. *et al.* Dengue. **New England Journal of Medicine**, v. 366, n. 15, p. 1423-1432, 2012.

SONG, B. K. *et al.* Zika virus: History, epidemiology, transmission, and clinical presentation. **Journal of Neuroimmunology**, v. 308, p. 50 – 64, 2017.

SOPER, F. *et al.* Yellow fever without *Aedes aegypti*. Study of a rural epidemic in the Valle do Chanaan, Espírito Santo, Brazil, 1932. **Am J Hyg.**, v. 18, n. 3, p. 555-87, 1933.

SOPER, F.; SMITH, H. Vaccination with virus 17D in control of jungle yellow fever in Brazil. In: Acta Conventus Tertii de Tropicis atque Malariae Morbis. Amsterdam; 1938. p. 295.

STRAMER, S. L. *et al.* **Emerging infectious disease agents and their potential threat to transfusion safety.** **Transfusion**, v. 49, p. 1S–29S. 2009.

STRAUSS, J. H.; STRAUSS, E. G. The alphaviruses: gene expression, replication, and evolution. **Microbiol. Mol. Biol. Rev.**, v. 58, n. 3, 491-562, 1994.

TAUBITZ, W. *et al.* Chikungunya fever in travelers: clinical presentation and course. **Clinical Infectious Diseases**, v. 45, n. 1, p. e1-e4, 2007.

TEIXEIRA, M. da G. *et al.* Dinâmica de circulação do vírus da dengue em uma área metropolitana do Brasil. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 12, n. 2, p. 87-97, 2003.

THEILER, M.; SMITH, H. H. The use of yellow fever virus modified by in vitro cultivation for human immunization. **Journal of Experimental Medicine**, v. 65, n. 6, p. 787-800, 1937.

TSETSARKIN K. A. *et al.* Multipeaked adaptive landscape for chikungunya virus evolution predicts continued fitness optimization in *Aedes albopictus* mosquitoes. **Nat Commun.**, v. 16, n. 5, p. 4084, 2014.

TUBOI, S. H. *et al.* Clinical and epidemiological characteristics of yellow fever in Brazil: analysis of reported cases 1998–2002. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 101, n. 2, p. 169-175, 2007.

VAREJÃO, J. Be. M. *et al.* Criadouros de *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Linnaeus, 1762) em bromélias nativas na Cidade de Vitória, ES. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, n. 3, p. 238-240, 2005.

VASCONCELOS, P. F. C. *et al.* Yellow fever in Pará State, Amazon region of Brazil, 1998-1999: entomologic and epidemiologic findings. **Emerging Infectious Diseases**, v. 7, n. 3 Suppl, p. 565, 2001.

VASCONCELOS, P. F. C. *et al.* Seroepidemiologic survey in Sao Luis Island, State of Maranhao, Brazil, during a dengue fever epidemics. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, n. 2, 1999.

VASCONCELOS, P. F. *et al.* Epidemia de dengue em Fortaleza, Ceará: inquérito soropidemiológico aleatório. **Revista de Saúde Pública**, v. 32, p. 447-454, 1998.

VASCONCELOS, P. F.C. *et al.* Serious adverse events associated with yellow fever 17DD vaccine in Brazil: a report of two cases. **The Lancet**, v. 358, n. 9276, p. 91-97, 2001.

VILLAMIL-GÓMEZ, W. E. *et al.* Zika, dengue, and chikungunya co-infection in a pregnant woman from Colombia. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 51, p. 135-138, 2016.

WAHID, B. *et al.* Global expansion of chikungunya virus: mapping the 64-year history. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 58, p. 69-76, 2017.

WANG, A. *et al.* Zika virus genome biology and molecular pathogenesis. **Emerging microbes & infections**, v. 6, n. 1, p. 1-6, 2017.

WARNER, E. *et al.* Chikungunya fever diagnosed among international travelers – United States, 2005–2006. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**, v. 55, p. 1040–1042, 2006.

WEAVER, S. C.; REISEN, W. K. Present and future arboviral threats. **Antiviral Research**, v. 85, n. 2, p. 328–345, 2010.

WONG, K. Z.; CHU, J. J. H. The interplay of viral and host factors in chikungunya virus infection: targets for antiviral strategies. **Viruses**, v. 10, n. 6, p. 294, 2018.

WORLD HEALTH ORGANISATION (gubler ). Arthropod-borne and Rodent-borne Viral Diseases. World Health Organization Technical Report Series No. 719. Geneva, 1985.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control. World Health Organization, 1997.

WORLD HEALTH ORGANISATION (WHO). Fact sheet: dengue and dengue haemorrhagic fever. World Health Organization, Geneva, 2002.

WORLD HEALTH ORGANISATION (WHO). Dengue: Guidelines for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control: New Edition. Organização Mundial da Saúde; 2009.

WORLD HEALTH ORGANISATION (WHO). Vector-borne Diseases. 2017. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/vector-borne-diseases>>. 2017

WORLD HEALTH ORGANISATION (WHO). Dengue control. 2017. Disponível em: <<https://www.who.int/denguecontrol/epidemiology/en/>>. Acesso em: 3 de dez. 2019.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS (UFMG). Sobre o Vale do Jequitinhonha. 2018. Disponível em: <<https://www.ufmg.br/polojequitinhonha/o-vale/sobre-o-vale-do-jequitinhonha/>>. Acesso em: 16 de jan. 2020.

YOKOYAMA, S.; STARMER, W. T. Possible roles of new mutations shared by Asian and American Zika viruses. **Molecular biology and evolution**, v. 34, n. 3, p. 525-534, 2017.

ZHANG, R. *et al.* 4.4 Å cryo-EM structure of an enveloped alphavirus Venezuelan equine encephalitis virus. **The EMBO journal**, v. 30, n. 18, p. 3854-3863, 2011.

## 7. ANEXOS

### 7.1. ANEXO A – TRABALHO APRESENTADO EM CONGRESSO SOBRE O ESTUDO DE CASOS DE INFECÇÃO POR YFV



## SURTO DE FEBRE AMARELA NO VALE DO JEQUITINHONHA: O INÍCIO DA EXPERIÊNCIA BRASILEIRA



Juliane Duarte Santos <sup>1</sup>, Kamila Lorene Soares Rocha <sup>1</sup>, Magda Fernanda Gomes <sup>1</sup>, Mariana Chayene Viana Macedo <sup>1</sup>, Giselle Pires Domingos <sup>1</sup>, Poliana Oliveira Figueiredo <sup>2</sup>, Betania Paiva Drumond <sup>2</sup>, Giliane de Souza Trindade <sup>2</sup>, Frederico Toledo Rocha <sup>1</sup>, Erna Geessien Kroon <sup>2</sup>, Verna de Carvalho Braz <sup>1</sup>, Danilo Bretas de Oliveira <sup>1</sup>.

<sup>1</sup> UFVJM - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – LADIP/CIPq (Diamantina - MG),

<sup>2</sup> UFMG - Universidade Federal de Minas Gerais – LV/Departamento de Microbiologia (Belo Horizonte - MG)

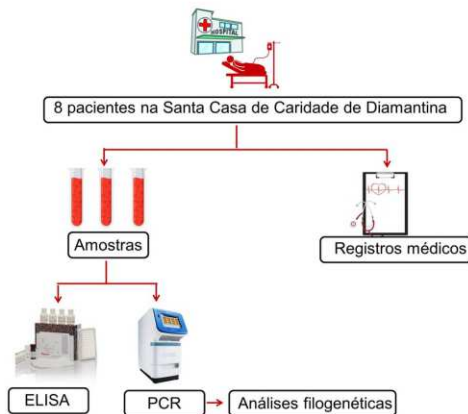
#### INTRODUÇÃO

O vírus da Febre Amarela (VFA) é um membro do gênero *Flavivirus*, família *Flaviviridae*, sendo a doença considerada uma arbovirose. Do ponto de vista exclusivamente epidemiológico, são feitas distinções entre ciclo silvestre e ciclo urbano. No ciclo silvestre o VFA é transmitido através do mosquito fêmea do gênero *Hemagogus* ou *Sabethes* em primatas não humanos, e no ciclo urbano pelo *Aedes aegypti*. Seres humanos não imunes podem se infectar ao penetrar em áreas epizooticas, tornando-se potencial fonte de infecção a novos vetores e perpetuando o ciclo. O primeiro surto da doença documentada no Brasil ocorreu em 1685 em Recife, e no ano de 1937 a vacina foi concedida a população. O vírus vem reemergindo em epidemias de ciclicidade desconhecida com o mais expressivo na história ocorrido em 2016 e 2017, se espalhando pelas áreas da Mata Atlântica, sendo o estado de Minas Gerais (MG) o mais afetado, registrando 475 casos e 162 mortes confirmadas. A cidade de Diamantina foi umas das mais afetadas de MG, sendo um município de referência de atendimento terciário da região, em que ocorreram 10 casos e desses, 3 evoluíram para óbito.

#### OBJETIVO

Caracterizar clinicamente, imunologicamente e molecularmente o surto de Febre Amarela ocorrido na jurisdição da Superintendência Regional de Saúde de Diamantina no ano de 2017.

#### METODOLOGIA



#### RESULTADOS

##### Parâmetros clínicos e epidemiológicos analisados

Tabela 1 – Relação sobre os pacientes com FA em Diamantina-MG

Pacientes	Sexo	Dias de hospitalização	UTI	Icterícia	Hemodíalise	Transfusão de plasma	IGM	qPCR
1	M	9 dias	1 dias	Sim	Sim	Sim	+	-
2	M	2 dias	2 dias	Sim	Sim	Sim	+	-
3	M	4 dias	4 dias	Sim	Sim	Não	+	-
4	M	4 dias	-	Sim	Não	Não	+	-
5	M	18 dias	10 dias	Sim	Sim	Sim	+	-
6	F	7 dias	-	Não	Não	Sim	+	-
7	F	5 dias	3 dias	Sim	Sim	Não	-	+
8	M	-	-	-	-	-	-	+
		7 dias	5 dias	6 pacientes	5 pacientes	4 pacientes	6 pacientes	2 pacientes

##### Análise filogenética

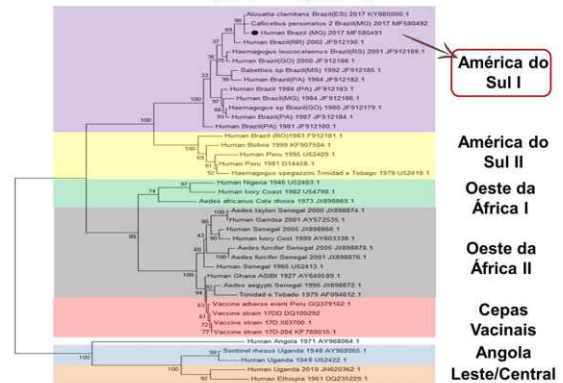


Figura 1 - Árvore filogenética: Construção baseada na sequência nucleotídica que codifica uma proteína NS5.

#### CONCLUSÃO

O número de mortes por Febre Amarela no período deste estudo em MG foi de 34,1% durante o surto e 30% na região de Diamantina. Os casos ocorreram em regiões com baixa cobertura vacinal (<80%), desses seis pacientes eram positivos para IgM e dois eram positivos para qPCR. O genoma viral do paciente positivo em qPCR foi parcialmente sequenciado. Observou-se com essa pesquisa a necessidade de melhora na profilaxia dessa doença, como a vacinação. Também é necessário o melhor preparo das equipes do hospital e a conscientização da população sobre a doença.

#### AGRADECIMENTOS





**7.2. ANEXO B - ARTIGO SUBMETIDO**  
**YELLOW FEVER OUTBREAK IN MINAS GERAIS STATE: THE BEGINNING OF**  
**THE BRAZILAN EXPERIENCE**

Santos, J.D<sup>1</sup>; Rocha, K.L.S; Amaral,C<sup>2</sup>; Stoffella, A.G.D<sup>2</sup>; Figueiredo P.O<sup>2</sup>; LaBeaud, D<sup>3</sup>;  
Trindade, G.S.<sup>2</sup>; Oliveira, D.B<sup>1</sup>\*

1 - Centro Integrado de Pesquisa em Saúde, Faculdade de Medicina, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri Campus JK - Rodovia MGT 367 - KM 583, N° 5000 Diamantina/MG ;CEP 39.100-000

2- Laboratório de Vírus, Departamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais. Av. Antônio Carlos, 6627, Campus Pampulha, CEP: 31270-901. Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. Fax number: +55-31-3443-6482.

3- Pediatric Infectious Diseases Stanford University. 300 Pasteur Drive, G312C. Stanford, CA 94305-5208

\*Corresponding authors: [danilo.bretas@ufvjm.edu.br](mailto:danilo.bretas@ufvjm.edu.br). Centro Integrado de Pesquisa em Saúde, Faculdade de Medicina, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri Campus JK - Rodovia MGT 367 - KM 583, N° 5000 Diamantina/MG ;CEP 39.100-000

## **Abstract**

Yellow fever (YF) disease is a pan systemic viral infection caused by yellow fever virus (YFV). YF was transmitted by hematophagous day time-biting mosquitoes, predominantly *Haemagogus* spp. and *Aedes* spp.. The aim of this work was to perform a literature review of YF outbreaks in Brazil, characterize the recent YF outbreaks in Minas Gerais and information on the first YF cases in the Jequitinhonha Valley. In December 2016, one of the most significant sylvan YF epidemics was reported in Brazil with 3564 human cases recorded. Several studies of molecular characterization and genomic surveillance were published, revealing that YFV samples sequenced from Southeastern Brazil belonged to the South American I genotype

## **Introduction**

Yellow fever (YF) disease is a classic viral hemorrhagic fever (VHF), a pan systemic viral infection caused by yellow fever virus (YFV). This disease can progress from febrile viremia to prostration, hepatic, renal, and myocardial injury, hemorrhage, shock, and death (1). YFV was the first exemplar of the genus *Flavivirus* of the *Flaviviridae* family to be isolated from a human host (2), with occurrence in Africa and South America (1).

Although studies of molecular evolution estimate that a common ancestor of YFV and dengue virus existed 3000 years ago, the first recorded date of disease was 1648 in a Mayan manuscript (1; 2), with the first registration of an epidemic occurring in Mexico and Guadeloupe in the same year (3). It is presumed that the virus originated in Africa and expanded into the new world during the period of slavery in the 16th century (4), causing regular epidemics during the 18th and 19th century (1; 3). In 1900 the discovery was made that YF was transmitted by hematophagous day time-biting mosquitoes, predominantly *Haemagogus* spp. and *Aedes* spp., respectively in the Americas and Africa: *Haemagogus* spp. being the vector of the sylvatic cycle in nonhuman primates and *Aedes aegypti* being the vector of the urban cycle in humans (1; 5). With this knowledge the first efforts were made to develop vaccines against YFV and were produced in Brazil at the beginning of the 20th century (5; 6). Vaccine produced from strain 17D demonstrated high efficacy and became the standard prophylaxis against YF (5; 7).