

Ilheus virus: Revisão sobre um Arbovirus Emergente

Ilheus virus: emerging arbovirus review

DOI:10.34117/bjdv7n4-300

Recebimento dos originais: 08/03/2021

Aceitação para publicação: 12/04/2021

Lúcia Aline Moura Reis

Formação Acadêmica mais alta: Especialista em Saúde Pública (UEPA / FIOCRUZ)

Instituição de atuação atual: Universidade do Estado do Pará (UEPA)

Endereço completo (pode ser institucional ou pessoal, como preferir): Conjunto Cidade Nova IV, WE 51, Nº 51 (Cidade Nova) - Ananindeua / Pará / Brasil

E-mail: luciaalinereis@gmail.com

Joaquim Pinto Nunes Neto

Formação Acadêmica mais alta: Doutor em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários (UFPA)

Instituição de atuação atual: Instituto Evandro Chagas (IEC)

Endereço completo (pode ser institucional ou pessoal, como preferir): Rodovia BR-316 KM 7 S / N (Levilândia) - Ananindeua / Pará / Brasil

E-mail: joaquimneto@iec.gov.br

RESUMO

Introdução: Os arbovirus são um grupo viral que realizam parte do ciclo replicativo no interior de vetores artrópodes, sendo assim mantidos na natureza. O *Ilheus virus* (ILHV) foi isolado pela primeira vez em 1947 em Ilhéus/BA, possui um ciclo de transmissão enzoótico onde as aves são hospedeiros de amplificação e o ser humano hospedeiro acidental e terminal, haja vista que, não produz viremia suficiente para a transmissão do vírus. **Objetivo:** Identificar na literatura os principais vetores artrópodes e hospedeiros vertebrados, sintomatologia da infecção, técnicas laboratoriais de diagnóstico e análises laboratoriais do comportamento viral do ILHV. **Método:** Revisão integrativa no qual realizou-se busca sistemática por artigos científicos nas bases de dados BVS-IEC, PubMed, SciELO e *ScienceDirect*, utilizando o descritor *Ilheus virus*. Selecionou-se 33 artigos científicos. **Resultados:** Dentre os artigos selecionados, 79% são artigos originais, 12% comunicações breves, 6% cartas do editor e 3% artigos de revisão. Identificou-se como principais vetores mosquitos dos gêneros *Aedes* e *Psorophora*, aves silvestres migratórias como hospedeiros de amplificação e o homem como hospedeiro acidental, desenvolvendo sintomatologia leve da infecção. Testes de isolamento viral em culturas de células, de Neutralização, Inibição da Hemaglutinação, Fixação de Complemento e testes moleculares demonstraram melhor eficácia no diagnóstico da infecção em humanos e animais e como metodologias de vigilância epidemiológica de arbovirus. **Conclusões:** O ILHV representa um grande problema de saúde pública em todas as regiões brasileiras em razão de sua ampla circulação, tornando o processo de diagnóstico complexo devido as reações cruzadas verificadas em testes sorológicos, assim como a semelhança sintomatológica das arboviroses, dificultando o diagnóstico clínico das infecções.

Palavras chave: *Ilheus virus*; Arbovirus; Flavivirus; Infecções por Arbovirus.

ABSTRACT

Introduction: The arbovirus group performs a viral replicative cycle inside of arthropod vectors, thus being kept in nature. The *Ilheus virus* (ILHV) was first isolated in 1947 in Ilheus city (BA), has an enzootic transmission cycle where birds are amplification hosts and the human being an accidental and terminal host, given that it doesn't produce sufficient viremia for viral transmission. **Objective:** Identify in the literature the main arthropod vectors and vertebrate hosts, symptoms of infection, laboratory diagnostic techniques and laboratory analyzes of ILHV viral behavior. **Method:** Integrative review in which a systematic search for scientific articles was conducted in the BVS-IEC, PubMed, SciELO and *ScienceDirect* databases, using the descriptor *Ilheus virus*. 33 scientific articles were selected. **Results:** Among the selected articles, 79% are original articles, 12% short communications, 6% letters from the editor and 3% review articles. Mosquitoes of the genera *Aedes* and *Psorophora* were identified as main vectors, migratory wild birds as amplification hosts and man as accidental host, developing mild symptoms of the infection. Viral isolation tests in cell cultures, Neutralization, Inhibition of Hemagglutination, Complement Fixation and molecular tests demonstrated better effectiveness in the diagnosis of infection in humans and animals and as methodologies for epidemiological surveillance of arbovirus. **Conclusions:** The ILHV represents a major public health problem in all Brazilian regions due to its wide circulation, making the diagnostic process complex due to the cross reactions verified in serological tests, as well as the symptomatological similarity of arboviruses, making the clinical diagnosis of infections difficult.

Keywords: *Ilheus virus; Arboviruses; Flavivirus; Arbovirus Infections;*

1 INTRODUÇÃO

Os arbovirus (*Arthropod-borne virus*) são um extenso grupo viral que realizam parte do ciclo replicativo no interior de vetores artrópodes, sendo mantidos na natureza por meio da transmissão por artrópodes hematófagos infectados (ARAÚJO *et al.*, 2019; LOPES, LINHARES, 2014; NEVES, FILIPPIS, ODA, 2019). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) as arboviroses são caracterizadas como zoonoses, infecções que ocorrem em áreas silvestres e acometem o ser humano e animais vertebrados (WEISSENBÖCK *et al.*, 2010).

Laroque *et al.* (2014) evidencia que os animais silvestres são os principais hospedeiros dos arbovirus, destacando os primatas não humanos (PNH) como reservatórios de um grande quantitativo de arbovirus, sendo considerados sentinelas naturais em investigações epidemiológicas de epizootias. Além disso, Araújo *et al.* (2019) destaca que aves silvestres e pequenos mamíferos também exercem o papel de hospedeiros de amplificação no ciclo de transmissão e identifica os seres humanos como hospedeiros acidentais.

Diante disso, a transmissão dos arbovirus ocorre a partir da picada de um artrópode hematófago, exemplo *Aedes (Ae.) aegypti* e *Culex (Cx.) pipiens*, em um animal silvestre virêmico, seguido da replicação viral no organismo do artrópode até chegar à saliva por

onde pode ser transmitido a animais e o ser humano. Tal ciclo pode ocorrer em ambientes silvestres, regiões periurbanas e urbanas, em razão principalmente do avanço populacional do homem para regiões silvestres onde são encontradas uma grande quantidade de vetores infectados (LOPES, LINHARES, 2014; DONALISIO, FREITAS, VON ZUBEN, 2017).

Atualmente, os arbovirus conhecidos capazes de infectar humanos e animais pertencem a sete famílias virais: *Peribunyaviridae*, *Togaviridae*, *Flaviviridae*, *Reoviridae*, *Rhabdoviridae*, *Asfaviridae* e *Phenuiviridae* (LOPES, LINHARES, 2014; DONALISIO, FREITAS, VON ZUBEN, 2017; ICTV, 2020; PIMENTEL *et al.*, 2019; VASILAKIS *et al.*, 2019).

A termo *Flavivirus* possui origem do latim, “*Flavus*” que significa amarelo, referindo-se à icterícia gerada pela disfunção hepática da infecção pelos vírus pertencentes ao gênero. São partículas virais de simetria icosaédrica, diâmetro médio de 40 a 60 nanômetros (nm), o capsídeo proteico (C) é envolto por um envelope lipídico onde estão inseridas as proteínas de membrana (M) e as espículas glicoproteicas (E). O genoma viral é RNA de fita simples com sentido positivo [(+)ssRNA], não segmentado com comprimento genômico medindo cerca de 9 a 13 quilobases (kb) (LOPES, LINHARES, 2014).

O genoma codifica dez proteínas, no primeiro quarto são codificadas três proteínas estruturais, a proteína do capsídeo proteico (C), proteína de pré-membrana (M) e a proteína de envelope (E). No restante do genoma codifica-se as proteínas não estruturais (NS), as quais são identificadas por NS1, NS2, NS3, NS4A, NS4B e NS5, tais proteínas atuam na regulação e expressão viral, isto é, no processo de replicação, virulência e patogenicidade viral. Dentre as proteínas NS, destacam-se três nas quais observam-se sequências fortemente conservadas, são elas NS1, NS3 e NS5 (LOPES, LINHARES, 2014; CRUZ *et al.*, 1997; ROCHA, GOMES, SVOBODA, 2014; SIMMONDS *et al.*, 2017).

Segundo o Comitê Internacional de Taxonomia Viral (ICTV) o gênero *Flavivirus* contém 53 espécies virais, classificadas em complexos antigênicos baseados em testes laboratoriais de neutralização, haja vista que, os *Flavivirus* estão intimamente relacionados causando reações cruzadas (ICTV, 2020; CRUZ *et al.*, 1997; AMARILLA *et al.*, 2018; CHAMBERS, 2008; GOENAGA *et al.*, 2015; MORALES *et al.*, 2017).

Segundo Amarilla *et al.* (2018) devido a ampla relação gênica entre os *Flavivirus*, observa-se o processo denominado “proteção cruzada”, no qual a infecção por um *Flavivirus* fornece proteção a infecções por outros vírus do mesmo gênero. Os autores destacam que infecção prévia por DENV oferece proteção cruzada a infecções subsequentes por JEV, WNV e SLEV, bem como a infecção por ZIKV proporciona proteção a infecção

por WNV, fato que poderia justificar a ausência de notificações de infecções humanas causadas por *Flavivirus* com menor circulação no país, como ROCV, WNV e ILHV.

O *Ilheus virus* (ILHV) pertence à família *Flaviviridae*, sendo isolado pela primeira vez em 1947, a partir da captura de mosquitos, principalmente do gênero *Aedes* e *Psorophora*, em decorrência da realização de vigilância para o vírus da Febre Amarela realizado na cidade de Ilhéus (BA). No mesmo período foram também identificados anticorpos para o ILHV presente no soro de seis pessoas (LAEMMERT, HUGHES, 1947; NASSAR *et al.*, 1997; VENEGAS *et al.*, 2012).

Após o isolamento viral realizado no Brasil, o ILHV foi também identificado em países como Trinidad, Panamá, Colômbia, Guiana Francesa, Equador e Bolívia, e em diversos gêneros de mosquitos, dentre eles *Culex*, *Sabethes*, *Haemagogus* e *Thichoprosopon*, destacando as espécies *Cx. coronator*, *Haemagogus spegazzinii*, *Sabethes chloropterus* e *Psorophora ferox*. Sendo também identificado em aves silvestres, como *Sporophila caerulea*, *Molothrus bonariensis* e *Florida caerulea*, PNH das espécies *Callithrix jacchus* e *Callithrix penicillata* e outros mamíferos como *Nasua nasua*, *Dasyprocta punctata*, *Bubalus bubalus* (NASSAR *et al.*, 1997; VENEGAS *et al.*, 2012; SMITH, 2016; CASSEB *et al.*, 2014; IVERSSON *et al.*, 1993).

Cruz *et al.* (1997) afirmam que a população humana possui cerca de 3,4 a 36% de imunidade ao ILHV, sendo essa porcentagem superior em áreas com maior circulação viral, contudo, os autores salientam que o baixo número de notificações de casos clínicos contrapõe-se a elevada prevalência de anticorpos em humanos, devido principalmente as infecções causadas pelo ILHV se desenvolverem com sintomatologia leve ou assintomáticas.

A arbovirose varia de casos subclínicos, doença febril grave até acometimento do Sistema Nervoso Central (SNC) levando a encefalite. Nos casos leves relata-se fadiga, prostração, pirexia, calafrios, cefaleia, fotofobia, diplopia, dor retroocular, vertigem, edema facial, erupções cutâneas, edema de gânglios axilares, cervicais e inguinais, epistaxe, mialgia, artralgia, ostealgia, odinofagia, sintomas gastrointestinais como enteralgia, náuseas, vômitos e diarreia, sintomas respiratórios e pneumonia. Nos casos graves há o acometimento do SNC e cardíaco (NASSAR *et al.*, 1997; VENEGAS *et al.*, 2012; JOHNSON *et al.*, 2007; VIEIRA *et al.*, 2019; SPENCE *et al.*, 1962).

O ILHV possui um ciclo de transmissão enzoótico envolvendo aves e artrópodes hematófagos. As aves atuam como hospedeiros de amplificação e o ser humano participa como hospedeiro acidental e terminal, haja vista, que não produz viremia suficiente para a transmissão do vírus (LOPES, LINHARES, 2014; MORALES *et al.*, 2017; NASSAR *et al.*,

1997; JOHNSON *et al.*, 2007; VIEIRA *et al.*, 2019; IVERSSON *et al.*, 1993; HERVÉ *et al.*, 1986).

De acordo com o ICTV, o ILHV está classificado no grupo antigênico do vírus Ntaya, tal classificação ocorre a partir da realização de testes sorológicos que demonstram o grau de reatividade cruzadas entre os vírus, permitindo a distribuição dos vírus dentro de complexos antigênicos (CRUZ *et al.*, 1997; NASSAR *et al.*, 1997; VENEGAS *et al.*, 2012; JOHNSON *et al.*, 2007; VIEIRA *et al.*, 2019; SMITH, 2016).

O complexo antigênico do vírus Ntaya atualmente é composto por sete espécies virais: *Bagaza virus* (BAGV), ILHV, ROCV, *Israel turkey meningoencephalitis virus* (ITV), *Ntaya virus* (NATV), *Tembusu virus* (TMUV), *Zika virus* (ZIKV) (WEISSENBOCK *et al.*, 2010).

Os arbovirus dispõem de uma elevada plasticidade genética, levando a ocorrência de mutações, permitindo que adaptem-se a diversos hospedeiros. Devido essa habilidade, observa-se a ocorrência de “*spillover*”, ou seja, a transmissão viral a hospedeiros acidentais, proporcionando aos arbovirus alto poder de dispersão podendo gerar grandes epidemias (MORALES *et al.*, 2017; DONALISIO, FREITAS, VON ZUBEN, 2017; MARCHI, TROMBETTA, MONTOMOLI, 2018).

Lima-Camara (2016) salienta que as modificações ambientais provocadas pela ação antrópica do homem, como invasão de áreas de matas, a globalização e aumento do fluxo internacional de pessoas, ocasionam em modificações na biologia comportamental de vetores como os mosquitos, no qual algumas espécies tornam-se sinantrópicas, aumentando a transmissão de patógenos ao homem.

O aquecimento global é uma das principais causas de modificações comportamentais dos vetores, em razão do aumento da temperatura que diminui o tempo de desenvolvimento larval, assim como o período de incubação extrínseco dos vírus nos mosquitos, isto é, o tempo multiplicação e propagação viral. Estudos de avaliação da influência da temperatura na ocorrência de surtos de arboviroses destacam que o aquecimento global torna os ambientes mais propícios a ocorrência de surtos, ressaltando que países com menor risco para a ocorrência de epidemias podem vir a apresentar maior potencial de surtos futuros (MARCHI, TROMBETTA, MONTOMOLI, 2018; LIMA-CAMARA, 2016; HUBER *et al.*, 2018).

Assim, em razão da identificação sorológica de diversos casos de infecção em humanos pelo *Ilheus virus* no Brasil, o presente estudo tem por objetivo realizar uma revisão integrativa, em bases de dados, sobre o ILHV, os principais vetores artrópodes e hospedeiros

vertebrados, bem como a sintomatologia da infecção em humanos, técnicas laboratoriais de diagnóstico e análises laboratoriais do comportamento viral.

2 MÉTODOS

2.1 DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de uma revisão integrativa de caráter descritivo.

A revisão integrativa consiste em uma metodologia de análise bibliográfica ampla que objetiva reunir os principais resultados de estudos a respeito da temática estudada. Sua realização visa promover um maior conhecimento teórico a respeito do tema pesquisado e sua construção deve ser realizada de modo crítico e criterioso, com a implementação de seis etapas iniciadas na identificação do tema, definição dos critérios de inclusão e exclusão dos artigos, pré-seleção dos trabalhos a partir de descritores, título e resumo, categorização dos estudos com construção de banco de dados, análise e interpretação dos principais resultados e a apresentação dos resultados obtidos (ERCOLE, MELO, ALCOFORADO, 2014; ALVES, CUNHA, CUNHA, 2014; SOUSA *et al.*, 2017).

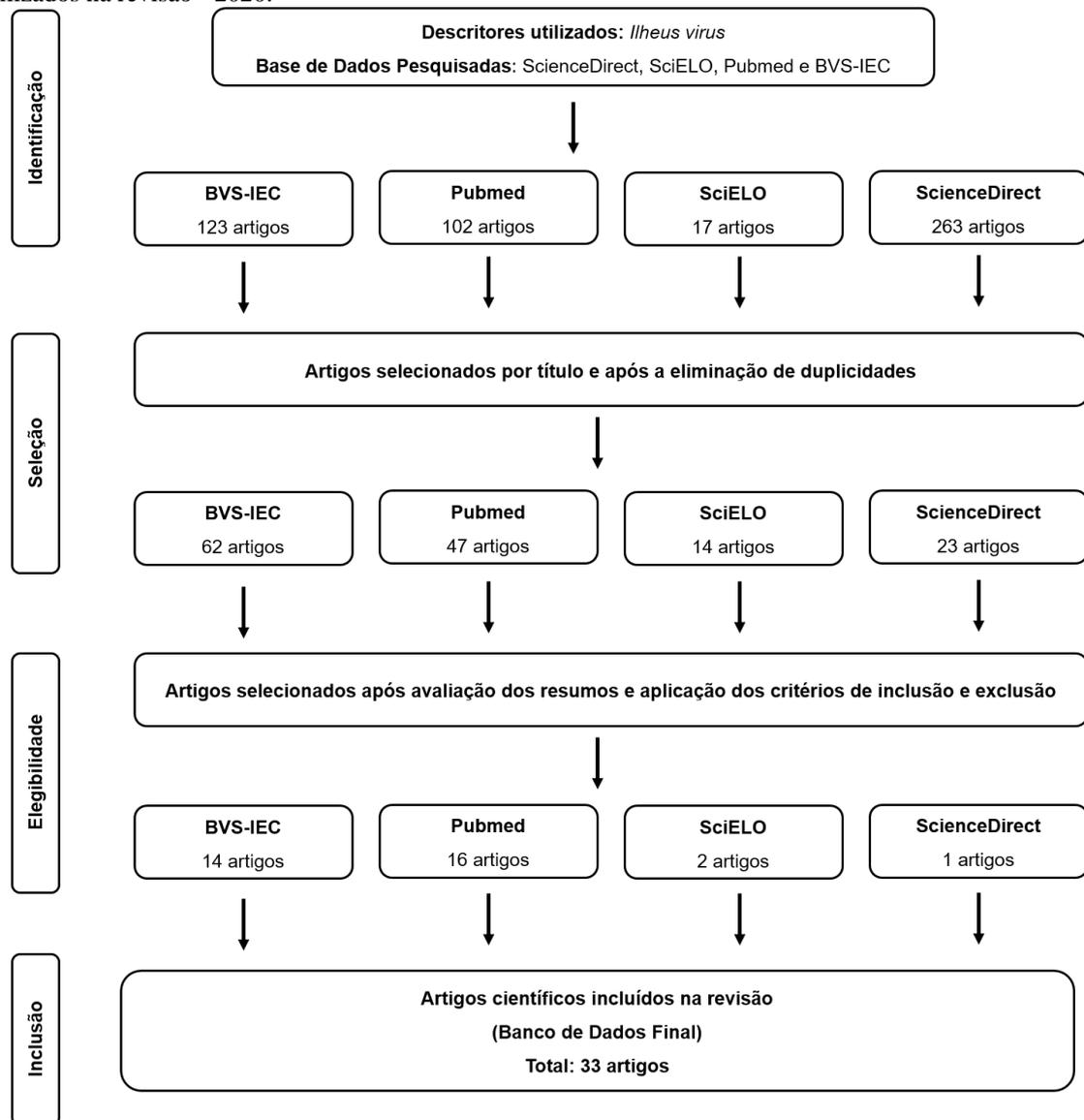
2.2 ESTRATÉGIAS DE BUSCA

Realizou-se a pesquisa por artigos científicos que versassem a respeito do ILHV em humanos e animais, nas bases de dados Biblioteca Virtual em Saúde do Instituto Evandro Chagas (BVS-IEC), PubMed, *Scientific Electronic Library Online* (SciELO) e *ScienceDirect*.

Para a execução da busca utilizou-se o descritor, “*Ilheus virus*”, definido a partir do *Medical Subject Headings (MeSH)*. A utilização de apenas um descritor deveu-se ao propósito de obter-se não apenas trabalhos científicos que versassem exclusivamente do ILHV, mas também artigos que realizassem pesquisas acerca de outros arbovirus, dentre eles o ILHV, a fim de identificar eventuais achados sorológicos e isolamentos do vírus. Nas quatro bases de dados utilizadas encontrou-se um total de 505 trabalhos publicados.

Após essa etapa, selecionou-se as publicações através da leitura dos títulos, descritores e resumos, aplicando os critérios de inclusão e exclusão definidos, resultando em uma amostra final de 33 artigos científicos. Os artigos selecionados foram então identificados através do sistema alfanumérico, ou seja, A1, A2, A3 etc., sendo “A” significando “Artigo” e a numeração um método de organização (**Figura 1**).

Figura 1 - Fluxograma do processo de identificação, seleção, elegibilidade e inclusão dos artigos científicos utilizados na revisão - 2020.



Fonte: Elaborada pelos autores, 2020.

2.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Os critérios de inclusão consistiram em: trabalhos que versassem a respeito do vírus pesquisado, como isolamento viral, identificação sorológica, testes experimentais *in vivo* e/ou *in vitro*, assim como a disponibilidade de artigo completo, trabalhos redigidos nos idiomas inglês, português e espanhol, publicações que apresentassem a descrição da metodologia adotada no estudo e optou-se por admitir qualquer ano de publicação, haja vista que trabalhos como o primeiro isolamento em animais e humanos, identificação e descrição viral possuem data de publicação superior a 10 anos. Como critérios de exclusão empregou-se: artigos que abordassem a respeito de outro arbovírus que nos resultados não houvesse ocasional identificação sorológica ou isolamento do ILHV, artigos que apenas

mencionassem o vírus no decorrer do texto sem apresentar dados de interesse a presente pesquisa, artigos duplicados, teses e dissertações.

4 RESULTADOS

Os dados obtidos nos 33 artigos científicos selecionados foram organizados e apresentados conforme demonstrado na **Tabela 1**.

Tabela 1. Principais características dos artigos revisados – Brasil – 2020

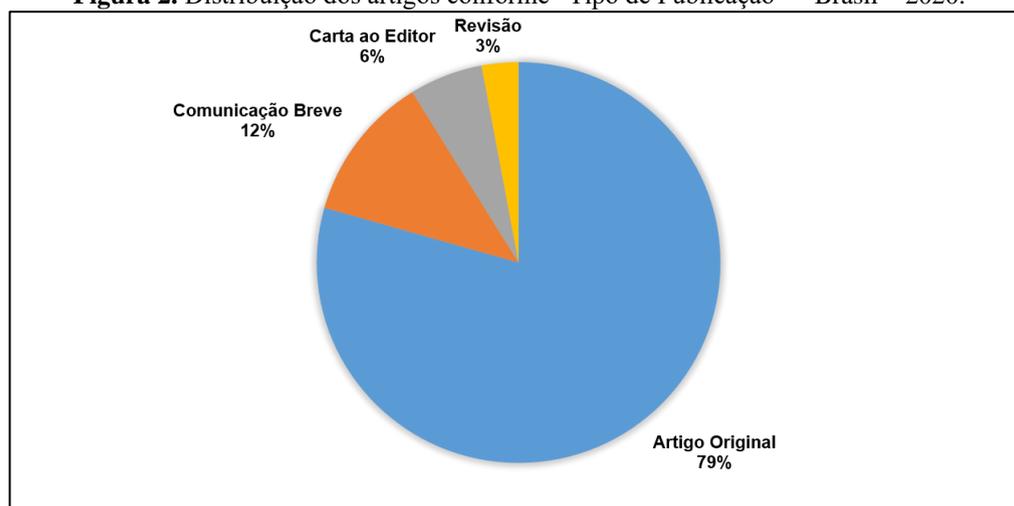
Citação	Ano	Base de Dados	Periódico de Publicação	Tipo de Estudo
Spence, L. <i>et al.</i>	1962	BVS-IEC	Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene	Artigo Original
Sáinz, C.C	1969	BVS-IEC	Revista Panamericana de Salud Pública	Artigo Original
Prías-Landínez, E. <i>et al.</i>	1970	BVS-IEC	Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana	Artigo Original
Buckley, S. M. <i>et al.</i>	1972	BVS-IEC	Bulletin of the World Health Organization	Artigo Original
Tavares-Neto, J. <i>et al.</i>	1986	BVS-IEC	Memórias do Instituto Oswaldo Cruz	Artigo Original
Iversson L. B. <i>et al.</i>	1993	BVS-IEC	Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo	Artigo Original
Ferreira I. B., <i>et al.</i>	1994	BVS-IEC	Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo	Artigo Original
Cruz, A. C. <i>et al.</i>	1997	BVS-IEC	Intervirolgy	Artigo Original
Figueiredo L. T., <i>et al.</i>	1998	BVS-IEC	The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene	Artigo Original
Romano-Lieber, N. S.; Iversson, L. B.	2000	BVS-IEC	Revista de Saúde Pública	Artigo Original
Pereira, L. E. <i>et al.</i>	2001	BVS-IEC	Revista de Saúde Pública	Artigo Original
Johnson, B. W. <i>et al.</i>	2007	BVS-IEC	Emerging Infectious Diseases	Carta ao Editor
Manock, S. R. <i>et al.</i>	2009	BVS-IEC	The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene	Artigo Original
Casseb, A. R. <i>et al.</i>	2014	BVS-IEC	Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases	Comunicação Breve
Koprowski, H.; Hughes, T. P.	1946	PUBMED	Journal of Immunology	Artigo Original
Laemmert, H.W.; Hughes, T.P.	1947	PUBMED	Journal of Immunology	Artigo Original
Southam, C.M.; Moore, A.E.	1954	PUBMED	Journal of Immunology	Artigo Original
Rodaniche, E.; Galindo, P.	1957	PUBMED	The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene	Artigo Original
Nassar, E. S. <i>et al.</i>	1997	PUBMED	Intervirolgy	Artigo Original
Tavares-Neto, J. <i>et al.</i>	2004	PUBMED	Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical	Artigo Original
Turell, M.J. <i>et al.</i>	2005	PUBMED	Journal of Medical Entomology	Artigo Original
Venegas, E. A. <i>et al.</i>	2012	PUBMED	Emerging Infectious Diseases	Carta ao Editor
Pauvolid-Corrêa, A. <i>et al.</i>	2013	PUBMED	Plos Neglected Tropical Diseases	Artigo Original
Medlin, S. <i>et al.</i>	2016	PUBMED	Journal of Wildlife Diseases	Artigo Original
Morales, M.A. <i>et al.</i>	2017	PUBMED	Plos Neglected Tropical Diseases	Artigo Original

Oliveira-Filho, E. F. <i>et al.</i>	2018	PUBMED	Transboundary and Emerging Diseases	Comunicação Breve
Amarilla, A. A. <i>et al.</i>	2018	PUBMED	Plos One	Artigo Original
Vieira, C.J.S.P. <i>et al.</i>	2019	PUBMED	Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene	Comunicação Breve
Araújo, P.A. <i>et al.</i>	2019	PUBMED	Viruses	Artigo Original
Cunha, M.S. <i>et al.</i>	2020	PUBMED	Acta Tropica	Artigo Original
Laroque, P. O. <i>et al.</i>	2014	SciELO	Pesquisa Veterinária Brasileira	Artigo Original
Oliveira, R. A. <i>et al.</i>	2019	SciELO	Memórias do Instituto Oswaldo Cruz	Artigo Original
Weissenböck, H. <i>et al.</i>	2010	ScienceDirect	Veterinary Microbiology	Artigo de Revisão

Fonte: Produzido pelos autores, 2020

Encontrou-se um número diversificado de tipos de publicações dentre os artigos selecionados, dentre eles, artigos originais, comunicações breves/*short report*, Carta do Editor e artigos de revisão (**Figura 2**).

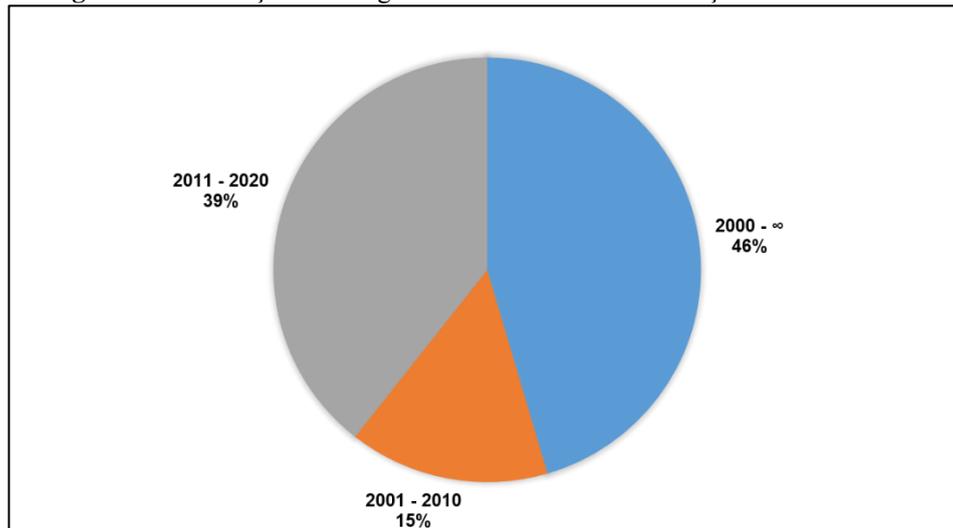
Figura 2. Distribuição dos artigos conforme “Tipo de Publicação” – Brasil – 2020.



Fonte: Produzido pelos autores, 2020.

No que concerne ao ano de publicação, os artigos foram distribuídos em grupos de 10 anos, ou seja, artigos com ano de publicação de 2011 a 2020, de 2001 a 2010 e artigos com ano de publicação em 2000 e anterior. Os dados são apresentados no **Figura 3**.

Figura 3. Distribuição dos artigos conforme “Ano de Publicação” – Brasil – 2020



Fonte: Produzido pelos autores, 2020.

5 DISCUSSÃO

5.1 TÉCNICAS DE ISOLAMENTO E DIAGNÓSTICO

Os arbovirus são classificados em grupos antigênicos segundo as relações antigênicas e os cruzamentos sorológicos que apresentam quando realizados teste como de Inibição da Hemaglutinação (IH), Fixação de Complemento (FC) e Neutralização (N) (CLARKE, CASALS, 1958; PINHEIRO, ROSA, ROSA, 1983).

Os três primeiros grupos antigênicos definidos foram nomeados pelas letras A, B e C, sendo os demais nomeados conforme o primeiro vírus isolado para o respectivo grupo. O grupo A corresponde aos vírus pertencentes ao gênero *Alphavirus* como o vírus Mucambo, Mayaro e Chikungunya. O grupo B corresponde aos vírus pertencentes ao gênero *Flavivirus*, como DENV, YFV, SLEV e WNV. O grupo C corresponde a vírus pertencentes ao gênero *Orthobunyavirus* como *Caraparu virus* e *Apeu virus* (PINHEIRO, ROSA, ROSA, 1983; ARAÚJO, 2014; SANTOS, 2017).

Desse modo, os testes de IH, FC e N são os mais utilizados para a identificação de arbovirus em diversas amostras. Contudo a realização de diagnósticos laboratoriais sorológicos de infecções pelo ILHV é complexa devido a ocorrência da reatividade cruzada com outros *Flavivirus* (JOHNSON *et al.*, 2007; CASSEB *et al.*, 2014; IVERSSON *et al.*, 1993; SÁINZ, 1969; MEDLIN *et al.*, 2016; PRÍAS-LANDÍNEZ *et al.*, 1970; ROMANO-LIEBER, IVERSSON, 2000).

O teste de IH baseia-se na habilidade dos arbovirus aglutinarem células vermelhas do sangue de ganso (*Anser anser*) utilizado no teste, ou seja, na capacidade dos anticorpos de inibição da aglutinação de células vermelhas por um antígeno solúvel. O teste de FC

baseia-se na absorção do complemento pelo complexo antígeno-anticorpo, evento que não ocorre na presença de antígenos ou anticorpos livres, sendo utilizado para quantificar as reações antígeno-anticorpo presentes na amostra. O teste N consiste na avaliação do potencial poder protetor dos soros, onde inocula-se em camundongos por via intraperitoneal vírus e o soro investigado, em caso de presença de anticorpos para o vírus o animal permanece vivo (CASSEB *et al.*, 2014; MAYER, 2006; SIMÕES, 2011).

Outra técnica para análise da habilidade de neutralização é o Teste de Neutralização por Redução de Placas (PRNT) que consiste na inoculação do vírus em linhagens celulares. Após o período de incubação a formação de placas é contada calculando-se o título viral conforme a diluição do soro utilizado, ou seja, o soro neutraliza o antígeno reduzindo cerca de 90% na formação de placas (MORALES *et al.*, 2017; OLIVEIRA-FILHO *et al.*, 2018; OLIVEIRA *et al.*, 2019).

Outras técnicas de diagnóstico são o Ensaio Imunoenzimático (Mac-Elisa) realizado para pesquisa de anticorpos da classe IgM, o teste de Isolamento Viral realizado em linhagens celulares ou por inoculação por via intracerebral em Camundongos albinos Swiss e o Teste de Imunofluorescência Indireta (IFI) para identificação de antígenos baseado na ligação antígeno-anticorpo com o uso de anticorpos policlonais (AMARILLA *et al.*, 2018; JOHNSON *et al.*, 2007; ROMANO-LIEBER, IVERSSON, 2000; MANOCK *et al.*, 2009; PEREIRA *et al.*, 2001).

Técnicas de transcrição do genoma de RNA dos vírus em DNA complementar seguido da realização da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) podem ser aplicadas em análises epidemiológicas e diagnósticas. O teste utiliza inicialmente *primers* (iniciadores) universais para *Flavivirus*, os quais amplificam as sequências genômicas presentes na região NS5, que encontra-se altamente conservada na maioria dos *Flavivirus*, essa região é alvo de amplificação por estar relacionada com o mecanismo de regulação da tradução, replicação ou empacotamento viral. Após o processo de amplificação do RNA realiza-se a purificação, sequenciamento genômico e construção da árvore bayesiana e com base nesses dados realiza-se a análise filogenética da espécie viral analisada, visando identificar sua disposição, agrupamento e origem filogenética (ARAÚJO *et al.*, 2019; NASSAR *et al.*, 1997; VENEGAS *et al.*, 2012; JOHNSON *et al.*, 2007; VIEIRA *et al.*, 2019; MORALES *et al.*, 2017; CUNHA *et al.*, 2020; FIGUEIREDO *et al.*, 1998).

5.2 IDENTIFICAÇÃO DE *ILHEUS VIRUS* EM ANIMAIS

No que concerne a identificação do ILHV em amostras de animais, o vírus foi isolado em diversas espécies de aves silvestres. Ferreira *et al.* (1994) em estudo realizado

na cidade de Itapetininga (SP) identificou anticorpos para o ILHV nas espécies, *Columbina talpacoti*, *Crotophaga ani*, *Amizilia versicolor*, *Myiophobus fasciatus*, *Elaenia chiriquensis*, *Thryothorus longirostris*, *Turdus rufiventris*, *Sporophila caerulescens*, espécies residentes e migratórias de acordo com o período do ano; *Dysithamnus mentalis*, *Troglodytes aedon*, *Turdus albicollis*, *Passer domesticus*, *Geothlypis aequinoctialis*, *Thraupis sayaca*, *Ramphocelus bresilius*, *Tachyphonus coronatus*, *Zonotrichia capensis*, espécies residentes da área de coleta; e *Phyllomyias fasciatus*, *Leptopogon amaurocephalus*, *Pipromorpha rufiventris*, espécies migratórias.

Em pesquisa ecoepidemiológica de arbovirus realizada no Parque Ecológico do Tietê (SP), Pereira *et al.* (2001) identificou inibidores de hemaglutinação monotípicos para ILHV nas aves silvestres *Columbina talpacoti*, *Geopelia cuneata*, *Molothrus bonariensis*, *Sicalis flaveola*, bem como isolou o ILHV em amostra da ave silvestre *Sporophila caerulescens*.

No que refere-se a detecção de ILHV em equinos, Iversson *et al.* (1993) identificou anticorpos neutralizantes em 26,6% das amostras (nTotal=432 equinos) de fazendas da região do Pantanal brasileiro e boliviano, e Pauvolid-Corrêa *et al.* (2013) em pesquisa realizada no Pantanal brasileiro, verificou a presença de anticorpos para ILHV em 18,7% (nTotal = 87) das amostras analisadas.

Em relação a identificação do ILHV em PNH, Pereira *et al.* (2001) verificou anticorpos monotípicos para o vírus em saguis (*Callithrix jacchus* e *Callithrix penicillata*) mantidos em cativeiro no Parque Ecológico do Tietê (SP), Morales *et al.* (2017) identificou padrões monotípicos para o ILHV em 0,93% (1/108) das amostras de bugios pretos (*Alouatta caraya*) coletadas em *San Cayetano*, *Isla Brasilena* e *Isla del Cerrito* na Argentina. Oliveiro-Filho *et al.* (2018) detectou anticorpos neutralizantes em 8,16% (4/49) das amostras de macacos-prego (*Sapajus libidinosus*) e louros (*Sapajus flavius*) e Laroque *et al.*⁵ realizou pesquisa com amostras de macacos-prego-galego (*Cebus flavius*) e macacos-prego (*Cebus libidinosus*) do estado da Paraíba, detectando em 46% (46/100) anticorpos para nove arbovirus (EEEV, WEEV, MAYV, MUCV, YFV, ILHV, SLEV, ROCV, OROV), desses, quatro apresentaram reações monotípicas para o ILHV.

O ILHV também foi identificado em outras espécies de mamíferos como preguiças e búfalos. Medlin *et al.* (2016) realizou estudo com 68 amostras de sangue de preguiças de dois dedos de Hoffman (*Choloepus hoffmanni* – HTS) e 26 amostras de preguiças de garganta marrom (*Bradypus variegatus* – BTS), detectando a prevalência de 67% (73/109) de anticorpos. Já Casseb *et al.* (2014) ao realizar pesquisa sorológica com búfalos da espécie *Bubalus bubalis* das seis mesorregiões do Pará (Baixo Amazonas, Marajó, Região

Metropolitana de Belém, Nordeste Paraense, Sudeste Paraense e Sudoeste Paraense) identificou em teste de IH 7,34% (n=48) reações heterotípicas para ILHV e 3,82% (n=25) reações monotípicas.

No que concerne a identificação do ILHV em mosquitos, após o primeiro isolamento em *pools* de *Aedes* e *Psorophora*, com predominância das espécies *Ae. serratus* e *P. ferox*, realizou-se testes de competência vetorial em ambas as espécies, bem como com o *Ae. aegypti* por caracterizar-se vetor de uma ampla quantidade de arbovirus. Tais testes demonstraram que o *Ae. aegypti* é capaz de transmitir o ILHV, apresentando período de incubação de 13 dias e *Ae. serratus* e *P. ferox* também mostraram-se eficientes na transmissão do ILHV, com período de incubação de 27 e 14 dias respectivamente (LAEMMERT, HUGHES, 1947).

Na região Amazônica, de 1954 a 1965, Woodall (1967) identificou o ILHV em mosquitos das espécies *Ae. falvus*, *Ae. leucocelaenus*, *Ae. scapularis* e *Ae. serratus*, assim como nas espécies *P. albipes* e *P. ferox*.

Na América Central, o primeiro relato de isolamento do ILHV ocorreu em 1956 em um *pool* de mosquitos do gênero *Psorophora* que continha três espécies, *P. ferox*, *P. lutzii* e *P. varipes*. No mesmo período realizou-se também o isolamento do vírus em um *pool* de *Sabethes chloropterus* capturados na Guatemala (RODANICHE, GALINDO, 1957).

Spence *et al.* (1962) destaca que entre 1956 e 1960 diversas espécies de ILHV foram isoladas em mosquitos, dentre eles em *Cx. caudelli* coletados na aldeia de Vega de Oropouche na República de Trindade e Tobago e em mosquitos dos gêneros *Aedes* e *Psorophora* coletados nas florestas do Rio Grande e Floresta de Bush Bush localizadas a leste de Trinidad.

Em pesquisa realizada por Turell *et al.* (2005) isolou-se o ILHV em dois *pools* de *P. ferox* e em *pool* de *Cx. Coronator* e Pauvalid-Corrêa *et al.* (2013) identificou o vírus em *pools* de *Ae. scapularis* coletados na região de Nhecolândia no Pantanal.

Araújo *et al.* (2019) detectou o ILHV em testes sorológicos com 94% de homologia para o vírus em amostras de *Cx. (Mel) portesi* capturados na Floresta Nacional de Caixuanã no arquipélago do Marajó (PA). Já Vieira *et al.* (2019) identificou o ILHV em três *pools* contendo fêmeas de *Culex (Melanoconion)*.

Mais recentemente, Cunha *et al.* (2020) publicou a identificação de ILHV em *pool* de *Culex sp.* e *Anopheles triannulatus* de Santo Antônio do Aracanguá (SP) e em *Coquillettidia juxtamansonia* de Castilho (SP) coletados em 1994.

5.3 IDENTIFICAÇÃO DE *ILHEUS VIRUS* EM AMOSTRAS DE HUMANOS

Após a realização do primeiro isolamento do ILHV em mosquitos no Brasil, o vírus foi também identificado em humanos, Southam e Moore (1954) isolaram o ILHV em amostras sanguíneas de cinco pacientes internados no *Sloan-Kettering Institute of the Memorial Center for Cancer and Allied Diseases* em *New York* (EUA), bem como identificou-se anticorpos neutralizantes no soro de seis pacientes.

Spence *et al.* (1962) realizou de 1953 a 1954, pesquisa com moradores de regiões de Trinidad, evidenciando altos índices de imunidade para o ILHV no teste N, destacando que moradores de áreas de várzeas apresentaram os maiores índices. Sáinz (1969) identificou anticorpos para ILHV, através da técnica de IH, em 20 de 30 soros humanos analisados, entretanto, ressalta que os soros positivos para ILHV apresentaram reatividade cruzada para SLEV, DENV1 e FA, evidenciando a facilidade dos arbovirus de apresentarem reações cruzadas em testes sorológicos.

Prías-Landínez (1970) realizou o isolamento de ILHV em amostra humana de um indígena na Colômbia, bem como identificou anticorpos em 60,7% da população indígena local (nTotal: 122 amostras), enquanto Buckley *et al.* (1954) identificou a partir do teste de IH, anticorpos para IHLV em 57/89 amostras de soro da população residente na região leste do Peru.

Tavares-Neto *et al.* (1986; 2004) em pesquisa no povoado de Corte de Pedra em Valença (BA) detectou anticorpos para ILHV em seis amostras, totalizando 2,7% da população estudada (nTotal= 288), contudo, uma amostra apresentou reatividade cruzada para YFV, o grupo também realizou um estudo soroepidemiológico na cidade de Rio Branco (AC), em dois períodos, antes e após a campanha de vacinação para Febre Amarela, com total de 390 indivíduos os quais 5,9% (n=23) das amostras pré-vacinação apresentaram anticorpos para o ILHV e das 190 amostras pós-vacinação, 12 exibiram anticorpos para o vírus.

Nassar *et al.* (1997) identificou uma espécie viral semelhante ao ILHV em cinco pacientes de Osasco, Atibaia, Guarujá e São Paulo (SP) e na cidade de São Luiz (MA), sugerindo provável mutação do ILHV, além de evidenciar elevada viremia em um paciente onde obteve-se o isolamento viral 73 dias após o início dos sintomas.

Romano-Lieber *et al.* (2000) realizou estudos sorológicos com 182 indivíduos de 58 família moradoras do bairro Despraiado localizado no Vale do Ribeira (SP), identificando prevalência de 12,6% de anticorpos para *Flavivirus*, desses, 2,2% equivalem ao ILHV e Manock *et al.* (2009) em estudo soroepidemiológico na província de Pastaza no Equador, realizou o isolamento viral de ILHV em amostra de sangue de um paciente em fase aguda

da infecção, bem como identificou em três pacientes a soroconversão de IgM através do teste ELISA.

O primeiro relato de óbito humano em decorrência de infecção pelo ILHV ocorreu em 2020 por Milhim *et al.* (2020) no qual identificou o ILHV a partir de análise retrospectiva de 287 amostras de fluidos cefalorraquidianos (LCR) coletados entre janeiro de 2016 e dezembro de 2017 para investigação de casos graves de Dengue em São Paulo. Identificou-se o vírus em amostra de paciente do sexo masculino de 68 anos internado em setembro de 2017. O paciente apresentou sintomatologia grave como hemiplegia direita, afasia, disartria e desvio de rima labial à esquerda e exame de tomografia computadorizada identificou hemorragia intraparenquimatosa no lobo parietal, edema cerebral e desvio de linha média cerebral, evoluindo a óbito 24 horas após a internação.

5.4 ANÁLISES LABORATORIAIS *IN VITRO* E *IN VIVO* DO ILHEUS VIRUS

Em análises laboratoriais *in vivo* e *in vitro* realizadas com a primeira cepa de ILHV isolada, Koprowski e Hughes (1946) demonstraram que ao inocular o ILHV em cérebro de camundongo o vírus é mantido em altos títulos, uma vez que 64 dias após a dessecação dos cérebros de camundongos infectados, obteve-se um título de 10^{-7} PFU.

No que concerne a patogenicidade do ILHV em camundongos albinos da linhagem *Swiss (Mus musculus)* observou-se que ao inocular por via intracerebral 0,03 μ L de sobrenadante de cérebro de camundongo infectado, os animais desenvolveram lesões cerebrais características de encefalite, hiperemia e área de hemorragia e o tempo de sobrevivência varia de seis a quatro dias, havendo uma diminuição nesse período conforme o aumento do número de passagens realizadas (KOPROWSKI, HUGHES, 1946).

Southam e Moore (1954) realizaram estudo experimental para avaliação o desenvolvimento de anticorpos e a capacidade do ILHV em infectar e destruir tecidos neoplásicos em pacientes com câncer em estágio avançado, identificando que o ILHV produziu uma viremia de poucos dias e a maioria dos pacientes não desenvolveram sintomatologia da infecção, apenas três pessoas apresentaram sinais clínicos de encefalite.

6 CONCLUSÃO

Dado o exposto no presente trabalho, compreende-se que o arbovirus emergente Ilheus e outros arbovirus circulantes no Brasil como Dengue, Zika, Febre Amarela e outros, representam um grande problema de saúde pública em todas as regiões brasileiras, haja vista o alto número de arboviroses circulantes, o intenso fluxo populacional, o maior quantitativo de pessoas residindo em áreas próximas a florestas e a habilidade de dispersão e adaptação

ao ambiente urbano de vetores como *Ae. aegypti* e *Cx. quinquefasciatus*, submetendo a população a um elevado risco de infecção por um ou mais arbovirus.

Levando-se em consideração tais aspectos, como também o pouco conhecimento científico a respeito das consequências de infecções sucessivas, co-infecções por arbovirus e o efeito co-protetor de uma infecção prévia por arbovirus, aumenta-se o risco de um colapso nos serviços de saúde público e privado devido surtos e epidemias.

Outro fator de relevância demonstrado para o estudo de arboviroses emergentes é a vigilância epidemiológica e entomoviológica constante, haja vista aspectos como a dificuldade diagnóstica dos arbovirus devido reações cruzadas em testes sorológicos, assim como a semelhança sintomatológica das arboviroses dificultando o diagnóstico clínico das infecções e o grave acometimento neurológico identificado no óbito humano no qual isolou-se ILHV no LCR.

Desse modo, conclui-se da necessidade de maiores investimentos em ações de vigilância em saúde, epidemiológica, entomológica e virológica de epizootias e de arboviroses emergentes, principalmente em áreas de maior risco para a ocorrência de epidemias devido a circulação simultânea de vários arbovirus, principalmente nas regiões do Brasil com dificuldade de acesso a serviços de saúde, assim como escasso número de vacinas para arbovirus também é outro fator que dificulta a execução de ações profiláticas.

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Evandro Chagas (IEC) pelo apoio e auxílio no desenvolvimento da pesquisa. Ao Ministério da Saúde/Fiocruz e a Rede Brasileira de Escolas de Saúde Pública (REDESCOLA) pelo suporte financeiro para a concretização do Curso de Especialização em Saúde Pública no Estado do Pará. A Universidade do Estado do Pará (UEPA) e ao Núcleo Telessaúde/Belém-Pará pelo suporte estrutural e docente durante todo o período de realização do curso e no processo de construção desse trabalho.

REFERÊNCIAS

ALVES, PF; CUNHA, CS; CUNHA, PLP. Manual Revisão Bibliográfica Sistemática Integrativa: a pesquisa baseada em evidências. In: Cunha PLP, Cunha CS, Alves PF, coordenadores. Belo Horizonte: Grupo Anima Educação. 2014. v. 1, p.1-63. http://biblioteca.cofen.gov.br/wp-content/uploads/2019/06/manual_revisao_bibliografica-sistematica-integrativa.pdf

AMARILLA, AA *et al.* Ilheus and Saint Louis encephalitis viruses elicit cross-protection against a lethal Rocio virus challenge in mice. *Plos One*. 2018, 13(6): 1-12. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0199071>

ARAÚJO, JBS. **Caracterização antigênica, físico-química e biológica do vírus BE AR 701405, obtido a partir de mosquitos da espécie Psorophora (Jan) ferox, capturados em Altamira-Pará** [dissertação mestrado]. [Belém (PA)]: Universidade Federal do Pará; 2014. 58 p.

ARAÚJO, PA *et al.* Investigation about the Occurrence of Transmission Cycles of Arbovirus in the Tropical Forest, Amazon Region. *Viruses*. 2019; 11(9): 774-83. <http://dx.doi.org/10.3390/v11090774>

BUCKLEY, SM *et al.* Arbovirus neutralization tests with Peruvian sera in Vero cell cultures. *Bull World Health Organ*. 1972, 46(4): 451-455. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2480777/>

CASSEB, AR *et al.* Seroprevalence of flaviviruses antibodies in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Brazilian Amazon. *J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis*. 2014, 20(9): 1-3. <http://dx.doi.org/10.1186/1678-9199-20-9>

CHAMBERS, TJ. Flaviviruses: general features. *Encyclopedia Of Virology*. 2008, 252(241): 241-252. <http://dx.doi.org/10.1016/b978-012374410-4.00621-x>

CLARKE, DH; CASALS, J. Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod-borne viruses. *Am J Trop Med Hyg*. 1958m 7(5): 561-573. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1958.7.561>

CRUZ, AC *et al.* Ilheus Virus (Flaviviridae, Flavivirus) Is Closely Related to Japanese Encephalitis Virus Complex. *Intervirology*. 1997, 40(4): 220-225. <http://dx.doi.org/10.1159/000150550>

CUNHA, MS *et al.* Detection and characterization of Ilheus and Iguape virus genomes in historical mosquito samples from Southern Brazil. *Acta Trop*. 2020, 205: 105401-105408. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2020.105401>

DONALISIO, MR; FREITAS, ARR; VON ZUBEN, APB. Arboviruses emerging in Brazil: challenges for clinic and implications for public health. **Rev. Saúde Pública**. 2017; 51(30): 1-6. <http://dx.doi.org/10.1590/s1518-8787.2017051006889>

ERCOLE, FF; MELO, LS; ALCOFORADO, CLGC. Integrative review versus systematic review. *Reme*. 2014, 18(1): 9-11. <http://dx.doi.org/10.5935/1415-2762.20140001>

FERREIRA, IB *et al.* Surveillance of arbovirus infections in the atlantic forest region, State of São Paulo, Brazil: i. detection of hemagglutination-inhibition antibodies in wild birds between 1978 and 1990. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1994, 36(3): 265-274. <http://dx.doi.org/10.1590/s0036-46651994000300011>

FIGUEIREDO, LTM *et al.* Identification of Brazilian flaviviruses by a simplified reverse transcription-polymerase chain reaction method using Flavivirus universal primers. *Am J Trop Med Hyg.* 1998, 59(3): 357-362. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1998.59.357>

GOENAGA, S *et al.* Potential for Co-Infection of a Mosquito-Specific Flavivirus, Nhumirim Virus, to Block West Nile virus Transmission in Mosquitoes. *Viruses.* 2015, 7(11): 5801-5812 <http://dx.doi.org/10.3390/v7112911>

HERVÉ, JP *et al.* Aspectos Ecológicos. In: Instituto Evandro Chagas, coordenador. 50 anos de contribuição às ciências biológicas e à medicina tropical. Belém: IEC; 1986. v. 1, p. 409-437. https://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/pleins_textes_6/b_fdi_45-46/010007044.pdf

HUBER, JH *et al.* Seasonal temperature variation influences climate suitability for dengue, chikungunya, and Zika transmission. *PLoS Negl Trop Dis.* 2018, 12(5): 1-20. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0006451>

International Committee on Taxonomy of Viruses. Taxonomic Information [Internet]. Microbiology Society; 2020. Disponível em: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>.

IVERSSON, LB *et al.* Circulation of Eastern equine encephalitis, Western equine encephalitis, Ilhéus, Maguari and Tacaiuma viruses in equines of the Brazilian Pantanal, South America. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1993, 35(4): 355-359. <http://dx.doi.org/10.1590/s0036-46651993000400009>

JOHNSON, BW *et al.* Ilheus Virus Isolate from a Human, Ecuador. *J Emerg Infect Dis.* 2007, 13(6): 956-958 <http://dx.doi.org/10.3201/eid1306.070118>

KOPROWSKI, H; HUGHES, TP. The virus of Ilhéus encephalitis: physical properties, pathogenicity and cultivation. *J Immunol.* 1946, 54(1): 371-385. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20278367>

LAEMMERT, HW; HUGHES, TP. The virus of Ilhéus encephalitis: isolation, serological specificity and transmission. *J Immunol.* 1947, 55(1): 61-67.

LAROQUE, PO *et al.* Levantamento soropidemiológico para arbovírus em macaco-prego-galego (*Cebus flavius*) de vida livre no estado da Paraíba e em macaco-prego (*Cebus libidinosus*) de cativeiro do nordeste do Brasil. *Pesqui. vet. bras.* 2014; 34(5): 462-468. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2014000500013>

LIMA-CAMARA TN. Emerging arboviruses and public health challenges in Brazil. *Rev Saude Publica.* 2016, 50(36): 1-7. <http://dx.doi.org/10.1590/s1518-8787.2016050006791>

LOPES, N; NOZAWA, C; LINHARES, REC. Características gerais e epidemiologia dos arbovirus emergentes no Brasil. *RPAS.* 2014; 5(3): 55-64. <http://dx.doi.org/10.5123/s2176-62232014000300007>

MANOCK, SR *et al.* Etiology of Acute Undifferentiated Febrile Illness in the Amazon Basin of Ecuador. *Am J Trop Med Hyg.* 2009, 81(1): 146-151. <http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.2009.81.146>

MARCHI, S; TROMBETTA, CM; MONTOMOLI, E. Emerging and Re-emerging Arboviral Diseases as a Global Health Problem. In: Anwarul Azim Majumder, Russell Kabir and Sayeeda Rahman, coordenadores. *Public Health - Emerging And Re-Emerging Issues*, 2018. v. 1, p. 25-46. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.77382>

MAYER, G. Reações Antígeno-Anticorpo e Testes Seleccionados. In: MALE D, Brostoff J, Roth DB, Roitt I. **Immunology**. [Albanian]: Elsevier. 2006. v. 7. p. 67-74. <https://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/patologia/HELIOJOSEMONTASSIER/e-d-7-interacoes-antigeno-anticorpo.pdf>

MEDLIN, S *et al.* Serosurvey Of Selected Arboviral Pathogens In Free-Ranging, Two-Toed Sloths (*Choloepus hoffmanni*) And Three-Toed Sloths (*Bradypus variegatus*) In Costa Rica, 2005–07. *J Wildl Dis.* 2016, 52(4): 883-892. <http://dx.doi.org/10.7589/2015-02-040>

MILHIM, BHGA *et al.* Fatal Outcome of Ilheus Virus in the Cerebrospinal Fluid of a Patient Diagnosed with Encephalitis. **Viruses.** 2020, 12(9): 957-966. <http://dx.doi.org/10.3390/v12090957>

MORALES, MA *et al.* Detection of the mosquito-borne flaviviruses, West Nile, Dengue, Saint Louis Encephalitis, Ilheus, Bussuquara, and Yellow Fever in free-ranging black howlers (*Alouatta caraya*) of Northeastern Argentina. *PLoS Negl Trop Dis.* 2017, 11(2): 1-13. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0005351>

NASSAR, ES *et al.* Human Disease Caused by an Arbovirus Closely Related to Ilheus Virus: report of five cases. *Intervirology.* 1997, 40(4): 247-252. <http://dx.doi.org/10.1159/000150554>

NEVES, DP *et al.* Artrópodes. In: Neves DP, Filippis T, Dias-Lima A, Oda WY, organizadores. *Parasitologia Básica*. Rio de Janeiro: Atheneu; 2019. p. 201-203.

OLIVEIRA, RAS *et al.* Previous dengue or Zika virus exposure can drive to infection enhancement or neutralisation of other flaviviruses. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2019, 114: 1-7. <http://dx.doi.org/10.1590/0074-02760190098>

OLIVEIRA-FILHO, EF *et al.* Seroprevalence of selected flaviviruses in free-living and captive capuchin monkeys in the state of Pernambuco, Brazil. *Transbound Emerg Dis.* 2018, 65(4): 1094-1097. <http://dx.doi.org/10.1111/tbed.12829>

PAUVOLID-CORRÊA, A *et al.* Ilheus Virus Isolation in the Pantanal, West-Central Brazil. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013, 7(7): 2318-2326. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0002318>

PEREIRA, LE *et al.* Arbovírus Ilheus em aves silvestres (*Sporophila caerulescens* e *Molothrus bonariensis*). *Rev. Saúde Pública.* 2001, 35(2): 119-123. <https://doi.org/10.1590/S0034-89102001000200003>

PIMENTEL, V *et al.* Geographic dispersal and genetic diversity of tick-borne phleboviruses (*Phenuiviridae*, Phlebovirus) as revealed by the analysis of L segment sequences. **Ticks Tick Borne Dis.** 2019; 10(4): 942-948. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ttbdis.2019.05.001>

PINHEIRO, FP *et al.* **Diagnóstico e Tratamento das Doenças Infecciosas e Parasitárias.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A. 1983. v. 19, p. 291-302. <http://iah.iec.pa.gov.br/iah/fulltext/pc/artigos/1983/diagtratamentdoen%C3%A7asinfecparasit%C3%A1rias1983cap19p292.pdf>

PRÍAS-LANDÍNEZ, E *et al.* Encuesta Serologica de Virus Transmitidos por Artropodos. *Bol Of Sanit Panam.* 1970, 134-141. <https://iris.paho.org/handle/10665.2/14510>

ROCHA, TC; GOMES, EC; SVOBODA, WK. Investigação de Arbovirus (Gênero Flavivirus) de Interesse à Saúde Pública em Primatas não Humanos nos Estados do Paraná e Mato Grosso do Sul [dissertação mestrado]. [Curitiba (PR)]: Universidade Federal do Paraná; 2014. 95 p.

RODANICHE, E; GALINDO, P. Isolation of Ilhéus Virus from Sabethes Chloropterus Captured in Guatemala in 1956. *Am J Trop Med Hyg.* 1957, 6(4): 686-687. <http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.1957.6.686>

ROMANO-LIEBER, NS; IVERSSON, LB. Inquérito soropidemiológico para pesquisa de infecções por arbovírus em moradores de reserva ecológica. *Rev Saude Publica.* 2000, 34(3): 236-242. <http://dx.doi.org/10.1590/s0034-89102000000300005>

SÁINZ, CC. Incidencia de infecciones por arbovirus encefalitógenos en México. *Rev Panam Salud Publica.* 1969, p. 106-111 <https://iris.paho.org/handle/10665.2/14545>
Santos EB. **Investigação sobre a circulação de arbovírus em áreas de alterações ambientais na mesorregião nordeste do estado do Pará [dissertação mestrado]. [Belém (PA)]: Instituto Evandro Chagas; 2017. 89 p.**

SIMMONDS, P *et al.* ICTV Virus Taxonomy Profiles: Flaviviridae. *J Gen Virol.* 2017, 98(1): 2-3. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.000672>

SIMÕES, M. **Avaliação da Acurácia e Confiabilidade Do Teste Sorológico De Neutralização Por Redução De Placas De Lise (Micro Prnt) Na Detecção De Anticorpos Para O Vírus Da Febre Amarela [Dissertação mestrado]. [Rio de Janeiro (RJ)]: Fundação Oswaldo Cruz, 2011. 101 p.**

SMITH, DR. Waiting in the wings: The potential of mosquito transmitted Flaviviruses to emerge. *Crit Rev Microbiol.* 2016, 43(4): 405-422. <http://dx.doi.org/10.1080/1040841x.2016.1230974>

SOUSA, LMM *et al.* A Metodologia de Revisão Integrativa da Literatura em Enfermagem. *RIE.* 2017, 1(2): 17-26.

SOUTHAM, CM; MOORES, AE. Anti-Virus Antibody Studies Following Induced Infection of Man with West Nile, Ilhéus, and Other Viruses. *J Immunol.* 1954, 72(6): 446-462. <https://www.jimmunol.org/content/72/6/446>

SPENCE, L; ANDERSON, CR; DOWNS, WG. Isolation of Ilhéus virus from human beings in Trinidad, West Indies. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1962, 56(6): 504-509. [http://dx.doi.org/10.1016/0035-9203\(62\)90074-3](http://dx.doi.org/10.1016/0035-9203(62)90074-3)

TAVARES-NETO, J *et al.* Pesquisa de anticorpos contra arbovírus e o vírus vacinal da febre amarela em uma amostra da população de Rio Branco, antes e três meses após a vacina 17D. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2004, 37(1): 1-6. <http://dx.doi.org/10.1590/s0037-86822004000100001>

TAVARES-NETO, J *et al.* Pesquisa de Anticorpos para Arbovírus no Soro de Residentes no Povoado de Corte de Pedra, Valença, Bahia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 1986, 81(4): 351-358. <https://doi.org/10.1590/S0074-02761986000400001>

TURELL, MJ *et al.* Isolation of Viruses from Mosquitoes (Diptera: culicidae) collected in the amazon basin region of Peru. *J Med Entomol.* 2005, 42(5): 891-898. <http://dx.doi.org/10.1093/jmedent/42.5.891>

VASILAKIS, N *et al.* Exploiting the Legacy of the Arbovirus Hunters. *Viruses.* 2019, 11(5): 471-509. <http://dx.doi.org/10.3390/v11050471>

VENEGAS, EA *et al.* Ilheus Virus Infection in Human, Bolivia. *J Emerg Infect Dis.* 2012, 18(3): 516-518. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1803.111486>

VIEIRA, CJSP *et al.* Detection of Ilheus virus in mosquitoes from southeast Amazon, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2019, 113(7): 424-427. <http://dx.doi.org/10.1093/trstmh/trz031>

WEISSENBOCK, H *et al.* Zoonotic mosquito-borne flaviviruses: worldwide presence of agents with proven pathogenicity and potential candidates of future emerging diseases. *Vet Microbiol.* 2010; 140(3-4): 271-280. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.08.025>

WOODALL, JP. Virus Research in Amazonia. *Atas do Simpósio sobre a Biota Amazônica.* 1967, 6:31-63.