

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 07/04/2023.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de São José do Rio Preto

Pâmela Jóyce Previdelli da Conceição

Identificação da presença do vírus da dengue e do vírus Zika em amostras de soro e
urina no município de Mirassol, São Paulo

São José do Rio Preto

2021

Pâmela Jóyce Previdelli da Conceição

Identificação da presença do vírus da dengue e do vírus Zika em amostras de soro e urina no município de Mirassol, São Paulo

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Microbiologia, junto ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora CNPq – Proc. 440723/2016-7

Financiadora CAPES – Proc. 2046/2016

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Cíntia Bittar Oliva

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Paula Rahal

São José do Rio Preto

2021

C744i Conceição, Pâmela Jójce Previdelli da
Identificação da presença do vírus da dengue e do vírus Zika em amostras de soro e urina no município de Mirassol, São Paulo / Pâmela Jójce Previdelli da Conceição. -- São José do Rio Preto, 2021
70 f. : il., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto

Orientadora: Cíntia Bittar Oliva
Coorientadora: Paula Rahal

1. Microbiologia. 2. Virologia. 3. Arbovírus. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Pâmela Jóyce Previdelli da Conceição

Identificação da presença do vírus da dengue e do vírus Zika em amostras de soro e
urina no município de Mirassol, São Paulo

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para
obtenção do título de Mestre em Microbiologia, junto ao
Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, do
Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora CNPq – Proc. 440723/2016-7

Financiadora CAPES – Proc. 2046/2016

Comissão Examinadora

Prof^ª. Dr^ª. Cíntia Bittar Oliva
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto
Orientadora

Prof. Dr. Bruno Moreira Carneiro
UFR- Universidade Federal de Rondonópolis

Prof^ª. Dr^ª. Lívia Sacchetto Pengo
FAMERP – Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto

São José do Rio Preto

07 de abril de 2021

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus familiares e a todas as pessoas que me amam e me incentivaram desde o princípio, sem vocês eu nada seria.

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida e por ter me dado saúde e vitalidade para vencer os desafios e obstáculos da vida.

Aos meus familiares, Célia, Silvio, Paulo, Lu, Kelder, Layra, Marina e Nicolas, que tornam meus dias mais iluminados, que sempre me apoiaram e me incentivaram a não desistir dos meus sonhos, sempre compreendendo minha ausência em alguns momentos para realização do meu trabalho.

Ao meu namorado Samuel pelo amor, pela paciência, compreensão e por estar presente em todos os momentos da minha vida, me dando forças para continuar minha caminhada.

À minha orientadora Profa. Dra. Cíntia Bittar, pelos ensinamentos, por ter tido confiança no meu trabalho, pela paciência com que me ensinou e por sempre estar presente em todos os momentos, auxiliando no que fosse preciso.

À minha coorientadora Profa. Dra. Paula Rahal, por todos os ensinamentos, por ter me dado a oportunidade de fazer parte de sua equipe e por ter depositado sua confiança no meu trabalho.

Ao Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (UNESP/IBILCE) por ter cedido toda sua estrutura, tornando possível a realização do projeto e pelo corpo docente extremamente qualificado.

À UPA de Mirassol e a todos os funcionários pela parceria, por ter cedido sua estrutura para que esse projeto pudesse ser realizado da melhor forma possível.

À banca examinadora por terem aceito participar da minha banca.

Aos meus queridos companheiros Lucas e Bianca, por todos os ensinamentos preciosos, pelo compartilhamento de experiência, pela ajuda em todas as análises realizadas, por terem sempre estado juntos de mim nesse projeto.

Às minhas amigas e companheiras de casa Dayla e Gabi, pelas risadas, alegrias, pela troca de experiência e por terem feito parte do meu amadurecimento, tanto profissional, como pessoal.

Às minhas queridas amigas Tamara, Marilê, Bárbara, Nay e Ágata pelos momentos de risada, pela amizade, pelos maravilhosos ensinamentos e por sempre me apoiarem e me ajudarem.

Aos meus colegas do laboratório, por todos os ensinamentos, por sempre estarem dispostos a ajudar no que fosse preciso, que foram amigos e parceiros em todos os momentos, sejam eles profissionais ou pessoais, bons ou ruins.

A todos os meus familiares e amigos, sou muito grata por tudo.

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

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

EPÍGRAFE

“Eu não posso fazer todo o bem que o mundo precisa, mas o mundo precisa de todo o bem que eu posso fazer” (Jana Stanfield)

RESUMO

As doenças transmitidas por vetores, tal como o *Aedes aegypti* causam um grande impacto na saúde pública. As arboviroses fazem parte desse grupo de doenças, afetando milhares de pessoas ao redor do mundo todos os anos. O vírus da dengue (DENV), um arbovírus do gênero *Flavivirus*, família *Flaviviridae*, é responsável por diversas epidemias e também por trazer complicações graves aos pacientes, que vão de quadros hemorrágicos a complicações orgânicas irreversíveis. Outro arbovírus do gênero *Flavivirus* de importância clínica é o Zika vírus (ZIKV), responsável pela epidemia no ano de 2015 no Brasil, trazendo consigo a Síndrome Congênita do Zika, que implicou no nascimento de centenas de crianças com microcefalia. Este estudo tem por objetivo avaliar a circulação de DENV e ZIKV no município de Mirassol-SP. Para este fim, foram coletadas amostras de voluntários presentes na Unidade de Pronto Atendimento de Mirassol (UPA-Mirassol) entre fevereiro de 2018 a abril de 2019. Os voluntários foram divididos em 2 grupos. Do primeiro grupo, composto por pacientes com suspeita clínica de arbovirose, foram coletadas amostras de soro e urina. O segundo grupo incluiu pacientes sem diagnóstico clínico de arboviroses e acompanhantes de pacientes da UPA, sendo coletadas apenas amostras de urina. Todos os voluntários preencheram questionários sobre a sintomatologia apresentada no momento da coleta. Após a extração do RNA, a investigação da presença dos vírus foi realizada por RT-qPCR. Ambas as amostras do grupo suspeito para arbovirose foram testadas para DENV e ZIKV enquanto as amostras de voluntários sem diagnóstico clínico para arbovirose e acompanhantes foram testadas apenas para ZIKV. Foram coletadas 697 amostras de urina dos indivíduos sem diagnóstico clínico de arboviroses e acompanhantes, dessas, 11,3% (79) foram positivas para ZIKV. Dentre os indivíduos positivos, 16,5% (13) eram acompanhantes e 83,5% (66) indivíduos sem diagnóstico clínico de arbovirose, sendo 59,5% (47) do gênero feminino. Do grupo de sintomáticos, foram coletadas 285 amostras de soro e 272 amostras de urina de 308 pacientes e desses 42,5% (131) foram positivos para DENV2, 0,3% (1) foi positivo para DENV1, 36% (111) foram positivos para ZIKV e 12,7% (39) estavam coinfectados com ZIKV/DENV2. Se apenas as amostras de soro tivessem sido usadas, a detecção de ZIKV teria caído para 24,7% (76/308). De todos os pacientes incluídos no estudo, apenas um tinha suspeita de infecção pelo ZIKV e os demais eram suspeitos de DENV de acordo com o diagnóstico clínico. Com isso, através do nosso estudo foi possível ver a importância da realização de um diagnóstico diferencial, utilizando amostras de soro e urina, diminuindo assim o número de casos positivos subnotificados.

Palavras-chave: Zika vírus. ZIKV assintomático. Urina. Sem sintomas clínicos de arbovirose.

ABSTRACT

Diseases transmitted by vectors, such as *Aedes aegypti*, have an impact on public health. Arboviruses are part of this group of diseases, affecting thousands of people around the world every year. The dengue virus (DENV), an arbovirus of the genus *Flavivirus*, family *Flaviviridae*, is responsible for several epidemics and for bringing complications to patients, ranging from hemorrhagic conditions to irreversible organic complications. Another arbovirus from the genus *Flavivirus* of clinical importance is the Zika virus (ZIKV), responsible for the 2015 epidemic in Brazil, bringing with it the Zika Congenital Syndrome, which caused the birth of a hundreds of children with microcephaly. This study aims to evaluate the circulation of DENV and ZIKV in the municipality of Mirassol-SP. For this purpose, samples were collected from volunteers in the Mirassol Emergency Care Unit (UPA-Mirassol) from February 2018 to April 2019. The volunteers were divided into two groups. From the first group, composed of patients with clinical hypothesis of arbovirolosis, serum, and urine samples were collected. The second group included patients without a clinical diagnosis of arbovirolosis and companions from patients attended at the UPA, with only urine samples collected. The volunteers completed questionnaires about the symptoms presented at the time of collection. After RNA extraction, the investigation of the presence of viruses was performed by RT-qPCR. Both samples from the group suspected for arbovirus infection were tested for DENV and, ZIKV while samples from volunteers without a clinical diagnosis for arbovirus and companions were tested only for ZIKV. Six hundred and ninety-seven urine samples were collected from individuals without a clinical diagnosis of arbovirolosis and companions, of which 11.3% (79) were positive for ZIKV. Among positive individuals, 16.5% (13) are companions and, 83.5% (66) are individuals without a clinical diagnosis of arbovirolosis, 59.5% (47) of whom are female. From the symptomatic group, 285 serum samples and 272 urine samples were collected from 308 patients, and from those, 42.5% (131) were positive for DENV2, 0.3% (1) was positive for DENV1, 36.4% (111) were positive for ZIKV and 12.5% (38) were co-infected with ZIKV / DENV2. If only serum samples had been used, ZIKV detection would have dropped to 24.7% (76/308). From all the patients included in the study only one was suspected of ZIKV infection and the remaining were suspected of DENV according to the clinical diagnosis. Thus, through our study, it was possible to see the importance of making a differential diagnosis using serum and urine samples so that there is a decrease in the number of underreported positive cases.

Keywords: Zika virus. ZIKV asymptomatic. Urine. No clinical symptoms of arboviruses.

SUMÁRIO

Capítulo I - Considerações gerais	10
1. INTRODUÇÃO	11
1.1 Arbovírus.....	11
1.2 Gênero <i>Flavivirus</i>	12
1.3 O vírus da dengue (DENV)	14
1.4 O vírus Zika (ZIKV)	16
1.5 Diagnóstico diferencial	18
2. OBJETIVOS	20
2.1 Objetivo Geral	20
2.2 Objetivos Específicos.....	20
3. MATERIAIS E MÉTODOS	21
3.1 Aspectos Éticos.....	21
3.2 Coleta e processamento das amostras.....	21
3.2.1 Urina	22
3.2.2 Soro.....	22
3.3 Extração de RNA	22
3.4 Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (qPCR).....	23
3.5 Análises estatísticas.....	24
4. REFERÊNCIAS	25
Capítulo II – Artigo I: Detection of Zika virus in urine from individuals unsuspected of arboviral infection.....	30
1. Introduction	33
2. Methods	34
2.1 Population	34
2.2 Evaluation of symptoms.....	35
2.3 Samples	35
2.4 RNA extraction and ZIKV detection	36
2.5 Statistical analysis.....	36
3. Results.....	36
4. Discussion	40
5. References.....	43
<i>Supplementary information</i>	47
Capítulo III – Artigo II: DENV-2 and ZIKV co-infection detected by testing serum and urine in southeastern Brazil	48

1.	Introduction	51
2.	Methods	52
2.1	Population.....	52
2.2	Samples	52
2.3	RNA extraction and Real-time PCR	53
2.4	Statistical analysis	53
3.	Results.....	53
3.1	<i>Zika vírus</i>	54
3.2	<i>Dengue virus</i>	56
3.3	Co-infection ZIKV-DENV2	57
4.	Discussion	58
5.	References.....	61
	<i>Supplementary Information</i>	66
	Capítulo IV - Conclusões	68
1.	CONCLUSÕES.....	69

Capítulo I - Considerações gerais

1. INTRODUÇÃO

1.1 Arbovírus

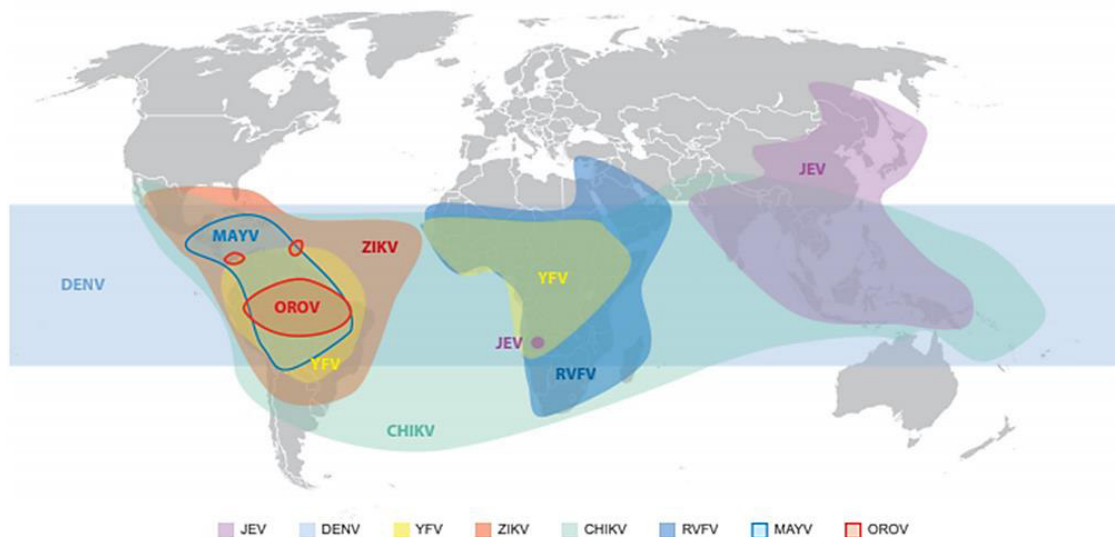
Os arbovírus tem sido um dos maiores motivos de preocupação em saúde pública mundial, atingindo todos os continentes, exceto o Antártico (WEAVER; REISEN, 2010; RUST, 2012; DONALISIO;FREITAS; ZUBEN, 2017; WEAVER, SCOTT C. et al., 2018) (Figura 1). Os arbovírus (*Arthropod-borne virus*) são um grupo de centenas de vírus que possuem diversas características em comum, sendo a principal, a transmissão por vetores artrópodes hematófagos, em sua maioria mosquitos (WEAVER; REISEN, 2010; RUST, 2012; WEAVER, SCOTT C. et al., 2018). Também pode-se destacar os vírus transmitidos por outros artrópodes hematófagos como carrapatos (WEAVER; REISEN, 2010; BARTÍKOVÁ et al., 2017; HOLBROOK, 2017). Os ciclos dos arbovírus variam de acordo com as condições ecológicas em que se encontram, sendo mantidos em ciclos urbanos e silvestres. No ciclo urbano ocorre a disseminação dos vírus através da picada do mosquito, que infecta o ser humano e no ciclo silvestre a transmissão ocorre entre mosquitos e primatas não humanos (WEAVER, SCOTT C. et al., 2018).

Os vírus mais conhecidos e importantes clinicamente são os que são transmitidos por mosquitos dos gêneros *Aedes* e *Culex* (WEAVER; REISEN, 2010; RUST, 2012). No Brasil, o vetor mais comum é o *Aedes aegypti*, no qual o seu ciclo de transmissão envolve apenas os mosquitos e os seres humanos, sem necessidade de manutenção em ciclos silvestres (WEAVER; VASILAKIS, 2009; LINDENBACH et al., 2013). Estudos também apontam o mosquito *Culex quinquefasciatus* como potencial vetor do ZIKV, pois foram encontrados mosquitos infectados no nordeste do Brasil (GUEDES et al., 2017). Assim como também, em testes laboratoriais, o *Aedes albopictus* demonstrou a sua capacidade de se infectar e disseminar o DENV (PANCETTI et al., 2015).

Os arbovírus de maior importância clínica pertencem as famílias *Togaviridae* (gênero *Alphavirus*), *Flaviviridae* (gênero *Flavivirus*), *Benyviridae*, *Reoviridae* e *Rhabdoviridae*. As manifestações clínicas das arboviroses podem se apresentar de forma assintomática, doença febril (DF) moderada a severa, erupções cutâneas e artralgia (AR), síndromes neurológicas (SN) e síndromes hemorrágicas (SH) (CLETON et al., 2012). Outros sintomas podem ser descritos, tais como hepatites, broncopneumonias e conjuntivites (CLETON et al., 2012). A doença febril geralmente apresenta sintomas moderados, tais como febre, dores de cabeça, mialgia, náuseas, vômito, dor retro orbital. As ARs apresentam exantema e artralgia (CLETON et al., 2012). Dentre as SNs pode-se apresentar meningites, mielites e/ou encefalites, além de alterações

comportamentais, paralisias e convulsões (CLETON et al., 2012). No caso das SHs ocorre uma baixa contagem das plaquetas, petéquias e episódios hemorrágicos, podendo causar a Síndrome do Choque da Dengue e óbito. A morbidade e a mortalidade envolvendo arboviroses aumenta à medida que vão ocorrendo as epidemias (CLETON et al., 2012).

Figura 1 - Mapa da distribuição das arboviroses emergentes ao redor do mundo. Abreviações: DENV: *Dengue virus*; YFV: *Yellow fever virus*; ZIKV: *Zika virus*; CHIKV: *Chikungunya virus*; JEV: *Japanese encephalitis virus*; RVFV: *Rift Valley fever virus*; MAYV: *Mayaro virus*; OROV: *Oropouche virus*.



Fonte: (WEAVER, S. C. et al., 2018)

Alguns fatores têm contribuído drasticamente para o aumento das arboviroses, tais como desmatamento, crescimento populacional exagerado, ocupação das áreas urbanas, mudanças climáticas, condições sanitárias precárias, podendo assim contribuir para a expansão dos insetos vetores e disseminação de alguns tipos de vírus (WEAVER; REISEN, 2010).

1.2 Gênero *Flavivirus*

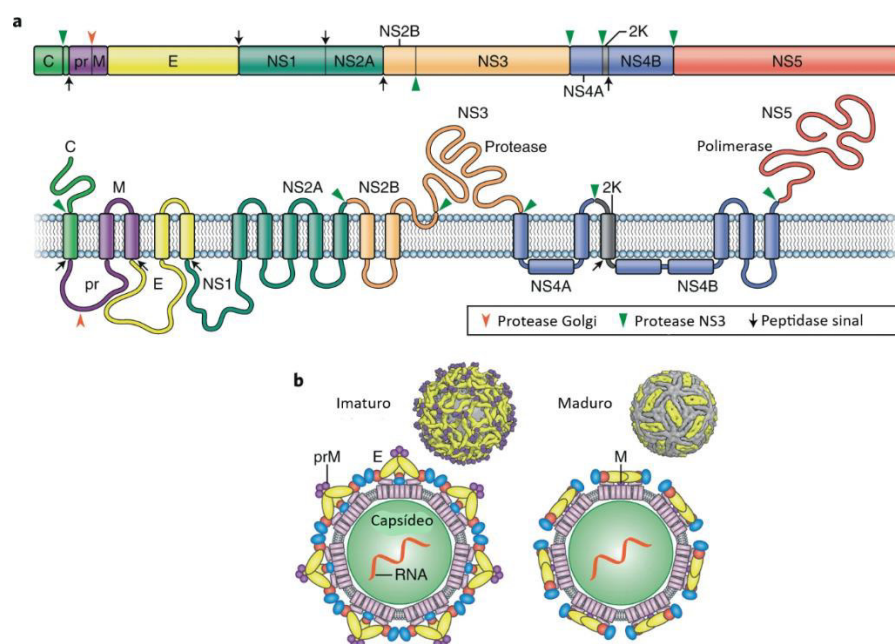
Os flavivirus são vírus de RNA pertencentes à família *Flaviviridae*, que acometem tanto humanos, quanto animais, podendo causar várias doenças, com sintomas leves ou graves, podendo levar a óbito (PIERSON; DIAMOND, 2020). O gênero *Flavivirus* compreendem mais de 53 espécies, sendo transmitidos por mosquitos e carrapatos (WEAVER; REISEN, 2010;

CLETON et al., 2012). Eles formam um dos gêneros pertencentes à família *Flaviviridae*, assim como os gêneros *Pestivirus* e *Hepacivirus* (CLETON et al., 2012).

A partícula viral dos flavivirus mede cerca de 40 a 60 nm de diâmetro, possuindo um capsídeo de formato icosaédrico, envolto por um envelope lipídico (LINDENBACH et al., 2013). Seu genoma é formado por um RNA fita simples de polaridade positiva, com aproximadamente 11kb, a partir do qual ocorre a tradução de uma única poliproteína, que é clivada por enzimas celulares e enzimas virais, formando as proteínas estruturais e as proteínas não estruturais (LINDENBACH et al., 2013). Dentre as proteínas estruturais, encontra-se a proteína C do capsídeo, as proteínas M e prM, e a proteína E que compõem o envelope viral e dentre as proteínas estruturais estão as proteínas NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5 (Figura 2) (LINDENBACH et al., 2013).

Acredita-se que os flavivirus surgiram há cerca de 100.000 anos e que sua disseminação ocorreu por conta da migração e expansão das populações (PETTERSSON; FIZ-PALACIOS, 2014; HOLBROOK, 2017). A família *Flaviviridae* engloba três gêneros: os *Flavivirus*, *Pestivirus* e *Hepacivirus* (LINDENBACH, 2007). Com relação às doenças de maior impacto e importância clínica envolvendo os *Flavivirus* pode-se destacar a dengue, a febre amarela, a febre do Zika, a encefalite japonesa, a febre do Oeste do Nilo, dentre outras (LINDENBACH, 2007; CLETON et al., 2012).

Figura 2 - Representação do genoma e estrutura dos *Flavivirus* e de suas proteínas estruturais (C, M, PrM e E) e não estruturais (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5).



Fonte: Adaptado de (PIERSON; DIAMOND, 2020)

1.3 O vírus da dengue (DENV)

O DENV é o vírus causador da doença de caráter agudo conhecida como dengue (KUHN et al., 2002; ZHANG et al., 2003). No Brasil, o DENV é representado por 4 sorotipos de ciclo urbano com características antigênicas distintas (DENV1, DENV2, DENV3 e DENV4) (HOLMES, 1998). Existe um potencial novo sorotipo de DENV em ciclo silvestre (DENV5), no qual o vírus permanece circulando em primatas não humanos, porém novos estudos precisam ser feitos para provar tal descoberta (NORMILE, 2013; MUSTAFA et al., 2015).

O DENV é transmitido por mosquitos hematófagos do gênero *Aedes*, tais como o *Aedes aegypti* e o *Aedes albopictus*, sendo o vetor mais comum o *Aedes aegypti*, no qual o seu ciclo de transmissão envolve os mosquitos e os seres humanos (WEAVER; VASILAKIS, 2009; ALTHOUSE et al., 2014). No Brasil, não foram registradas epidemias ou transmissão envolvendo o *Aedes albopictus*, embora em testes laboratoriais tenha sido demonstrada a sua capacidade de se infectar e disseminar o DENV (PANCETTI et al., 2015).

Diversos estudos usando primatas não humanos como modelos experimentais têm demonstrado que eles são potenciais hospedeiros de DENV. Além disso, sabe-se que o DENV2 possui ciclo silvestre na África e os quatro sorotipos circulam em primatas não humanos no Sudeste da Ásia (ALTHOUSE et al., 2014).

De acordo com a OMS, estima-se que ocorram ao redor do mundo mais de 390 milhões de infecções por DENV anualmente, do qual 50 milhões são de casos graves da doença, atingindo mais de 100 países, que se encontram em regiões tropicais e subtropicais, tais como África, Américas, sudeste da Ásia, Mediterrâneo oriental e Pacífico ocidental (OPAS; OMS, 2019). Apenas nas Américas, no ano de 2015 foram registradas 1181 mortes (OPAS; OMS, 2019).

As primeiras epidemias envolvendo dengue grave com hemorragias ocorreram em 1953 nas Filipinas e em 1958 na Tailândia, sendo esses países pertencentes às regiões do sudeste da Ásia e do Pacífico ocidental, regiões com os maiores surtos registrados (WHO, 2011).

No Brasil, o primeiro surto da doença ocorreu no estado de Roraima, no ano de 1981, no qual foi notada a circulação dos sorotipos 1 e 4 (OSANAI et al., 1983). O sorotipo 2 foi descrito pela primeira vez, no estado do Rio de Janeiro em 1990, no qual notou-se também os primeiros casos de Febre hemorrágica do dengue e o sorotipo 3 foi descrito no ano 2000, em Nova Iguaçu, Rio de Janeiro (NOGUEIRA et al., 1990; NOGUEIRA et al., 2001). No ano de 2015 ocorreu uma das maiores epidemias de DENV registradas no país, no qual foram

registrados na 52ª Semana Epidemiológica (período de 04/01/2015 a 02/01/2016) 1.649.008 possíveis casos da doença com registros confirmados de 863 óbitos (MS; SVS, 2016b).

No presente momento, o Brasil ainda continua passando por epidemias todos os anos, sendo considerado um país superendêmico, no qual o único meio de prevenção até o momento é a eliminação dos vetores (MS; SVS, 2019b).

A infecção pelo DENV pode ser desde assintomática até doença grave, com período de incubação de 2 a 7 dias podendo levar a óbito (PONTES; RUFFINO-NETTO, 1994). Estima-se que a cada 4 infecções causadas pelo DENV, uma seja assintomática, tendo importante papel na transmissão da doença, pois a viremia é a mesma dos casos sintomáticos (DUONG et al., 2015). Essa forma da doença pode ocorrer devido à baixa virulência ou devido ao tipo de resposta imunológica que o hospedeiro apresenta (SOUZA, 2016). Um estudo em Singapura mostrou casos de síndrome de Guillain-Barré em que os pacientes possuíam DENV assintomática, podendo haver relação entre a infecção pelo vírus e o quadro clínico neurológico. (UMAPATHI et al., 2016).

A maioria dos casos de dengue se apresenta de forma sintomática, ocorrendo em três fases clínicas diferentes: febril, crítica e de recuperação (MS; SVS, 2016a). Na fase febril um dos primeiros sintomas é a febre alta e abrupta (39-40°C), que pode durar de 2 a 7 dias, juntamente com cefaleia, mialgia, artralgia, dor retroorbital e adinamia (MS; SVS, 2016a). Posterior ao desaparecimento da febre, pode ocorrer o aparecimento de exantema, que ocorre em 50% dos casos, apresentando-se como do tipo maculo-papular, com ou sem prurido (MS; SVS, 2016a). Outros sintomas que podem aparecer nessa fase são vômito, náuseas, anorexia e diarreia. Passada essa fase, o paciente inicia o processo gradativo de recuperação e melhora do seu estado geral (MS; SVS, 2016a).

A fase crítica se divide em dengue com sinais de alarme e dengue grave e ela se inicia no período de defervescência, entre 3 e 7 dias após o início dos sintomas e é nessa fase que a doença pode evoluir para as formas mais graves, sendo de extrema importância que medidas de manejo clínico e observação eficientes sejam adotadas pelos profissionais de saúde (MS; SVS, 2016a). A dengue com sinais de alarme é assim denominada, por ser a fase em que o paciente irá apresentar sintomas que irão marcar o início de possível piora do paciente, que poderá evoluir para choque e óbito. Os sinais e sintomas dessa fase são vômitos persistentes, acúmulo de líquidos, dor abdominal intensa e constante, sangramento das mucosas, hipotensão postural e/ou lipotimia, hepatomegalia, letargia, irritabilidade e aumento do hematócrito. Todos esses sintomas indicam o aumento da permeabilidade vascular com posterior extravasamento de

plasma. Na forma grave, ao ocorrer o extravasamento de plasma, ocorre o choque ou acúmulo de líquidos, que leva à disfunção de órgãos vitais e hemorragias (MS; SVS, 2016a).

O choque ocorre após perda significativa de plasma e a evolução desse quadro ocorre de forma rápida, podendo levar o paciente a óbito entre 12 e 24 horas, com isso após esse quadro deve-se avaliar qualquer alteração hemodinâmica que venha a ocorrer nos pacientes, para impedir maior comprometimento (MS; SVS, 2016a). As hemorragias graves também são sinais de dengue grave, podendo ocorrer com ou sem choque, elas ocorrem em grande parte, em pacientes com distúrbios digestivos, tais como úlceras pépticas ou gastrites, ou em pacientes que fazem uso de determinados tipos de medicamentos, tais como alguns tipos de antiinflamatórios, anticoagulantes, entre outros (MS; SVS, 2016a). Além disso, também pode ocorrer dentro do quadro de dengue grave, as disfunções graves dos órgãos, que ocorrem com ou sem choque e extravasamento de plasma. Os órgãos acometidos são geralmente, órgãos do sistema hepático, sistema nervoso e sistema cardíaco, causando as hepatites, encefalites e miocardites, síndromes de Reye e Guillain-Barré, dentre outras (MS; SVS, 2016a).

Por fim, ocorre a fase de recuperação, no qual todo o conteúdo extravasado será reestabelecido ocasionando a melhora do paciente. Nessa fase ainda podem ser observados alguns sinais e/ou disfunções, assim como também o aparecimento de infecções bacterianas que podem contribuir para piora e óbito (MS; SVS, 2016a).

1.4 O vírus Zika (ZIKV)

O ZIKV causador da febre do Zika, assim como o DENV é um arbovírus do gênero *Flavivirus*, família *Flaviviridae*, transmitidos por mosquitos *Aedes aegypti* (KUNO; CHANG, 2007). O ZIKV foi isolado pela primeira vez de um macaco rhesus na floresta Zika, em Uganda (DICK et al., 1952; WHITE et al., 2016). As regiões do leste e oeste africano são consideradas endêmicas para ZIKV, porém no ano de 2007 ocorreu o primeiro surto de ZIKV fora do continente africano, na Ilha de Yap nos Estados Federados da Micronésia, no qual o vírus infectou 73% da população (DUFFY et al., 2009; PERKASA et al., 2016). Depois desse surto, o vírus se espalhou rapidamente e no ano de 2013 foi notificado novo surto na Polinésia Francesa (CAO-LORMEAU et al., 2014).

No Brasil, o primeiro caso autóctone de ZIKV ocorreu no ano de 2015, porém estudos sugerem que a introdução do ZIKV no país tenha ocorrido 1 ou 2 anos antes, por conta da Copa do mundo de futebol masculino que ocorreu em 2014 ou por conta de um torneio de canoagem que ocorreu em 2013 no Rio de Janeiro, no qual os participantes eram nativos de países em que

circulava o ZIKV (MUSSO et al., 2015; ZANLUCA et al., 2015; SALVADOR; FUJITA, 2016). No ano de 2015, os primeiros estados atingidos foram Bahia, Pernambuco e Rio Grande do Norte e médicos da região nordeste do estado começaram a relatar que as infecções por ZIKV coincidem com o aumento no número de casos atípicos de microcefalia em recém-nascidos da região (CALVET et al., 2016; RASMUSSEN et al., 2016). Após esses achados, foi coletado o líquido amniótico e detectada a presença do RNA e anticorpos do ZIKV nesse fluido, mostrando uma possível transmissão via intrauterina (CALVET et al., 2016). Depois desses surtos foi declarado estado de emergência global, pela Organização Mundial de Saúde, no ano de 2016 (WHO, 2016b).

No ano de 2016 foram registrados até a Semana Epidemiológica 52 (03/01/2016 a 31/12/2016) 215.319 possíveis casos de ZIKV no país e 11.052 gestantes foram confirmadas com base em dados clínicos-epidemiológicos ou laboratorialmente (MS; SVS, 2016b). Em relação à Síndrome Congênita do Zika (*Congenital Zika Syndrome – CZS*), entre as Semanas Epidemiológicas SEs 45/2015 e 40/2019 (08/11/2015 a 05/10/2019) foram confirmados 3.474 casos, além de 743 casos prováveis e 615 inconclusivos. Esses casos distribuídos entre os anos investigados mostram um número de 954 casos em 2015, 1.927 em 2016, 369 em 2017, 178 em 2018 e 55 em 2019 (MS; SVS, 2020).

Em relação às manifestações clínicas, é visto que o ZIKV se apresenta em 80% dos casos de forma assintomática e quando doença sintomática, os sinais e sintomas do ZIKV são muito parecidos com os de outras arboviroses, pois os pacientes apresentam febre leve, cefaleia, erupções cutâneas maculopapulares, conjuntivite não purulenta, artralgia, mialgia e linfadenopatia (DUFFY et al., 2009; SINGH et al., 2016). Além desses sintomas, eles também podem apresentar náusea, vômito, diarreia, vertigem, dor abdominal e queimação nas extremidades dos membros (SINGH et al., 2016; COLOMBO et al., 2017).

Além dos sintomas citados acima, o ZIKV pode trazer outras complicações, tais como distúrbios neurológicos, a CZS e a Síndrome de Guillain-Barré (SGB) (MS, 2015; CAOLORMEAU et al., 2016). A CZS é identificada pela medida do perímetro cefálico menor, quando comparada com recém-nascidos normais (VILLAR et al., 2014). Os recém-nascidos com microcefalia desenvolvem diversas complicações, tais como dificuldade de desenvolvimento cognitivo, problemas de visão e audição, paralisia cerebral e retardo mental (DOLK, 1991; VILLAR et al., 2014; WHO, 2016a).

1.5 Diagnóstico diferencial

Atualmente no Brasil o diagnóstico e definição de caso suspeito de arboviroses é feito, na maioria dos casos, baseado em critérios clínicos-epidemiológicos, pois não são feitos exames específicos em todos os casos, com isso acaba ocorrendo uma subnotificação das arboviroses com importância clínica que circulam no país, prejudicando a contenção dessas doenças (MS; SVS, 2016c; 2019a). Quando são solicitados exames laboratoriais, na maioria das vezes, são solicitados os exames de métodos imunoenzimáticos, pois estes testes possuem um custo mais baixo, sendo mais aplicáveis quando existe um grande número de amostras (CASTELLANOS; CORONEL-RUIZ, 2014). No diagnóstico utilizando testes imunoenzimáticos, pode-se detectar o antígeno, sendo pesquisada a proteína NS1, que é extremamente conservada, assim como realizar a pesquisa de anticorpos IgG e IgM específicos (OSORIO et al., 2015). Esse método é eficiente, porém possui baixa especificidade, podendo apresentar reações cruzadas entre diferentes tipos de *Flavivirus*, dando resultados errôneos (PEELING et al., 2010). O teste mais indicado para a pesquisa de anticorpos de arbovirus é o teste de redução de neutralização de placas (PRNT). O PRNT é o padrão ouro na pesquisa sorológica de flavivirus, porém é um método inviável para aplicação nos serviços de saúde, por ser de alto custo, demorado, pois leva 7 dias para obter o resultado, e por necessitar de profissionais extremamente capacitados para realizar a técnica e interpretar corretamente os resultados. Além disso, dependendo do vírus é necessária a utilização de Sala de Nível de Biossegurança 3 (PETERSEN; JAMIESON; HONEIN, 2016; ROEHRIG et al., 2008).

Outros métodos utilizados são os métodos moleculares, onde é feita a detecção do ácido nucléico viral, por meio das técnicas de PCR convencional e PCR em tempo real, que são métodos de alta especificidade e sensibilidade, porém de alto custo (GURUKUMAR et al., 2009; PEELING et al., 2010; COLOMBO et al., 2018).

O diagnóstico laboratorial pode ser feito utilizando diferentes tipos de fluídos biológicos, tais como sangue, saliva, urina, sêmen, cordão umbilical, swab nasofaríngeo, líquido amniótico e secreção vaginal (KORHONEN et al., 2014; IANNETTA et al., 2017; PAZ-BAILEY et al., 2017). No caso do ZIKV a urina é um dos fluidos recomendados quando usada a técnica de RT-qPCR, pois sua viremia se mostra baixa, quando utilizadas amostras de soro (OZKURT; TANRIVERDI, 2017). Estudos mostram que a detecção de ZIKV em soro pode ser feita até 10 dias após aparecimento dos sintomas, enquanto que em urina esse período é muito maior, podendo chegar a semanas (ROZÉ et al., 2016; OZKURT; TANRIVERDI, 2017). No caso do DENV, o soro é o mais utilizado para realizar sua detecção, no qual o período de

4. REFERÊNCIAS

- ALTHOUSE, B. M. *et al.* Viral kinetics of primary dengue virus infection in non-human primates: A systematic review and individual pooled analysis. *Virology* **452-453**, 237-246, doi:<https://doi.org/10.1016/j.virol.2014.01.015> (2014).
- BARTÍKOVÁ, P. *et al.* Tick-borne viruses. *Acta Virol*, v. 61, n. 4, p. 413-427, 2017. ISSN 0001-723X (Print) 0001-723x.
- BRATHWAITE DICK, O. *et al.* The history of dengue outbreaks in the Americas. *Am J Trop Med Hyg*, v. 87, n. 4, p. 584-593, Oct 2012. ISSN 0002-9637.
- CALVET, G. *et al.* Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study. *The Lancet Infectious Diseases*, v. 16, n. 6, p. 653-660, 2016. ISSN 1473-3099. Disponível em: < [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)00095-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00095-5) >. Acesso em: 2020/10/16.
- CAO-LORMEAU, V.-M. *et al.* Guillain-Barré Syndrome outbreak associated with Zika virus infection in French Polynesia: a case-control study. *The Lancet*, v. 387, n. 10027, p. 1531-1539, 2016/04/09/ 2016. ISSN 0140-6736. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673616005626> >.
- CAO-LORMEAU, V. M. *et al.* Zika virus, French polynesia, South pacific, 2013. *Emerging infectious diseases*, v. 20, n. 6, p. 1085-1086, Jun 2014. ISSN 1080-6059 (Electronic) 1080-6040 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24856001> >.
- CASTELLANOS, J. E.; CORONEL-RUIZ, C. Dengue disease diagnosis: A puzzle to be solved. *Revista de la Facultad de Medicina*, v. 62, p. 617-629, 2014. ISSN 0120-0011.
- CLETON, N. *et al.* Come fly with me: review of clinically important arboviruses for global travelers. *J Clin Virol*, v. 55, n. 3, p. 191-203, Nov 2012. ISSN 1386-6532.
- COLOMBO, T. E. *et al.* Clinical, laboratory and virological data from suspected ZIKV patients in an endemic arbovirus area. *Journal of Clinical Virology*, v. 96, p. 20-25, 2017/11/01/ 2017. ISSN 1386-6532. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1386653217302500> >.
- COLOMBO, T. E. *et al.* Zika detection: comparison of methodologies. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 49, p. 144-147, 2018. ISSN 1517-8382.
- DICK, G. *et al.* Zika virus (I). Isolations and serological specificity. v. 46, n. 5, p. 509-520, 1952. ISSN 0035-9203.
- DOLK, H. The predictive value of microcephaly during the first year of life for mental retardation at seven years. *Dev Med Child Neurol*, v. 33, n. 11, p. 974-983, Nov 1991. ISSN 0012-1622 (Print) 0012-1622.
- 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, 2017. ISSN 0034-8910.
- DUFFY, M. R. *et al.* Zika virus outbreak on Yap Island, federated states of Micronesia. v. 360, n. 24, p. 2536-2543, 2009. ISSN 0028-4793.
- DUONG, V. *et al.* Asymptomatic humans transmit dengue virus to mosquitoes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 112, n. 47, p. 14688-14693, Nov 24 2015. ISSN 0027-8424.
- GUEDES, D. R. *et al.* Zika virus replication in the mosquito *Culex quinquefasciatus* in Brazil. *Emerg Microbes Infect*, v. 6, n. 8, p. e69, Aug 9 2017. ISSN 2222-1751.
- GURUKUMAR, K. R. *et al.* Development of real time PCR for detection and quantitation of Dengue Viruses. *Virol J*, v. 6, p. 10, Jan 23 2009. ISSN 1743-422x.

HIRAYAMA, T. et al. Detection of dengue virus genome in urine by real-time reverse transcriptase PCR: a laboratory diagnostic method useful after disappearance of the genome in serum. **J Clin Microbiol**, v. 50, n. 6, p. 2047-2052, 2012. ISSN 1098-660X0095-1137. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22442323> <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3372171/> >.

HOLBROOK, M. R. Historical Perspectives on Flavivirus Research. **Viruses**, v. 9, n. 5, Apr 30 2017. ISSN 1999-4915.

HOLMES, E. C. Molecular epidemiology and evolution of emerging infectious diseases. **Br Med Bull**, v. 54, n. 3, p. 533-543, 1998. ISSN 0007-1420 (Print)0007-1420.

IANNETTA, M. et al. Persistent detection of dengue virus RNA in vaginal secretion of a woman returning from Sri Lanka to Italy, April 2017. **Euro Surveill**, v. 22, n. 34, Aug 24 2017. ISSN 1025-496X (Print) 1025-496x.

JOHNSON, B. W.; RUSSELL, B. J.; LANCIOTTI, R. S. Serotype-specific detection of dengue viruses in a fourplex real-time reverse transcriptase PCR assay. **J Clin Microbiol**, v. 43, n. 10, p. 4977-4983, Oct 2005. ISSN 0095-1137 (Print) 0095-1137.

KORHONEN, E. M. et al. Approach to non-invasive sampling in dengue diagnostics: exploring virus and NS1 antigen detection in saliva and urine of travelers with dengue. **J Clin Virol**, v. 61, n. 3, p. 353-358, Nov 2014. ISSN 1386-6532.

KUHN, R. J. et al. Structure of dengue virus: implications for flavivirus organization, maturation, and fusion. **Cell**, v. 108, n. 5, p. 717-725, Mar 8 2002. ISSN 0092-8674 (Print) 0092-8674.

KUNO, G.; CHANG, G. J. Full-length sequencing and genomic characterization of Bagaza, Kedougou, and Zika viruses. **Arch Virol**, v. 152, n. 4, p. 687-696, 2007. ISSN 0304-8608 (Print) 0304-8608 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17195954> >.

LANCIOTTI, R. S. et al. Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. **Emerging infectious diseases**, v. 14, n. 8, p. 1232-1239, Aug 2008. ISSN 1080-6040 (Print) 1080-6040.

LINDENBACH, B., D; THIEL, H; RICE C.M. Flaviviridae: the viruses and their replication. In: KNIPE DM H. P. (Ed.). **Fields virology**. . 6. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 2007. p.1101-1152.

LINDENBACH, B. D. et al. Flaviviridae. In: KLUWER W. (Ed.). **Fields Virology**. 6. Philadelphia, PA 19103 USA, v.1, 2013. cap. 25, p.712. ISBN 1000217984826.

MARQUES, G. R. A. M. et al. Água de abastecimento público de consumo humano e oviposição de *Aedes aegypti* J Revista de Saúde Pública. v. 47, p. 579-587, 2013. ISSN 0034-8910. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-89102013000300579&nrm=iso >.

MS. Ministério da Saúde confirma relação entre vírus Zika e microcefalia. Brasília, 2015. Disponível em: < <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/ministerio-da-saude-confirma-relacao-entre-virus-zika-e-microcefalia> >. Acesso em: 10/03/2020.

MS; SVS. **Levantamento Rápido de Índices para *Aedes aegypti* – LIRAA – para Vigilância Entomológica do *Aedes aegypti* no Brasil**. TRANSMISSÍVEIS D. D. V. D. D. Brasil: Ministério da Saúde 84 p. 2013.

MS; SVS. **Dengue: diagnóstico e manejo clínico: adulto e criança**. TRANSMISSÍVEIS D. D. V. D. D. Brasil: Ministério da Saúde 2016a.

MS; SVS. **Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 52, 2015**. Brasil: Ministério da Saúde. 47: 1-10 p. 2016b.

MS; SVS. **Nota Informativa - Procedimentos a serem adotados para a vigilância da Febre do vírus Zika no Brasil**. Brasil: Ministério da Saúde 2016c.

MS; SVS. **Guia de Vigilância em Saúde**. SERVIÇOS C.-G. D. D. E. E. Brasil: Ministério da Saúde: 740 p. 2019a.

MS; SVS. **Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas transmitidas pelo Aedes (dengue, chikungunya e Zika) até a Semana Epidemiológica 12 de 2019 e Levantamento Rápido de Índices para Aedes aegypti (LIRAA)** TRANSMISSÍVEIS D. D. V. D. D. Brasília, Brasil: Ministério da Saúde. 50 2019b.

MS; SVS. **Situação epidemiológica da síndrome congênita associada à infecção pelo vírus Zika em 2020: até a SE 25**. Brasil: Ministério da Saúde. 51: 45 p. 2020.

MUSSO, D. et al. Potential sexual transmission of Zika virus. **Emerg Infect Dis**, v. 21, n. 2, p. 359-361, Feb 2015. ISSN 1080-6040 (Print) 1080-6040.

MUSTAFA, M. S. et al. Discovery of fifth serotype of dengue virus (DENV-5): A new public health dilemma in dengue control. **Medical Journal Armed Forces India**, v. 71, n. 1, p. 67-70, 2015/01/01/ 2015. ISSN 0377-1237. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0377123714001725> >.

NOGUEIRA, R. M. R. et al. Dengue virus type 3 in Rio de Janeiro, Brazil %J Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. v. 96, p. 925-926, 2001. ISSN 0074-0276. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762001000700007&nrm=iso >.

NOGUEIRA, R. M. R. et al. Isolation of dengue virus type 2 in Rio de Janeiro %J Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. v. 85, p. 253-253, 1990. ISSN 0074-0276. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02761990000200022&nrm=iso >.

NORMILE, D. Tropical medicine. Surprising new dengue virus throws a spanner in disease control efforts. **Science**, v. 342, n. 6157, p. 415, Oct 25 2013. ISSN 0036-8075.

OPAS; OMS. **Folha informativa - Dengue e dengue grave**. Brasil: Ministério da Saúde 2019.

OSANAI, C. H. et al. [Dengue outbreak in Boa Vista, Roraima. Preliminary report]. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 25, n. 1, p. 53-54, Jan-Feb 1983. ISSN 0036-4665 (Print) 0036-4665.

OSORIO, L. et al. The use of rapid dengue diagnostic tests in a routine clinical setting in a dengue-endemic area of Colombia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, p. 510-516, 2015. ISSN 0074-0276.

OZKURT, Z.; TANRIVERDI, E. C. Global Alert: Zika Virus-an Emerging Arbovirus. **Eurasian J Med**, v. 49, n. 2, p. 142-147, Jun 2017. ISSN 1308-8734 (Print) 1308-8734.

PANCETTI, F. G. M. et al. Twenty-eight years of Aedes albopictus in Brazil: a rationale to maintain active entomological and epidemiological surveillance %J Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. v. 48, p. 87-89, 2015. ISSN 0037-8682. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822015000100087&nrm=iso >.

PAZ-BAILEY, G. et al. Persistence of Zika Virus in Body Fluids — Final Report. v. 379, n. 13, p. 1234-1243, 2017. Disponível em: < <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1613108> >.

PEELING, R. W. et al. Evaluation of diagnostic tests: dengue. **Nat Rev Microbiol**, v. 8, n. 12 Suppl, p. S30-38, Dec 2010. ISSN 1740-1526.

PERKASA, A. et al. Isolation of Zika virus from febrile patient, Indonesia. v. 22, n. 5, p. 924, 2016.

PETERSEN, L. R.; JAMIESON, D. J.; HONEIN, M. A. Zika Virus. **N Engl J Med**, v. 375, n. 3, p. 294-295, Jul 21 2016. ISSN 0028-4793.

PETTERSSON, J. H.; FIZ-PALACIOS, O. Dating the origin of the genus Flavivirus in the light of Beringian biogeography. **J Gen Virol**, v. 95, n. Pt 9, p. 1969-1982, Sep 2014. ISSN 0022-1317.

- PIERSON, T. C.; DIAMOND, M. S. The continued threat of emerging flaviviruses. **Nature Microbiology**, v. 5, n. 6, p. 796-812, 2020/06/01 2020. ISSN 2058-5276. Disponível em: < <https://doi.org/10.1038/s41564-020-0714-0> >.
- POLONI, T. R. et al. Detection of dengue virus in saliva and urine by real time RT-PCR. **Virology**, v. 7, p. 22-22, 2010. ISSN 1743-422X. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20105295> <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/PMC2835670/> >.
- PONTES, R. J.; RUFFINO-NETTO, A. J. R. D. S. P. Dengue em localidade urbana da região sudeste do Brasil: aspectos epidemiológicos. v. 28, p. 218-227, 1994. ISSN 0034-8910.
- RASMUSSEN, S. A. et al. Zika Virus and Birth Defects — Reviewing the Evidence for Causality. v. 374, n. 20, p. 1981-1987, 2016. Disponível em: < <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMsr1604338> >.
- ROEHRIG, John T. ; HOMBACH, Joachim; BARRETT, Alan DT. Diretrizes para testes de neutralização por redução de placa de anticorpos humanos contra o vírus da dengue. **Imunologia viral** , v. 21, n. 2, pág. 123-132, 2008.
- ROZÉ, B. et al. Zika virus detection in urine from patients with Guillain-Barré syndrome on Martinique, January 2016. **Euro Surveill**, v. 21, n. 9, p. 30154, 2016. ISSN 1025-496x.
- RUST, R. S. Human Arboviral Encephalitis. **Seminars in Pediatric Neurology**, v. 19, n. 3, p. 130-151, 2012/09/01/ 2012. ISSN 1071-9091. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1071909112000186> >.
- SALVADOR, F. S.; FUJITA, D. M. Entry routes for Zika virus in Brazil after 2014 world cup: New possibilities. **Travel Med Infect Dis**, v. 14, n. 1, p. 49-51, Jan-Feb 2016. ISSN 1477-8939.
- SHINOHARA, K. et al. Zika fever imported from Thailand to Japan, and diagnosed by PCR in the urine. **Journal of Travel Medicine**, v. 23, n. 1, 2016. ISSN 1195-1982. Disponível em: < <https://doi.org/10.1093/jtm/tav011> >. Acesso em: 7/28/2020.
- SINGH, R. K. et al. Zika virus - emergence, evolution, pathology, diagnosis, and control: current global scenario and future perspectives - a comprehensive review. **Vet Q**, v. 36, n. 3, p. 150-175, Sep 2016. ISSN 0165-2176.
- SOUZA, L. J. D. **Dengue, Zika e Chikungunya - Diagnóstico, Tratamento e Prevenção**. 1ª. 2016. ISBN 9788584110674.
- UMAPATHI, T. et al. Asymptomatic dengue infection may trigger Guillain-Barre syndrome. **J Peripher Nerv Syst**, v. 21, n. 4, p. 375-377, Dec 2016. ISSN 1085-9489.
- VILLAR, J. et al. International standards for newborn weight, length, and head circumference by gestational age and sex: the Newborn Cross-Sectional Study of the INTERGROWTH-21st Project. **Lancet**, v. 384, n. 9946, p. 857-868, Sep 6 2014. ISSN 0140-6736.
- WEAVER, S. C. et al. Zika, Chikungunya, and Other Emerging Vector-Borne Viral Diseases. **Annu Rev Med**, v. 69, p. 395-408, Jan 29 2018. ISSN 1545-326X (Electronic) 0066-4219 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28846489> >.
- WEAVER, S. C. et al. Zika, Chikungunya, and Other Emerging Vector-Borne Viral Diseases. v. 69, n. 1, p. 395-408, 2018. Disponível em: < <https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev-med-050715-105122> >.
- WEAVER, S. C.; REISEN, W. K. J. A. R. Present and future arboviral threats. v. 85, n. 2, p. 328-345, 2010. ISSN 0166-3542.
- WEAVER, S. C.; VASILAKIS, N. Molecular evolution of dengue viruses: Contributions of phylogenetics to understanding the history and epidemiology of the preeminent arboviral disease. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 9, n. 4, p. 523-540, 2009/07/01/ 2009. ISSN 1567-1348. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567134809000367> >.

WHITE, M. K. et al. Zika virus: An emergent neuropathological agent. **Ann Neurol**, v. 80, n. 4, p. 479-489, Oct 2016. ISSN 0364-5134 (Print) 0364-5134.

WHO. **Dengue hemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control**. Geneva: World Health Organization 1997.

WHO. **Comprehensive Guidelines for Prevention and Control of Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever**. New Delhi, India: World Health Organization: 212 p. 2011.

WHO. **Avaliação de bebês com microcefalia no contexto do vírus Zika**: 3 p. 2016a.

WHO. WHO to convene an International Health Regulations Emergency Committee on Zika virus and observed increase in neurological disorders and neonatal malformations. 2016b. Disponível em: < <https://www.who.int/en/news-room/detail/28-01-2016-who-to-convene-an-international-health-regulations-emergency-committee-on-zika-virus-and-observed-increase-in-neurological-disorders-and-neonatal-malformations> >.

ZANLUCA, C. et al. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. v. 110, n. 4, p. 569-572, 2015. ISSN 0074-0276.

ZHANG, Y. et al. Structures of immature flavivirus particles. **Embo j**, v. 22, n. 11, p. 2604-2613, Jun 2 2003. ISSN 0261-4189 (Print) 0261-4189.

Capítulo IV - Conclusões

1. CONCLUSÕES

Entre fevereiro de 2018 e abril de 2019, foram coletadas amostras de 2 grupos: sintomáticos e sem diagnóstico clínico de arboviroses. Do grupo de sintomáticos foram coletadas 287 amostras de sangue e 273 amostras de urina de 308 pacientes. Já do grupo sem diagnóstico clínico de arboviroses, foram coletadas 697 amostras de urina.

Grupo de pacientes sintomáticos.

Dos 308 pacientes sintomáticos, 36% (111) tinham ZIKV, 42,5% (131) tinham DENV2 e 0,3% (1) tinha DENV1. Também avaliamos coinfeção e vimos que 12,7% dos pacientes estavam coinfectados com ZIKV/DENV2. Todos esses pacientes foram diagnosticados com base em dados clínicos e epidemiológicos, sendo que 307 receberam o diagnóstico de DENV e apenas 1 recebeu o diagnóstico de ZIKV. Também foi possível avaliar a importância da utilização das amostras de urina, pois se tivéssemos utilizado apenas amostras de soro, o percentual de positivos para ZIKV, cairia de 36% para 24,7%. Além disso, dentre todos esses pacientes positivos, tanto para ZIKV, DENV e ambos os vírus, vimos que os sintomas mais relatados foram mialgia, febre, artralgia e dor retroorbital.

Grupo de pacientes sem diagnóstico clínico de arboviroses.

No grupo de pacientes sem diagnóstico clínico de arboviroses, detectamos a presença de ZIKV nas amostras de urina de 79 indivíduos, sendo de assintomáticos e pacientes com e sem sintomas sugestivos de arboviroses. Dentre os pacientes que possuíam sintomas sugestivos de arboviroses, os principais sintomas apresentados foram mialgia, febre, náusea e vômito. Ao analisar as causas que levaram os voluntários do grupo de indivíduos sem diagnóstico clínico de arboviroses a irem até a UPA, pode-se notar que a maioria dos pacientes infectados com ZIKV, apresentou infecções do sistema respiratório, doenças multissistêmicas e infecção do trato urinário. Ao analisarmos a circulação temporal de ZIKV e DENV em Mirassol, por meio de amostragem mensal, notamos que em 2018 havia um maior número de casos de DENV e poucos casos de ZIKV e que esse quadro foi se invertendo no início de 2019, no qual tivemos maior número de casos de ZIKV ao mesmo tempo em que ocorre a diminuição dos casos de DENV.

Por fim, destacamos a importância de uma melhor investigação da circulação de ZIKV e DENV na cidade e na região de Mirassol. Em nosso estudo ficou evidente a necessidade de um diagnóstico diferencial, pois o diagnóstico baseado apenas em dados clínicos-epidemiológicos não é o ideal, por conta das arboviroses serem doenças com sintomas inespecíficos, que podem ser confundidas entre si, além de serem confundidas com outras

doenças não virais, causando uma subnotificação dos reais casos dessas doenças. Outro ponto importante é a utilização de outros fluidos, tal como a urina, principalmente no caso do ZIKV. Além disso, os dados obtidos nesse estudo são importantes para desenvolvimento de medidas preventivas, campanhas de vigilância e medidas mais eficazes de eliminação dos criadouros do vetor, com o intuito de prever e impedir novos surtos da doença na região da cidade de Mirassol.