

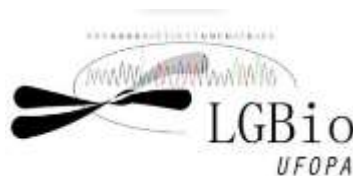


UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE



DIAGNÓSTICO MOLECULAR

ARBOVIROSES



Santarém-Pará, 2024



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

CARTILHA DE ESTUDOS:
DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE ARBOVIROSES: CAPACITAÇÃO A
PROFISSIONAIS E ESTUDANTES NO INTERIOR DA AMAZÔNIA

A presente Cartilha de Estudos, é produto de dissertação do Programa de Mestrado em Ciências da Saúde e tem por objetivo aperfeiçoar e ampliar o conhecimento, visando orientar os profissionais e estudantes de saúde sobre a suspeita, notificação, investigação e outras condutas de vigilância para os casos de doenças ocasionadas por arbovírus, atendidos nos serviços de saúde do Município de Santarém, Pará e toda a região amazônica. Nesta Cartilha, arboviroses como a Dengue, Zika, Chikungunya, Febre de Oropouche e Vírus Mayaro serão abordados, em foco, o diagnóstico molecular, para a identificação e diferenciação dos arbovírus, fundamental para a boa condução e redução dos riscos de complicações dos casos e assistência adequada das arboviroses.

Autores:

Adria Leitão Maia

Dr Luís Reginaldo Ribeiro Rodrigues (Orientador)



“A educação permanente em saúde pode ser entendida como sendo a noção pedagógica de um movimento educacional que se insere no Sistema Único de Saúde brasileiro com o propósito de promover transformações nas práticas institucionais, a fim de viabilizar serviços que atendam as necessidades populacionais com maior eficiência (CARVALHO, 2023)”



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

SUMÁRIO

1	APRESENTAÇÃO	3
1.1	FAMÍLIA <i>FLAVIVIRIDAE</i>	4
1.2	FAMÍLIA <i>TOGAVIRIDAE</i>	5
1.3	FAMÍLIA <i>BUNYAVIRIDAE</i>	6
2	VÍRUS DENGUE	6
3	ZIKA VÍRUS	10
4	VÍRUS CHIKUNGUNYA	15
5	VÍRUS MAYARO	24
6	FEBRE DE OROPOUCHE	25
7	DIAGNÓSTICO DE ARBOVÍRUS	27
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	33
	REFERÊNCIAS	34



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

1. APRESENTAÇÃO

Arbovírus são vírus transmitidos por artrópodes (*Arthropod-borne virus*) e são assim designados não somente pela sua veiculação através de artrópodes, mas, principalmente, pelo fato de parte de seu ciclo replicativo ocorrer nos insetos. São transmitidos aos seres humanos e outros animais pela picada de artrópodes hematófagos.

Figura 1: Mosquito *Aedes Aegypti*



Fonte: <https://agazeta.net/um-mosquito-tres-doencas-ameaca-do-aedes-aegypti-em-areas-residenciais-no-acre/>

Os arbovírus, responsáveis por doenças em seres humanos e outros animais de sangue quente, pertencem a cinco famílias virais: *Bunyaviridae*, *Togaviridae*, *Flaviviridae*, *Reoviridae* e *Rhabdoviridae*. Estima-se que existam mais de 545 espécies de arbovírus, das quais mais de 150 estão associadas a doenças em humanos, sendo a maioria zoonótica. Esses vírus são mantidos em um ciclo de transmissão entre artrópodes – vetores (Figura 1) e vertebrados, que atuam como principais hospedeiros amplificadores.

As arboviroses vêm se tornando ameaças significativas e contínuas nas regiões tropicais, impulsionadas por mudanças climáticas rápidas, desmatamentos, migrações populacionais, ocupação urbana desordenada e condições sanitárias precárias que favorecem a amplificação e transmissão dos vírus.

A transmissão ocorre pelo sangue de pacientes virêmicos através de insetos hematófagos, o que representa uma preocupação significativa na doação de sangue em áreas endêmicas. Foram relatados casos de transmissão do vírus Oeste do Nilo (WNV), *Flavivirus*, Família *Flaviviridae*, entre seres humanos via transfusões de sangue e transplantes de órgãos.

O único continente onde os arbovírus não são endêmicos é a Antártica. Esses vírus geralmente possuem uma distribuição geográfica e climática limitada, formando um subsistema ecológico específico que inclui vírus, vetores, hospedeiros amplificadores e reservatórios.



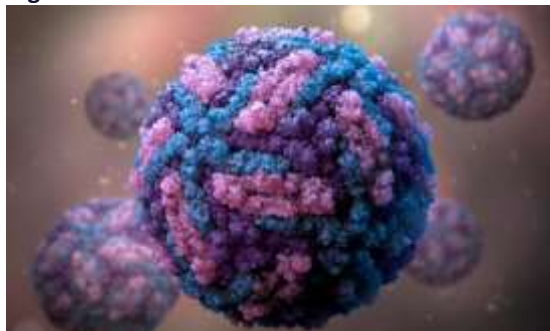
UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

1.1 FAMÍLIA FLAVIVIRIDAE

A família *Flaviviridae* engloba três gêneros: *Flavivirus*, *Pestivirus* e *Hepacivirus*. No gênero *Flavivirus* (Figura 2), estão incluídas aproximadamente 39 espécies de arbovírus, algumas das quais causam encefalites e outras febres hemorrágicas em humanos e animais. Entre os vírus mais notáveis deste grupo estão o Dengue, Febre Amarela, Zika, Encefalite de Saint Louis, Rocio, Oeste do Nilo, Cacipacore, Ilheus, Bussuquara e Iguape. A partícula dos flavivírus tem um diâmetro entre 40 e 60 nm, com um capsídeo proteico (C) de simetria icosaédrica, envolto por um envelope lipídico. Nesse envelope, estão inseridas as proteínas de membrana (M) e as espículas glicoproteicas (E).

O genoma dos flavivírus consiste em um RNA de fita simples com polaridade positiva, contendo cerca de 11 kb. Este genoma possui uma única sequência aberta de leitura (ORF) com 10.233 nucleotídeos que codificam várias proteínas, flanqueada por duas regiões não codificantes (UTR), que são cruciais para a regulação e expressão do vírus.

Figura 2: *Flavivírus*



Fonte: <https://thenativeantigencompany.com/the-continued-challenges-of-flavivirus-serology/>

O genoma dos flavivírus codifica três proteínas estruturais: a proteína C do capsídeo, a proteína do envelope pré-M, precursora da proteína M, e a proteína E. Além dessas, o genoma codifica sete proteínas não estruturais (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5) que desempenham funções reguladoras e são essenciais para a replicação, virulência e patogenicidade do vírus. O ciclo replicativo desses vírus começa com a ligação ao receptor na superfície celular, embora a estrutura exata que atua como receptor ainda seja desconhecida. Diversas moléculas na superfície celular têm mostrado capacidade de interagir com partículas de flavivírus. Após a adsorção, a partícula viral é endocitada em vesículas recobertas por clatrina. O pH baixo do endossoma provoca a fusão do envelope viral com as membranas celulares, resultando em mudanças conformacionais na proteína E e na liberação do nucleocapsídeo no citoplasma. Após a decapsidação, o genoma de RNA é liberado no citoplasma. As proteínas virais são sintetizadas como uma única poliproteína com mais de 3.000 aminoácidos, que é clivada por uma combinação de proteases do hospedeiro e virais.



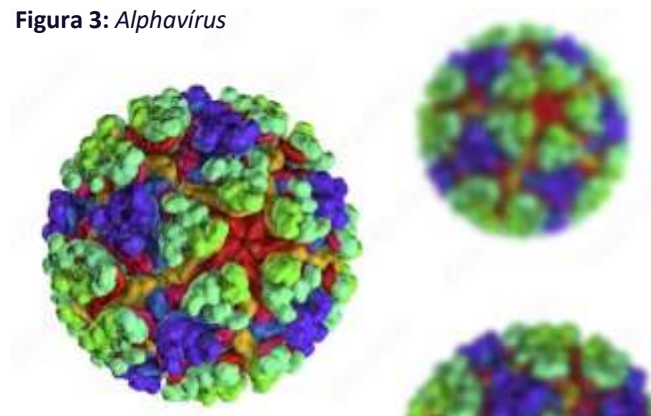
UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

As proteínas estruturais são codificadas na porção N-terminal da poliproteína, enquanto as proteínas não estruturais (NS) são codificadas na parte restante. Os flavivírus replicam-se no citoplasma, associando-se às membranas por meio de interações que envolvem as pequenas proteínas hidrofóbicas NS, o RNA viral e, presumivelmente, alguns fatores do hospedeiro. A síntese de uma fita de RNA de polaridade negativa é a primeira etapa da replicação do RNA genômico, que servirá de molde para novas fitas de RNA de polaridade positiva. Cópias de RNA viral são detectadas cerca de 3 horas após a infecção. A finalização do ciclo replicativo ocorre com a montagem das novas partículas virais próximo ao retículo endoplasmático, onde o nucleocapsídeo é envelopado. A transição até a membrana plasmática é realizada pelas vesículas que se fundem com a membrana celular, e a liberação de novas partículas virais ocorre principalmente por exocitose.

Figura 3: *Alphavirus*

1.2 FAMÍLIA TOGAVIRIDAE

Os togavírus são vírus de RNA de fita simples envelopados, com aparência esférica. Embora tenham sido inicialmente classificados com diversos grupos de vírus principalmente transmitidos por insetos, análises recentes os redefiniram como uma família distinta com dois gêneros: *Alphavirus* e *Rubivirus*.



Fonte: <https://stock.adobe.com/br/images/mayaro-virus-3d-illustration-mosquitoborne-virus-from-alphavirus-genus-togaviridae-family-emerging-virus-which-causes-mayaro-virus-disease/126014944>

O gênero *Alphavirus* (Figura 3) é o maior, com cerca de 40 membros, enquanto o gênero *Rubivirus* inclui apenas um membro, o vírus da rubéola.

Os alfavírus possuem aproximadamente 70 nm de diâmetro, apresentando um capsídeo icosaédrico e um genoma formado por RNA de fita simples linear com polaridade positiva, contendo cerca de 11 kb e codificando oito genes, tanto estruturais quanto não estruturais. Os membros do gênero *Alphavirus* são responsáveis por uma ampla gama de doenças em seres humanos e animais, com distribuição cosmopolita. As infecções humanas causadas por esses vírus exibem sintomas clínicos não específicos, semelhantes aos provocados por outros arbovírus. Portanto, um diagnóstico precoce e específico das infecções por alfavírus é crucial para determinar a conduta médica adequada e implementar medidas preventivas



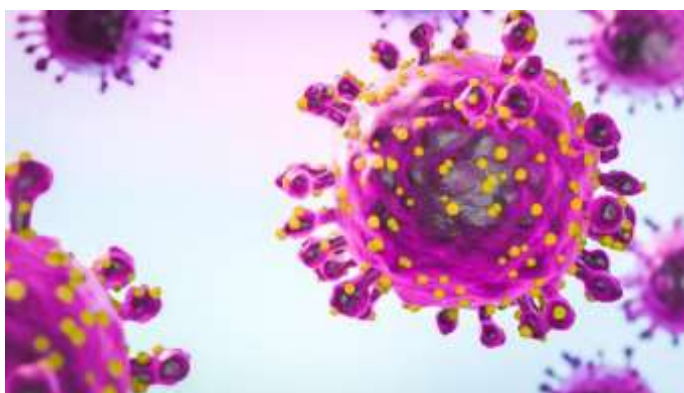
UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

eficazes. Destacam-se nesse grupo o vírus Mayaro (MAYV) e o vírus da Encefalite Equina do Leste (EEEV).

1.3 FAMÍLIA *BUNYAVIRIDAE*

A família *Bunyaviridae* foi oficialmente estabelecida em 1975 e atualmente inclui quatro gêneros de vírus que infectam animais (*Orthobunyavirus* (Figura 4), *Phlebovirus*, *Nairovirus* e *Hantavirus*) e um gênero de vírus que infectam plantas (*Tospovirus*). A maioria dos vírus desta família é transmitida por artrópodes, como mosquitos e carrapatos, com exceção dos hantavírus, que são transmitidos por aerossóis provenientes dos excrementos de roedores.

Figura 4: *Orthobunyavirus*



Fonte: <https://www.icc.fiocruz.br/pesquisas-da-fiocruz-parana-sao-destaque-no-enfrentamento-a-febre-oropouche-no-brasil/>

2. VÍRUS DENGUE

A Dengue faz parte do grupo de doenças conhecidas como arboviroses, caracterizadas por serem causadas por vírus transmitidos por vetores artrópodes. No Brasil, o vetor da dengue é a fêmea do mosquito *Aedes aegypti*, cujo nome significa "odioso do Egito". Os vírus da dengue (DENV) pertencem cientificamente à família *Flaviviridae* e ao gênero *Flavivirus*. Até o momento, são conhecidos quatro sorotipos – DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4 (Figura 5), cada um com diferentes materiais genéticos (genótipos) e linhagens.

As evidências indicam que o mosquito foi trazido para o Brasil em navios que partiam da África com escravos. A primeira epidemia documentada clínica e laboratorialmente no Brasil ocorreu em 1981-1982, em Boa Vista (RR), causada pelos sorotipos 1 e 4. Quatro anos depois, em 1986, houve

Figura 5: Sorotipos da Dengue



[suas-duvidas-sobre-a-dengue-e-o-aedes-no-brasil](#)



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

Fonte: <https://conhecadengue.com.br/noticia/verdadeiro-ou-falso-tire->



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

epidemias no estado do Rio de Janeiro e em algumas capitais do Nordeste.

Desde então, a dengue ocorre de maneira contínua (endêmica), com epidemias intercaladas, geralmente associadas à introdução de novos sorotipos em áreas sem transmissão (indenes) e/ou à mudança do sorotipo predominante, acompanhando a expansão do mosquito vetor.

Aspectos como a urbanização, o crescimento desordenado da população, o saneamento básico insuficiente e os fatores climáticos mantêm condições favoráveis para a presença do vetor, impactando a dinâmica de transmissão desses arbovírus. A dengue tem um padrão sazonal, com aumento do número de casos e maior risco de epidemias, principalmente entre os meses de outubro e maio do ano seguinte.

SINAIS E SINTOMAS

A dengue é uma doença febril aguda, sistêmica, dinâmica, debilitante e autolimitada. Embora a maioria dos pacientes se recupere, alguns podem desenvolver formas graves da doença, podendo levar ao óbito. A maioria dos óbitos por dengue pode ser evitada, dependendo, em grande parte, da qualidade da assistência prestada e da organização da rede de serviços de saúde.

Qualquer pessoa que apresente febre (39°C a 40°C) de início súbito e pelo menos dois dos seguintes sintomas - dor de cabeça, prostração, dores musculares e/ou articulares e dor atrás dos olhos - deve procurar imediatamente um serviço de saúde para receber tratamento adequado. No entanto, é importante estar atento após o período febril. Com o declínio da febre (entre o 3º e o 7º dia do início da doença), podem surgir sinais de alarme que indicam uma possível piora do quadro. Esses sinais refletem o extravasamento de plasma dos vasos sanguíneos e/ou hemorragias, sendo assim identificados:

- ✚ dor abdominal (dor na barriga) intensa e contínua;
- ✚ vômitos persistentes;
- ✚ acúmulo de líquidos em cavidades corporais (ascite, derrame pleural, derrame pericárdico);
- ✚ hipotensão postural e/ou lipotímia;





UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

- + letargia e/ou irritabilidade;
- + aumento do tamanho do fígado (hepatomegalia) > 2cm;
- + sangramento de mucosa; e
- + aumento progressivo do hematócrito.

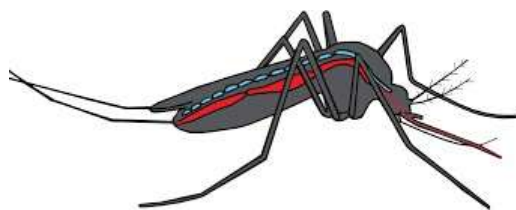
Após a fase crítica da dengue, o paciente entra na fase de recuperação. No entanto, a doença pode evoluir para formas graves, caracterizadas por extravasamento severo de plasma, hemorragias intensas ou comprometimento grave de órgãos, que podem levar ao óbito.

Todas as faixas etárias são igualmente suscetíveis à doença. No entanto, indivíduos com condições preexistentes, como mulheres grávidas, lactentes, crianças (até 2 anos) e pessoas com mais de 65 anos, têm maior risco de desenvolver complicações.

TRANSMISSÃO

O vírus da dengue (DENV) é transmitido principalmente por via vetorial, através da picada de fêmeas infectadas do mosquito *Aedes aegypti*, também chamados de artrópodes hematófagos (Figura 6). A transmissão vertical (de mãe para filho durante a gestação) e por transfusão de sangue são raras.

Figura 6: Mosquito *Aedes Aegypti*



Fonte:
https://publicacoeseducativas.butantan.gov.br/web/mosquito/pag es/pdf/89_Livro%20O%20FANT%C3%81STICO%20MUNDO %20DOS%20MOSQUITOS_internet.pdf

DIAGNÓSTICO

Não há necessidade de exames específicos para o tratamento da doença, pois este é baseado nas manifestações clínicas. No entanto, para apoiar o diagnóstico clínico, estão disponíveis técnicas laboratoriais para a identificação do vírus (até o 5º dia do início da doença) e para a detecção de anticorpos (a partir do 6º dia do início da doença).

PREVENÇÃO



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

Em 21 de dezembro de 2023, a vacina contra dengue foi incorporada ao Sistema Único de Saúde (SUS). A inclusão da vacina contra dengue é uma ferramenta importante para que a doença seja classificada como imunoprevenível. O Brasil é o primeiro país do mundo a oferecer o imunizante no sistema público de saúde.

Histórico: A vacina contra a dengue foi incorporada ao Calendário Nacional de Vacinação pela primeira vez em fevereiro de 2024. Devido à capacidade de produção laboratorial, a primeira campanha de vacinação atendeu 521 municípios distribuídos em 37 regiões de saúde do país. Embora a vacina contra a dengue esteja disponível, o controle do vetor *Aedes aegypti* continua sendo o principal método para a prevenção e controle da dengue e de outras arboviroses urbanas (como Chikungunya e Zika), seja através do manejo integrado de vetores ou da prevenção pessoal dentro dos domicílios.

É importante entender que, ao adotar medidas de controle do vetor após a introdução de um ou mais novos sorotipos do vírus da dengue, a possibilidade de interromper a transmissão é reduzida devido à alta densidade vetorial. Além disso, o tempo necessário para reduzir as populações de *Aedes aegypti* é muito maior do que a velocidade de circulação viral, já que nessas circunstâncias a população sob risco é composta por indivíduos suscetíveis. Quando a epidemia se instala, ela segue seu curso e as ações de controle vetorial têm pouca ou nenhuma efetividade. Muitas vezes, a redução do número de pessoas doentes ocorre "naturalmente" devido à imunidade de grupo que se estabelece, mais do que pelos resultados das ações de controle implementadas.

Portanto, em períodos fora da sazonalidade da doença é que ações preventivas precisam ser adotadas. É o momento ideal para manutenção de medidas que visem impedir epidemias futuras. Nesse sentido, além das ações realizada pelos agentes de saúde, a população deve realizar a sua parte:

- uso de telas nas janelas e repelentes em áreas de reconhecida transmissão;
- remoção de recipientes nos domicílios que possam se transformar em criadouros de mosquitos;
- vedação dos reservatórios e caixas de água;
- desobstrução de calhas, lajes e ralos;





UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

- participação na fiscalização das ações de prevenção e controle da dengue executadas pelo Sistema Único de Saúde (SUS).

TRATAMENTO

O tratamento é baseado principalmente na reposição de líquidos adequada. Por isso, conforme orientação médica, em casa deve-se realizar:

- Repouso;
- Ingestão de líquidos;
- Não se automedicar e procurar imediatamente o serviço de urgência em caso de sangramentos ou surgimento de pelo menos um sinal de alarme;
- Retorno conforme orientação médica.

3. ZIKA VÍRUS

O Zika é uma arbovirose causada pelo vírus Zika (ZIKV). O ZIKV foi isolado pela primeira vez em macacos na floresta Zika de Kampala, Uganda, em 1947. O primeiro isolamento humano do ZIKV foi relatado na Nigéria em 1953. Desde então, o ZIKV expandiu sua abrangência geográfica para vários países da África, Ásia, Oceania e Américas.

A maioria das infecções pelo ZIKV é assintomática ou se apresenta como uma doença febril autolimitada, semelhante às infecções por Chikungunya e Dengue. No entanto, a infecção pelo ZIKV foi associada a complicações neurológicas, como microcefalia congênita e síndrome de Guillain-Barré, demonstradas por estudos realizados durante surtos da doença no Brasil e na Polinésia Francesa.

Importante: Todos os sexos e faixas etárias são igualmente suscetíveis ao vírus Zika. No entanto, mulheres grávidas e pessoas acima de 60 anos têm maior risco de desenvolver complicações. Esses riscos aumentam ainda mais em pessoas com comorbidades.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

SINAIS E SINTOMAS

A infecção pelo vírus Zika pode ser assintomática ou sintomática. Quando sintomática, pode apresentar um quadro clínico variável, desde manifestações leves e autolimitadas até complicações neurológicas e malformações congênitas. Estudos recentes indicam que mais de 50% dos pacientes infectados pelo Zika apresentam sintomas. O período de incubação da doença varia de 2 a 7 dias.

Manifestações mais comuns:

- Febre baixa ($\leq 38,5$ °C) ou ausente;
- Exantema (Figura 7), geralmente pruriginoso e maculopapular craniocaudal, de início precoce;
- Conjuntivite não purulenta (Figura 8);
- Cefaleia, artralgia, astenia e mialgia;
- Edema periarticular, linfonodomegalia.

Figura 7: Manifestação exantemática no Zika Vírus



Fonte: <https://vivamelhoronline.com/2015/05/21/zika-virus-perguntas-e-respostas/>

Figura 8: Conjuntivite não purulenta no Zika Vírus



Fonte: <https://www.portalped.com.br/especialidades-da-pediatria/infectologia/zika-virus-quando->

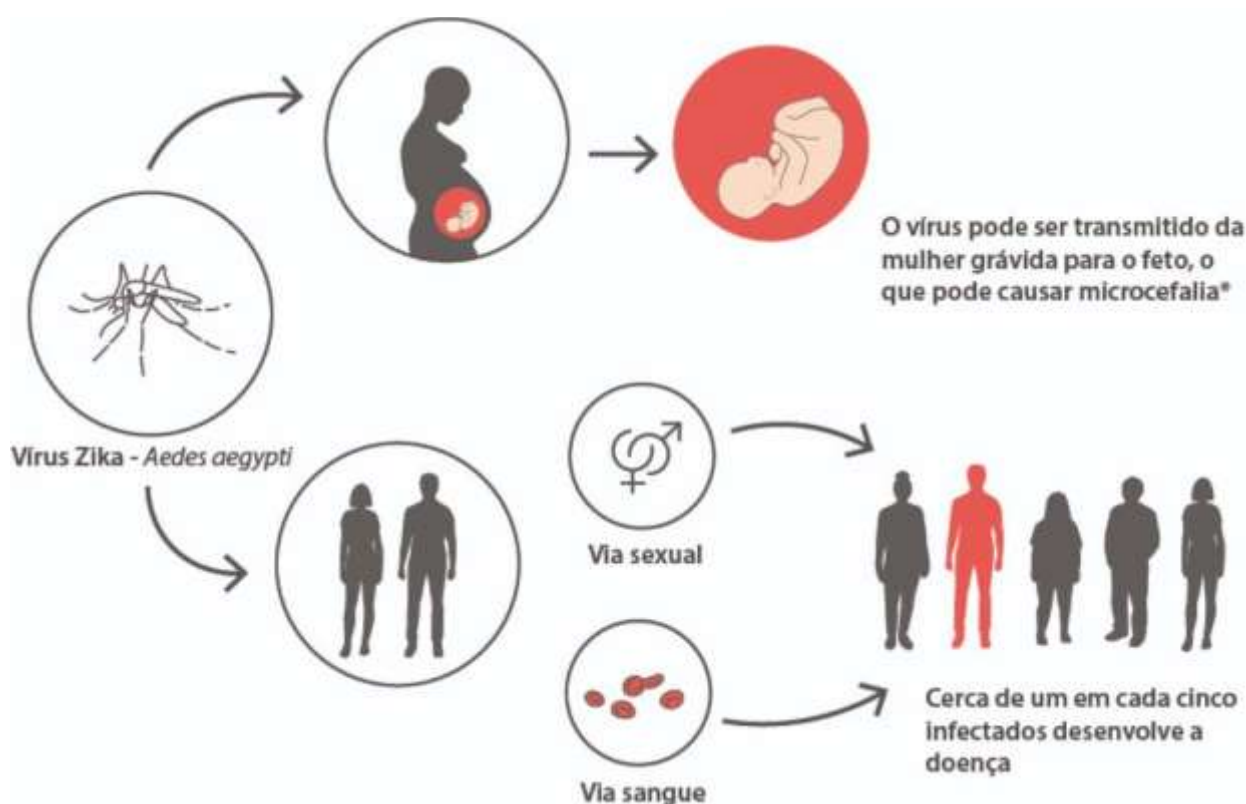
Além da manifestação clínica exantemática febril leve da infecção pelo ZIKV, o prurido é um sintoma importante durante o período agudo, podendo afetar as atividades cotidianas e o sono. Duas complicações neurológicas graves relacionadas ao ZIKV foram identificadas: Síndrome de Guillain-Barré, uma condição rara em que o sistema imunológico ataca os nervos periféricos, e microcefalia, a manifestação mais grave, de um espectro de defeitos congênitos. Gestantes infectadas podem transmitir



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

o vírus ao feto, e essa forma de transmissão (Figura 9), pode resultar em aborto espontâneo, óbito fetal ou malformações congênicas, como a microcefalia. Deve-se ficar atento ao aparecimento de outros quadros neurológicos, como encefalites, mielites e neurite óptica, entre outros.

Figura 9: Formas de transmissão do Zika vírus



Fonte: <https://linhasdecuidado.saude.gov.br/portal/zika/definicao/>

SÍNDROME CONGÊNITA DO ZIKA VÍRUS

Uma gestante infectada, sintomática ou assintomática, pode transmitir o vírus para o feto durante todo o período gestacional, resultando em diversas anomalias congênicas — especialmente a microcefalia —, alterações do Sistema Nervoso Central e outras complicações neurológicas que, juntas, formam a Síndrome Congênita do vírus Zika (SCZ). Crianças com SCZ tendem a apresentar uma ampla gama de deficiências intelectuais, físicas e sensoriais ao longo de toda a vida.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

Em 2015, devido ao aumento de nascimentos com microcefalia associada à infecção pelo vírus Zika, foi declarado no Brasil o estado de Emergência em Saúde Pública de Importância Nacional. Para melhorar a assistência às crianças durante o período de emergência, foi implementada no país a vigilância da Síndrome Congênita do Vírus Zika e de outras etiologias infecciosas como sífilis, toxoplasmose, rubéola, citomegalovírus e herpes simples. Esta vigilância visa identificar complicações relacionadas à infecção pelo vírus Zika e outras etiologias durante o pré-natal, parto, pós-parto e puericultura nos primeiros anos de vida, além de fornecer informações atualizadas para orientar políticas de cuidado adequado às crianças com alterações no crescimento e desenvolvimento, independentemente da etiologia.

DIAGNÓSTICO

O diagnóstico do vírus Zika é clínico e realizado por um médico, sendo confirmado por exames laboratoriais de sorologia e biologia molecular, todos disponíveis no Sistema Único de Saúde (SUS). Recém-nascidos com suspeita de comprometimento neurológico necessitam de exames de imagem, como ultrassom, tomografia ou ressonância magnética. Em caso de confirmação da infecção por Zika, a notificação deve ser feita ao Ministério da Saúde em até 24 horas. O diagnóstico laboratorial específico do ZIKV pode ser realizado por métodos diretos, como o isolamento viral e a pesquisa do genoma viral por transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR), e métodos indiretos, que consistem na identificação da presença de anticorpos virais.

Em casos de óbito suspeito de infecção pelo ZIKV, recomenda-se realizar um estudo anatomopatológico seguido de pesquisa de antígenos virais por imuno-histoquímica (IHQ). Devido à semelhança entre alguns sinais e sintomas da infecção pelo ZIKV e os da Dengue e Chikungunya, recomenda-se iniciar a testagem por métodos diretos quando a suspeita inicial for Zika. Amostras de urina podem ser utilizadas para confirmar a infecção viral até o 15º dia do início dos sintomas.

Importante: Em um cenário de cocirculação de DENV, ZIKV e CHIKV, como pode ocorrer em muitos municípios no Brasil, é essencial, sempre que possível, a investigação por métodos diretos para a detecção desses vírus. No que diz respeito ao diagnóstico sorológico, existe a possibilidade de reação cruzada entre o ZIKV e o DENV pela sorologia IgM.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

Dessa forma, recomenda-se que as amostras sejam testadas em paralelo para as duas doenças, a fim de reduzir o número de falso-positivos. As amostras negativas para Zika e dengue devem ser subsequentemente testadas para Chikungunya.

TRATAMENTO

Por hora, ainda não existe antiviral disponível para tratamento específico da infecção pelo vírus Zika. Para os quadros sintomáticos, aplicam-se as principais medidas:

- Repouso relativo, enquanto durar a febre;
- Estímulo à ingestão de líquidos;
- Administração de paracetamol ou dipirona em caso de dor ou febre;
- Não administração de ácido acetilsalicílico;
- Administração de anti-histamínicos;
- Recomendação ao paciente para que retorne imediatamente ao serviço de saúde, em casos de sensação de formigamento de membros ou alterações do nível de consciência (para investigação de Síndrome Guillan-Barré e de outros quadros neurológicos);
- Diante da queixa de alteração visual, encaminhamento ao oftalmologista para avaliação e tratamento.



Importante: Gestantes com suspeita de Zika devem ser acompanhadas conforme protocolos vigentes para o pré-natal, desenvolvidos pelo Ministério da Saúde do Brasil.

PREVENÇÃO

Atualmente, não há vacinas ou terapias específicas viáveis disponíveis para o ZIKV. Assim, o controle do vetor continua sendo o principal método para a prevenção e controle de doenças transmitidas



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

por mosquitos, como o Zika. Seja pelo manejo integrado de vetores ou pela prevenção pessoal, é necessário reduzir a infestação de mosquitos eliminando criadouros sempre que possível, ou mantendo reservatórios e locais que possam acumular água cobertos com telas, capas ou tampas, impedindo o acesso do mosquito *Aedes aegypti*.

Viajantes e residentes em áreas de transmissão devem adotar medidas de proteção individual para evitar picadas de mosquitos. É essencial proteger-se contra picadas ao longo do dia, pois o *Aedes aegypti* tem maior atividade diurna. Recomenda-se as seguintes medidas de proteção individual:

- Proteger as áreas do corpo que o mosquito possa picar, com o uso de calças e camisas de mangas compridas;
- Usar repelentes à base de DEET (N-N-dietilmetatoluamida), IR3535 ou Icaridina nas partes expostas do corpo, podendo também ser aplicados sobre as roupas. O uso deve seguir as indicações do fabricante quanto à faixa etária e frequência de aplicação, e é importante verificar o registro em órgão competente. Repelentes contendo DEET, IR3535 ou Icaridina são seguros para uso durante a gravidez, quando usados conforme as instruções do fabricante. Em crianças menores de 2 anos, o uso de repelente não é recomendado sem orientação médica. Para crianças entre 2 e 12 anos, usar concentrações de até 10% de DEET, no máximo 3 vezes ao dia.
- A utilização de mosquiteiros sobre a cama, uso de telas em portas e janelas e, quando disponível, ar-condicionado.

4. VÍRUS CHIKUNGUNYA

A Chikungunya é uma arbovirose cujo agente etiológico é transmitido pela picada de fêmeas infectadas do gênero *Aedes*. No Brasil, até o momento, o vetor envolvido na transmissão do vírus Chikungunya (CHIKV) é o *Aedes aegypti*. O CHIKV foi introduzido no continente americano em 2013, ocasionando uma epidemia significativa em diversos países da América Central e ilhas do Caribe. No segundo semestre de 2014, o Brasil confirmou, por métodos laboratoriais, a presença da doença nos estados do Amapá e Bahia. Atualmente, todos os estados registram transmissão desse arbovírus.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

Em 2023, houve uma importante dispersão territorial do vírus Chikungunya no Brasil, especialmente para os estados da Região Sudeste. Antes disso, as maiores incidências de Chikungunya no Brasil estavam concentradas na Região Nordeste. As principais características clínicas da infecção são edema e dor articular incapacitante, podendo também ocorrer manifestações extra-articulares. Os casos graves de Chikungunya podem necessitar de internação hospitalar e evoluir para óbito.

O vírus chikungunya também pode causar doença neuroinvasiva, caracterizada por agravos neurológicos, como encefalite, mielite, meningoencefalite, síndrome de Guillain-Barré, síndrome cerebelar, paresias, paralisias e neuropatias.

SINTOMAS:

- Febre
- Dores intensas nas articulações
- Edema nas articulações (geralmente as mesmas afetadas pela dor intensa) (Figura 11)
- Dor nas costas
- Dores musculares
- Manchas vermelhas pelo corpo – Rash cutâneo (Figura 10)
- Prurido (coceira) na pele, que pode ser generalizada, ou localizada apenas nas palmas das mãos e plantas dos pés
- Dor de cabeça
- Dor atrás dos olhos
- Conjuntivite não-purulenta

Figura 10: Rash cutâneo na Chikungunya



Figura 11: Edema resultante de inflamação articular



Fonte: <https://pt.wikipedia.org/wiki/Chicungunha>



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

- Náuseas e vômitos
- Dor de garganta
- Calafrios
- Diarreia e/ou dor abdominal (manifestações do trato gastrointestinal são mais presentes em crianças)

Destaca-se que a doença pode evoluir em três fases:

1. Febril ou aguda: tem duração de 5 a 14 dias
2. Pós-aguda: tem um curso de 15 a 90 dias
3. Crônica: Se os sintomas persistirem por mais de 90 dias após o início dos sintomas, considera-se instalada a fase crônica. Em mais de 50% dos casos, a artralgia (dor nas articulações) torna-se crônica, podendo persistir por anos.

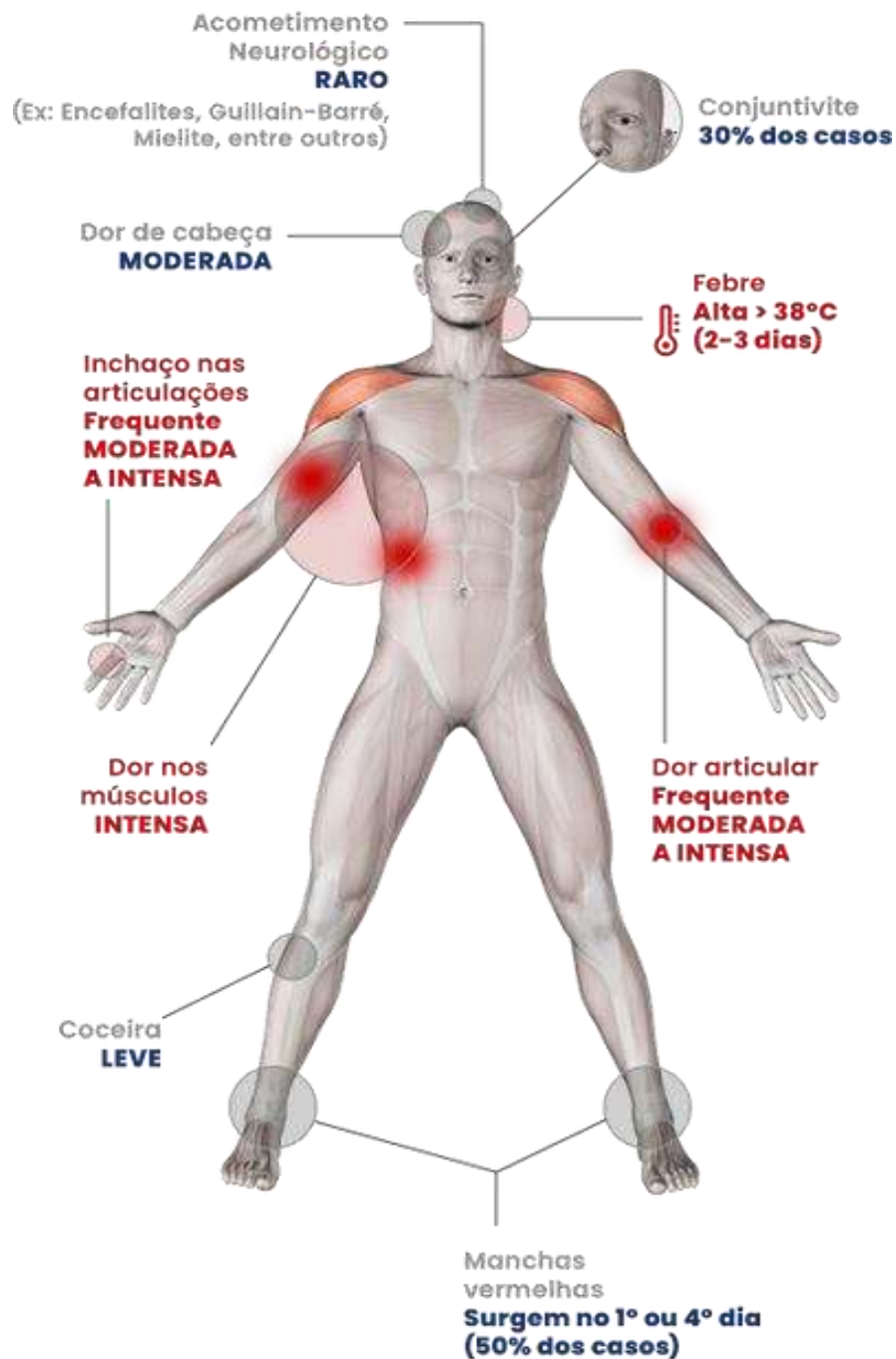
Importante: É possível que se desenvolva manifestações extra articulares, ou sistêmicas: no sistema nervoso, cardiovascular, pele, rins e outros (Figura 12).





UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

Figura 12: Manifestações sistemática de Sinais e Sintomas na Chikungunya





UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

TRANSMISSÃO VERTICAL

Casos de transmissão vertical do CHIKV ocorrem quase exclusivamente durante o parto de gestantes virêmicas e, quando ocorrem, resultam em infecção neonatal grave.

DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da Chikungunya envolve componentes clínicos e laboratoriais e deve ser feito por um médico. Todos os exames laboratoriais para acompanhamento do quadro clínico, bem como os testes diagnósticos (sorológicos e moleculares), estão disponíveis no Sistema Único de Saúde (SUS). Em caso de suspeita da doença, a notificação deve ser realizada e digitada no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN Online) em até 7 dias. Em caso de óbitos, a notificação deve ser feita ao Ministério da Saúde em até 24 horas.

CASO SUSPEITO



Indivíduo que apresentar febre de início súbito, acompanhada de artralgia ou artrite intensa (dor nas articulações) de início agudo, não explicada por outras condições, que resida em áreas com transmissão ou tenha visitado essas áreas até duas semanas antes do início dos sintomas, ou que tenha vínculo epidemiológico com caso confirmado.

CASO CONFIRMADO



Um caso suspeito é confirmado por critério laboratorial ou clínico-epidemiológico. Um caso confirmado por critério laboratorial é aquele que obteve resultado laboratorial positivo por isolamento viral, ou detecção de RNA viral por RT-PCR (em amostra coletada até o 8º dia de início dos sintomas), ou detecção de anticorpos IgM em uma única amostra de soro durante a fase aguda (a partir do 6º dia de início dos sintomas) ou convalescente (15 dias após o início dos sintomas), demonstração de soroconversão entre as amostras na fase aguda (1ª amostra) e convalescente (2ª amostra), ou detecção de anticorpos IgG em amostras coletadas de pacientes na fase crônica da doença, com clínica sugestiva. Um



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

caso confirmado por critério clínico-epidemiológico é aquele que atende à definição de caso suspeito e que tenha vínculo familiar ou espaço-temporal (vínculo epidemiológico) com caso confirmado laboratorialmente.

TRATAMENTO

O tratamento da Chikungunya é baseado nos sintomas apresentados. Até o momento, não há tratamento antiviral específico para a doença, sendo a terapia utilizada focada em analgesia e suporte. É essencial estimular a hidratação oral dos pacientes, e a escolha dos medicamentos deve ser feita após a avaliação do quadro clínico, utilizando escalas de dor apropriadas para cada idade e fase da doença.

Em casos de comprometimento musculoesquelético significativo, a fisioterapia pode ser recomendada após avaliação médica individualizada.

Atenção: Se houver suspeita ou surgimento de qualquer sintoma, é fundamental procurar um profissional de saúde para um diagnóstico correto e prescrição adequada de medicamentos, evitando sempre a automedicação.

Os tratamentos são oferecidos integralmente e de forma gratuita através do SUS. A automedicação pode mascarar sintomas, dificultar o diagnóstico e agravar o quadro do paciente. Somente um médico pode prescrever medicamentos.

NOTIFICAÇÕES

De acordo com a Portaria de Consolidação nº 4, de 28 de setembro de 2017, a Chikungunya é uma doença de notificação compulsória. Isso significa que todos os casos suspeitos e/ou confirmados devem ser obrigatoriamente notificados ao Serviço de Vigilância Epidemiológica da Secretaria Municipal de Saúde (SMS). As notificações de casos suspeitos devem ser registradas na Ficha de Notificação e inseridas no SINAN.

Os óbitos suspeitos são de notificação compulsória imediata para todas as esferas de SUS, devendo ser realizadas em até 24 horas a partir do conhecimento, pelo meio de comunicação mais rápido disponível. Posteriormente, os dados também devem ser inseridos no SINAN. A vigilância epidemiológica deve iniciar imediatamente a investigação do óbito e informar o caso à equipe de controle



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

vetorial local e ao gestor municipal de saúde, para a adoção das medidas necessárias ao combate ao mosquito vetor e outras ações. A investigação deve seguir as diretrizes disponíveis no “Protocolo de Investigação de Óbitos por Arbovírus Urbanos no Brasil”, disponível no link: <https://www.saude.ba.gov.br/wp-content/uploads/2022/11/Protocolo-Tecnico-INVESTIGACAO-OBITO-ARBOVIRUS.pdf>.

PREVENÇÃO

Assim como para a Dengue, Zika e Febre Amarela, é fundamental que as pessoas reforcem as medidas de eliminação dos criadouros do mosquito *Aedes aegypti* em suas casas, locais de trabalho e na vizinhança.

A melhor e mais eficaz prevenção é evitar a proliferação do mosquito, eliminando a água armazenada que pode se tornar criadouro, como em vasos de plantas, pneus, garrafas plásticas, piscinas sem uso e sem manutenção, e até mesmo em recipientes pequenos, como tampas de garrafas (Figura 13).

Recomenda-se as seguintes medidas de proteção individual:

- Proteger as áreas do corpo que o mosquito possa picar, com o uso de calças e camisas de mangas compridas.
- Usar repelentes à base de DEET (N-N-dietilmetatoluamida), IR3535 ou Icaridina nas partes expostas do corpo, podendo também ser aplicados sobre as roupas. O uso deve seguir as indicações do fabricante em relação à faixa etária e à frequência de aplicação, e é importante verificar o registro em órgão competente. Repelentes contendo DEET, IR3535 ou Icaridina são seguros para uso durante a gravidez, quando usados conforme as instruções do fabricante. Em crianças menores de 2 anos, o uso de repelente não é recomendado sem orientação médica. Para crianças entre 2 e 12 anos, usar concentrações de até 10% de DEET, no máximo 3 vezes ao dia.
- A utilização de mosquiteiros sobre a cama, uso de telas em portas e janelas e, quando disponível, ar-condicionado.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

Figura 13: Formas de combate ao mosquito *Aedes Aegypti*



Fonte: <https://videira.ifc.edu.br/blog/2016/03/11/acoes-de-combate-ao-aedes-aegypti-continuam-no-ifc-videira/>



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

Figura 14: Comparativo de sinais e sintomas da Dengue, Zika e Chikungunya

Sinais/Sintomas	dengue	zika	chikungunya
Febre (duração)	Acima de 38°C (4 a 7 dias)	sem febre ou subfebril <38°C (1 - 2 dias)	Febre Alta >38°C (2 - 3 dias)
Manchas na Pele (Frequência)	Surge a partir do quarto dia 30% - 50% dos casos	sem febre ou subfebril <38°C (1 - 2 dias)	Febre Alta >38°C (2 - 3 dias)
Dor nos músculos (frequência)	+++ / +++	++ / +++	+ / +++
Dor na articulação (frequência)	+ / +++	++ / +++	+++ / +++
Dor na articulação (frequência)	+ / +++	++ / +++	+++ / +++
Intensidade da dor na articular	Leve	Leve / Moderada	Moderada / Intensa
Edema da articulação	Raro	Frequente e leve intensidade	Frequente e de moderada a intenso
Conjuntivite	Raro	50-90% dos casos	30%
Cefaleia (Frequência e intensidade)	+++	++	++
Prurido	Leve	Moderada / Intensa	Leve
Hipertrofia ganglionar (frequência)	Leve	Intensa	Moderada
Discrasia hemorrágica (frequência)	Moderada	ausente	Leve
Acometimento Neurológico	Raro	Mais frequente que Dengue e Chikungunya	Raro (predominante em Neonatos)

Fonte: <https://agencia.fiocruz.br/zika-chikungunya-e-dengue-entenda-diferencas>



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

5. VÍRUS MAYARO

O vírus Mayaro (MAYV) foi isolado pela primeira vez em 1954, de trabalhadores florestais febris em Trinidad, e, posteriormente, de vários indivíduos com febre e dor de cabeça frontal na área do Rio Guamá, Estado do Pará, Brasil. Desde então, a presença do vírus foi relatada no norte da América do Sul e na bacia do rio Amazonas. O MAYV (Figura 15) tem sido responsável por surtos de doença febril aguda e síndrome de artralgia na região Amazônica e no Planalto Central do Brasil, bem como em outros países da América do Sul (Peru, Bolívia e Venezuela). Em 1999, foram identificados pela primeira vez no Estado do Amazonas casos de doença febril causada pelo vírus, e entre os anos de 2007 e 2008, foram identificados 33 casos semelhantes na cidade de Manaus.

Figura 15: Vírus Mayaro



Fonte: <https://revistagalileu.globo.com/Ciencia/noticia/2021/05/o-que-e-o-virus-mayaro-o-primeiro-cuja-estrutura-foi-revelada-no-brasil.html>

Recentemente, foi demonstrada a presença de anticorpos neutralizantes contra o MAYV e o vírus Oropouche (OROV) em soro de primatas de vida livre capturados no Estado do Mato Grosso do Sul, sugerindo a circulação desses vírus na região. Casos humanos são esporádicos e ocorrem principalmente em pessoas provenientes de florestas tropicais úmidas. Os principais vetores são mosquitos do gênero *Haemagogus*, que habitam florestas, e os hospedeiros vertebrados são mamíferos. Existem também algumas evidências de infecção de aves no sul do Brasil.

SINAIS E SINTOMAS

O curso da doença, que dura de três a cinco dias, é caracterizado por febre, cefaleia, mialgia, erupção cutânea e dor, principalmente nas grandes articulações, e, com menos frequência, artrite. A convalescença da febre pelo vírus Mayaro normalmente leva duas semanas.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

TRANSMISSÃO

Embora o vírus MAYV seja transmitido por mosquitos *Aedes*, ele também pode se espalhar para as áreas urbanas através de aves infectadas ou humanos (Figura 16). Recentemente, três casos de pescadores infectados pelo vírus foram relatados no Estado de São Paulo, sugerindo que o vírus pode se adaptar a um novo ciclo, envolvendo o homem como reservatório. A transmissão aérea, possivelmente responsável por infecções acidentais em laboratório, pode ser uma via de transmissão natural, facilitando a disseminação do vírus e ocasionando surtos. A doença febril causada pelo vírus MAYV ocorre ao longo de todo o ano, com maior incidência durante o período chuvoso, similar à dengue. A infecção afeta pessoas de ambos os sexos e de todas as idades, provavelmente picadas por mosquitos *Haemagogus* silvestres.

Figura 16: Formas de transmissão do Vírus Mayaro



Fonte: <https://pantheon.ufrj.br/bitstream/11422/21797/1/NACCarraio.pdf>

6. FEBRE DE OROPOUCHE

O vírus Oropouche, pertencente ao gênero *Orthobunyavirus*, é transmitido entre preguiças, marsupiais, primatas e aves pelos mosquitos *Aedes serratus* e *Culex quinquefasciatus*. Notavelmente, esse vírus adaptou-se a um ciclo urbano, envolvendo humanos, com os mosquitos *Culicoides paraensis* (Figura 17) como principais vetores. Há três sorotipos descritos, designados como I, II e III.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

Estudos filogenéticos indicam que os diferentes sorotipos do vírus Oropouche (OROV) estão presentes em várias áreas geográficas. O sorotipo I inclui a cepa O sorotipo III inclui o vírus isolado no Panamá em 1989. O OROV causou grandes surtos de doença febril aguda em cidades e aldeias da Região Amazônica e Central do Brasil. Estima-se que 500 mil casos de infecção pelo OROV ocorreram no Brasil nos últimos 48 anos. Além de surtos, o OROV também pode causar infecções humanas esporádicas.

Desde o isolamento original do vírus Oropouche (OROV) de um paciente febril em Trinidad, na década de 1950, a importância médica do vírus, particularmente nas regiões da bacia amazônica do norte do Brasil e Peru, tornou-se cada vez mais evidente. Os sítios epidêmicos do OROV estão restritos às áreas tropicais da América Central e do Sul, especialmente na bacia amazônica. De 1961 a 1980, o vírus foi relatado no norte do Estado do Pará, com as epidemias mais importantes ocorrendo em Belém. Em outras regiões do Estado, centenas de milhares de pessoas foram afetadas.

Figura 17: Mosquito *Culicoides paraensis*



Fonte: <https://agenciapara.com.br/noticia/51819/para-inicia-vigilancia-epidemiologica-para-prevenir-a->

De 1980 a 2004, o vírus espalhou-se para outros cinco estados do norte brasileiro (Amazonas, Amapá, Acre, Rondônia e Tocantins) e para um estado da Região Nordeste (Maranhão), indicando um perigoso potencial de epidemia em um curto período de tempo.

Em 2000, uma cepa do vírus Oropouche (OROV) foi isolada de um novo hospedeiro, o macaco (*Callithrix* sp.), na região de Arinos, Estado de Minas Gerais, sudeste do Brasil. Em um estudo realizado em 2004, no Estado do Acre, foram diagnosticados seis casos de OROV entre 357 amostras analisadas. Como nenhuma dessas pessoas havia sido exposta a surtos de OROV no Estado ou em outros locais, os resultados sugerem a circulação esporádica do vírus nessa área. Em 2006, aproximadamente 110 casos de OROV foram relatados em sete municípios da região Bragantina, no Pará. Entre 2008 e 2009, foram identificados mais de 100 casos em Manaus, Estado do Amazonas, sendo que estes provavelmente representam apenas uma pequena parte dos casos. Nesses episódios, a doença febril manifestou-se com fenômenos hemorrágicos, como petéquias, epistaxe e sangramento gengival, sem envolvimento do sistema nervoso central.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

Em outro estudo realizado em Manaus, foram identificadas três amostras positivas entre 110 amostras de líquido cefalorraquidiano analisadas, atribuindo-se ao vírus a causa da doença do sistema nervoso central. O OROV é o segundo arbovírus mais frequente causador de doença febril no Brasil. Apesar disso, pouco se sabe sobre a patogênese da infecção. Infecções experimentais foram realizadas em *hamsters* dourados, demonstrando que aproximadamente metade dos animais desenvolveu doença caracterizada por letargia, calafrios, tremores e paralisia. Cerca de um terço dos *hamsters* estudados foram a óbito, apresentando altos títulos virais no sangue, fígado e cérebro.

Apesar do conhecimento significativo sobre a ocorrência de diversos arbovírus na Região Amazônica, muitos casos, presumivelmente arboviroses, permanecem sem diagnóstico devido às suas manifestações clínicas geralmente leves e autolimitadas. Os pacientes geralmente se recuperam completamente após alguns dias. No entanto, casos mais graves podem não ser diagnosticados, especialmente devido às longas distâncias até instalações de serviços de saúde, dificuldades no transporte de amostras e a falta de laboratórios capazes de realizar os ensaios diagnósticos. No que diz respeito às infecções por OROV, o diagnóstico pode ser facilmente confundido com outras doenças febris agudas, incluindo a malária e a dengue, ambas endêmicas na região.

7. DIAGNÓSTICO

ORIENTAÇÕES PARA PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS DE DENGUE

O diagnóstico laboratorial específico para pacientes com suspeita de dengue é recomendado de acordo com a situação epidemiológica de cada área. Independentemente do teste realizado, a amostra deve ser enviada acompanhada de uma via da Ficha Epidemiológica (Notificação/Investigação, modelo Sinan Online), devidamente preenchida e incluída no Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL).

A seguir, estão descritos os exames laboratoriais específicos disponíveis, suas respectivas interpretações e os procedimentos para coleta, conservação, armazenamento e transporte dos espécimes biológicos.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

EXAMES ESPECÍFICOS

- O isolamento viral: método mais específico (padrão-ouro) e permite a identificação do sorotipo do vírus (DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4) responsável pela infecção. Pode ser realizado em amostras de sangue, líquido cefalorraquidiano (LCR) e fragmentos de vísceras. A amostra de sangue deve ser coletada na primeira semana da doença, durante o período de viremia, preferencialmente até o quinto dia após o início dos sintomas. Para a identificação viral, utiliza-se a técnica de imunofluorescência, que se baseia na reação de um anticorpo marcado com um fluorocromo (anticorpos fluorescentes) com seu antígeno homólogo. A coleta de espécimes biológicos para tentativa de isolamento viral deve ser orientada pela vigilância epidemiológica, respeitando a capacidade dos laboratórios. O sucesso desse método depende da preservação da amostra clínica, recomendando-se mantê-la sob baixas temperaturas (-70°C).
- A detecção do genoma viral pelo método de reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa (RT-PCR): pode ser realizada em amostras de sangue, soro, líquido cefalorraquidiano (LCR) e fragmentos de vísceras (fígado, baço, linfonodos, coração, pulmão, rim e cérebro). Essa técnica permite a detecção de ácido nucleico viral nas amostras biológicas, através da amplificação do c-DNA obtido a partir do RNA viral, utilizando iniciadores específicos dos sorotipos do DENV. A alta sensibilidade e especificidade, juntamente com a capacidade de detectar quantidades mínimas de material genético em amostras de pacientes, fazem do RT-PCR um método eficaz para diagnóstico na fase inicial da infecção por DENV. Assim como na técnica anterior, é ideal que as amostras clínicas sejam coletadas no período de viremia e mantidas em baixas temperaturas (-70°C).
- Deteção da proteína NS1 do vírus (antígeno): a NS1 (Figura 18) é um importante marcador de viremia presente no soro de pacientes infectados pelo vírus dengue (DENV) durante a fase inicial da doença. Esse teste apresenta sensibilidade variável conforme o sorotipo, sendo útil na detecção precoce (durante os primeiros dias de febre).



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

Figura 18: Detecção de proteína NS1 – exame utilizado na fase virêmica para detecção da Dengue



Fonte: <https://controllab.com/programa/dengue-ns1/>

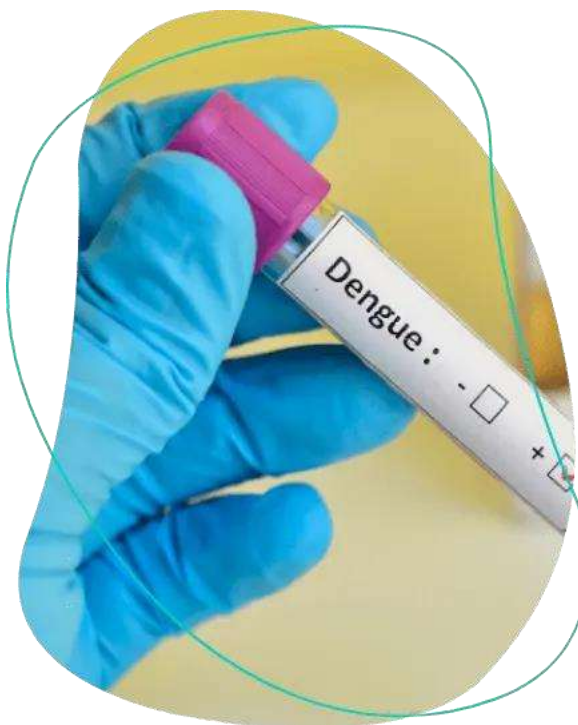
• Pesquisa de anticorpos (sorologia): a captura de IgM por ELISA (MAC ELISA) é o método de escolha, pois detecta infecções recentes. Esse método baseia-se na detecção de anticorpos IgM contra o DENV. Na maioria dos casos, apenas uma amostra de soro é necessária para a confirmação diagnóstica, devendo ser coletada a partir do sexto dia de início dos sintomas. No entanto, um resultado negativo em uma amostra de soro não exclui o diagnóstico de dengue, uma vez que, em alguns casos, os níveis de IgM podem não ser detectáveis pelo teste, sendo necessária a coleta de uma segunda amostra para esclarecimento diagnóstico. Nas primoinfecções, os níveis de anticorpos IgM são mais elevados comparados aos presentes nas infecções secundárias. Deve-se considerar a possibilidade de reação cruzada com Zika, seguindo as recomendações e interpretações estabelecidas nos tópicos de confirmação laboratorial de dengue e Zika já citadas neste documento. Outras técnicas também podem ser utilizadas no diagnóstico sorológico de dengue, incluindo a pesquisa de anticorpos IgG (ELISA), Teste de Neutralização por Redução de Placas (PRNT) e o teste de inibição de hemaglutinação (IH), que exigem amostras de soro pareadas (fase aguda e convalescente recente) de casos suspeitos.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE



• Diagnóstico histopatológico seguido de pesquisa de antígenos virais por imuno-histoquímica: é realizado em material obtido após a morte do paciente. As lesões anatomopatológicas podem ser encontradas no fígado, baço, coração, linfonodos, rins, pulmões e cérebro. O diagnóstico é presuntivo. A imuno-histoquímica permite a detecção de antígenos virais em cortes de tecidos fixados em formalina e emblocados em parafina, utilizando micropolímeros conjugados a enzimas. É um exame confirmatório, no entanto, em áreas de cocirculação de DENV e ZIKV, é necessário realizar diagnóstico diferencial para ambos os agentes, devido à possibilidade de reação cruzada.





UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

ORIENTAÇÕES PARA PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS DE CHIKUNGUNYA

O diagnóstico laboratorial específico para pacientes com suspeita de chikungunya é recomendado conforme a situação epidemiológica de cada área. Independentemente do teste realizado, a amostra deve ser enviada acompanhada de uma via da Ficha Epidemiológica (Notificação/Investigação, modelo Sinan), devidamente preenchida e incluída no Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL).

A seguir, estão descritos os exames laboratoriais específicos disponíveis, suas respectivas interpretações e os procedimentos para coleta, conservação, armazenamento e transporte dos espécimes biológicos.

EXAMES ESPECÍFICOS

- Isolamento viral: a tentativa de isolamento do vírus pode ser realizada em amostras na fase aguda (até o quinto dia de início dos sintomas) de soro, sangue total e líquido cefalorraquidiano (LCR) em casos de meningoencefalite. O isolamento do CHIKV deve ser confirmado por imunofluorescência indireta (IFI), utilizando antissoro específico para CHIKV ou por RT-PCR do sobrenadante de cultura ou de suspensão de cérebro de camundongos recém-nascidos.
- Detecção do genoma viral pelo método da transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR): semelhante ao isolamento do vírus, a amostra utilizada pode ser de sangue total, soro, líquido cefalorraquidiano (LCR) ou fragmentos de vísceras. Deve-se obedecer aos mesmos cuidados com a coleta, armazenamento e transporte recomendados para o isolamento viral.
- Pesquisa de anticorpos (sorologia): para o diagnóstico sorológico, o soro obtido a partir de sangue total será processado por meio da técnica de ensaio imunoenzimático (ELISA). Não se deve congelar o sangue total, pois a hemólise pode interferir no resultado do teste de sorologia. As amostras devem ser coletadas em duas fases diferentes:





UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

aguda (a partir do sexto dia do início dos sintomas) e convalescente (após 15 dias da primeira coleta).

Deve-se coletar cerca de 5 mL em crianças e 10 mL em adultos, de sangue sem anticoagulante, utilizando seringa estéril descartável ou tubo a vácuo com gel separador.

Posteriormente, deve-se realizar a separação do soro sanguíneo, acondicionando-o em tubos estéreis de plástico resistente, com tampa de rosca. Para armazenamento e conservação da amostra, utilizar tubo plástico estéril com tampa de rosca e anel de vedação. Rotular o tubo com o nome/número do paciente, data da coleta, número de protocolo em ordem numérica, nome da unidade de saúde e tipo de amostra. Conservar entre 2°C e 8°C por até 48 horas; a -20°C por até 7 dias; após este período, manter a -70°C.

ORIENTAÇÕES PARA PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS DE ZIKA

A coleta de amostra e a escolha da técnica para realização de exames específicos variam conforme espécime biológica e tempo de início de sintomas. Para realização de isolamento viral ou RT-PCR, recomenda-se:

- Soro: 5 mL (crianças) e 10 mL (adultos) até o quinto dia de início dos primeiros sintomas (fase aguda).
- Urina: 10 mL até 15 dias após o início dos sintomas.
- Para sorologia IgM, deverão ser colhidas duas amostras de soro: uma na fase aguda e outra na fase convalescente da doença:
 - Primeira coleta (fase aguda): 5 ml para crianças e 10 ml para adultos, a partir do sexto dia de início dos sintomas.
 - Segunda coleta (fase convalescente): 5 ml para crianças e 10 ml para adultos, 15 dias após a primeira coleta.



Todas as amostras devem ser acompanhadas das informações clínicas e epidemiológicas (cópia da ficha de notificação Sinan Net) dos indivíduos e devem ser cadastradas no Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL).



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar do exame diagnóstico laboratorial ser norteador no tratamento dessas virologias é necessário levar em consideração que embora o ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*), o isolamento viral e a RT-PCR sejam técnicas valiosas para diagnóstico e pesquisa, eles também têm algumas limitações e aspectos negativos. Em relação ao exame de ELISA, há possibilidades de haver falsos positivos ou falsos negativos, dependendo da sensibilidade e especificidade dos reagentes e da técnica, portanto, se faz importante a verificação dos materiais e os fatores de alterações das amostras. O ELISA também pode não detectar antígenos ou anticorpos em estágios iniciais de infecções e requer um tempo considerável para ser concluído, não sendo adequado para diagnóstico rápido em situações emergenciais (BRASIL, 2022).

Os diagnósticos laboratoriais de infecções por arbovírus podem ser realizados em dois momentos, por meio da detecção direta do agente infeccioso, denominada de fase virêmica ou pela detecção de anticorpos conduzido contra o vírus, estágio denominado como fase imune. Os diagnósticos moleculares, como RT-PCR e PCR em tempo real, são altamente sensíveis e específicos, pois podem reduzir a incidência de reatividade cruzada e identificar patógenos numa fase inicial da doença. A vantagem da PCR em tempo real sobre a PCR convencional é a amplificação simultânea do material de teste genético e a quantificação simultânea do material amplificado. Este processo reduz o tempo de resposta e o risco de contaminação cruzada. Ao amplificar o RNA com moléculas menos estáveis, pode-se reduzir a taxa de falsos negativos (DANTAS; SOARES, 2022).

Dada a emergência e reemergência dos arbovírus DENV, CHIKV e ZIKV e YFV nos últimos anos e a imprescindibilidade de identificar e diferenciar estes vírus, torna-se fundamental a investigação centrada na eficácia do diagnóstico molecular, na identificação e diferenciação do vírus, sobretudo, na sensibilidade, especificidade, taxas de reatividade cruzada e limites de detecção.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

REFERÊNCIAS

ANGERAMI, Rodrigo. **Arboviroses de A à Zika: cenário atual e perspectivas**. Revista Medicação. Janeiro/Março, 2019.

DE ARAÚJO, Raissa Sucar Pereira; MONTENEGRO, Germano Leite Brasil. **A análise dos casos de Dengue e Zika na população brasileira: contribuições para a prevenção de arboviroses no contexto da estratégia de saúde da família**. Livros da Editora Integrar, p. 23-34, 2023.

BARBOSA, Bruno Rafael Sousa; CALDEIRA-JÚNIOR, Antônio Marmoro de. Leucopenia e trombocitopenia no diagnóstico da dengue. **Rev. Cient. Sena Aires**; 7(3): 171-81, 2018.

Brasil. Ministério da Saúde, **Boletim Epidemiológico**, Secretaria de Vigilância em Saúde, Volume 51, Nº 33, Ago. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos Não Transmissíveis e Promoção da Saúde. Saúde Brasil 2015/2016. **Uma análise da situação de saúde e da epidemia pelo vírus Zika e por outras doenças transmitidas pelo Aedes aegypti**. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos Não Transmissíveis e Promoção da Saúde. – Brasília : Ministério da Saúde, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Guia de Vigilância em Saúde. **Arboviroses urbanas causadas por vírus transmitidos pelo Aedes: Dengue, Chikungunya e Zika**, 2021.

BRASIL. **Guia de Vigilância em Saúde**, 1. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2016

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis. **Plano de contingência para resposta às emergências em Saúde Pública por dengue, chikungunya e Zika** [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis. - Brasília: Ministério da Saúde, 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. Departamento de Doenças Transmissíveis. **Plano de Ação do Evento COE Arboviroses 2023** [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente, Departamento de Doenças Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 2023.

CAMARA, Tamara Nunes Lima. **Arboviroses emergentes e novos desafios para a saúde pública no Brasil**. Rev Saúde Pública; 50:36, 2016.

CAMARGO, Monalyza Borges de Oliveira; CASTRO, Fernanda de Oliveira Feitosa de; PFRIMER, Irmtraut Araci Hoffmann. **Diagnóstico Laboratorial dos Vírus Zika e Dengue em Pacientes com Suspeita de Arboviroses**. Goiânia, v. 49, p. 1-9, 2022.

CARVALHO, Janaina Martins de. **Política Nacional de Educação permanente em saúde: efeitos no cotidiano das profissionais da atenção primária em Corumbá-MS(uma análise temporal no período 2019 a 2023)**. 2023



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

CUNHA, Lorena Ribeiro et al. **Educação e saúde: entendendo a dengue através da elaboração de podcasts como material (in) formativo**. 2023.

DANTAS, Arlen Andriê Araújo; SOARES, Camila Reane Vicente; PEREIRA, Hannaly Wana Bezerra. **Uso da biologia molecular como diagnóstico diferencial e específico de arboviroses**. Natal/RN, 2022.

ECHEVARRÍA-GUANILO, Maria Elena; GONÇALVES, Natália; ROMANOSKI, Priscila Juceli. Psychometric properties of measurement instruments: conceptual bases and evaluation methods-part I. **Texto & Contexto-Enfermagem**, v. 26, 2018.

DONALISIO, Maria Rita; FREITAS, André Ricardo Ribas; ZUBEN, Andrea Paula Bruno Von. Arboviroses emergentes no Brasil: desafios para a clínica e implicações para a saúde pública. **Revista de saúde pública**, v. 51, p. 30, 2017.

LICÍNIO, Christiane O. L; AYRES, Flávio M. O uso de PCR em tempo real em diagnósticos de arboviroses: revisão integrativa. **J Bras Patol Med Lab.**; 57: 1-9, 2021.

LONGA, Leila Costa Duarte et al. **Estudos Prospectivos como Estratégia para Subsidiar Tomada de Decisão em Projetos de Pesquisa e Desenvolvimento na Fiocruz**. 2022. Tese de Doutorado.

LOPES, N. et al. Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde, Ananindeua**, v. 5, n. 3, p. 55-64, 2014.

MANARESI; Gallinella, G. Advances in the Development of Antiviral Strategies against Parvovirus B19. **Viruses**. 11, 659. 2019.

NJAIME, Fabio Castelo Branco Fontes Paes. **Revisão dos manuais do Ministério da Saúde visando o controle de Aedes aegypti: levantamento de lacunas técnicas, sugestão de atualização de conteúdos e proposta de uso racional de metodologias e/ou tecnologias em planos de contingência para controle de mosquitos vetores de arboviroses urbanas**. Rio de Janeiro, 2021.

ZANQUIS, Ferreira, Jéssica et al. Coinfecção dengue e covid-19: diagnóstico diferencial. **Brazilian Journal of Surgery & Clinical Research**, v. 44, n. 2, 2023.

PEREIRA, Cícera Viviane; ALVES, Sabrina Alaide Amorim; SOBREIRA, Cicera Luciana da Silva; LOPES, Maria do Socorro Vieira. Educação ambiental e arboviroses no contexto escolar. **Rev Enferm UFPE on line**. 2021.

QUEIROZ, Josiane Teresinha Matos de; SILVA, Priscila Neves; HELLER, Léo. Novos pressupostos para o saneamento no controle de arboviroses no Brasil. **Cad. Saúde Pública**; 36(4):e00233719, 2020.

RIBEIRO, Ana Cláudia da Silva; CARVALHO, Carlos Alberto Marques de; CASSEB, Samir Mansour Moraes; RODRIGUES, Sueli Guerreiro; VASCONCELOS, Pedro Fernando da Costa; CARVALHO, Valéria Lima. Perfis de infecção do vírus Mayaro e do vírus Chikungunya em linhagens de células de mamíferos e mosquitos. **Rev. Pan Amaz Saúde**, 2018.

RODRIGUES, Cintia Damasceno dos Santos. **Triagem de genótipos de arbovírus de importância clínico-epidemiológica no Brasil: Dengue, Chikungunya e Zika**. Rio de Janeiro, fevereiro de 2017.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DO PARÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – PPGCSA
LGBIO – LABORATÓRIO DE GENÉTICA E BIODIVERSIDADE

PEREIRA, Christian dos Santos; PIKANÇO, Maria Rosinete Siqueira; VALE, Gabriella Pinheiro; OLIVEIRA, Camila Souza de; AMORIM, Flávia Alini Souza de; COSTA, Fábio da Silva. "Epidemiologia, diagnóstico e tratamento da febre de Oropouche no Brasil: revisão de literatura Epidemiology, Diagnosis and Treatment of Oropouche Fever in Brazil: A Literature Review." **Brazilian Journal of Health Review** 4.6 (2021): 23912-23920.

SAATKAMP, Cassiano Junior; RODRIGUES, Luís Reginaldo Ribeiro; PEREIRA, Andrew Mairom Nogueira; COELHO, João Alberto, Marques, R. G. B., Souza, V. C. D., ... & Figueiredo, R. M. P. D. (2021). Mayaro virus detection in the western region of Pará state, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 54.

SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE DO DISTRITO FEDERAL. **Plano para enfrentamento da dengue e outras Arboviroses** (2020-2023), 2023.

SECRETARIA DE SAÚDE DO ESTADO DE GOIÁS. **Manual para o diagnóstico Laboratorial das arboviroses no estado de Goiás**. Goiânia, 2022.

SECRETARIA DE SAÚDE DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Manejo clínico das Arboviroses**. Janeiro, 2023.

SILVA, Verônica Lippi Oliveira da. **Desenvolvimento de RT-PCR em tempo real para diagnóstico diferencial de Chikungunya, Dengue e Zika**. Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, 2019.

SLAVOV, Svetoslav Nanev; NORONHA, Lorena Aparecida Gonçalves de; GONZAGA, Filipe Almeida Carvalho; PIMENTEL, Bárbara Maciel Sidou; KASHIMA, Simone; HADDAD, Rodrigo. Low human parvovirus B19 (B19V) DNA prevalence in blood donors from Central-West Brazil. **J Med Microbiol**. 2019 Apr; 68(4): 622-626.

FERREIRA, Jéssica Zankis *et al.* Coinfecção Dengue e Covid-19: Diagnóstico Diferencial. **Brazilian Journal of Surgery & Clinical Research**, v. 44, n. 2, 2023.