

**Secretaria de Estado da Saúde
Coordenadoria de Controle de Doenças
Instituto Adolfo Lutz**

Débora Fernanda Pedrozo Pavani

**IMUNIDADE CRUZADA ENTRE OS PRINCIPAIS ARBOVÍRUS DE
IMPORTÂNCIA EM SAÚDE PÚBLICA NO BRASIL**

Revisão Sistemática

Sorocaba

2019

Débora Fernanda Pedrozo Pavani

**IMUNIDADE CRUZADA ENTRE OS PRINCIPAIS ARBOVÍRUS DE IMPORTÂNCIA
EM SAÚDE PÚBLICA NO BRASIL**

Revisão Sistemática

Trabalho de conclusão de curso de especialização apresentado ao Instituto Adolfo Lutz - Unidade do Centro de Formação de Recursos Humanos para o SUS/SP - Doutor Antônio Guilherme de Souza como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Vigilância Laboratorial em Saúde Pública

Orientador: Prof. Dr. Fabio Hiroto Shimabukuro

Sorocaba

2019

FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pelo Centro de Documentação – Coordenadoria de Controle de Doenças/SES-SP

©reprodução autorizada pelo autor, desde que citada a fonte

Pavani, Débora Fernanda Pedrozo

Imunidade cruzada entre os principais arbovírus de importância em saúde pública no Brasil - Revisão Sistemática/ Débora Fernanda Pedrozo Pavani– Sorocaba, 2019.

40 f. il

Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização-Vigilância Laboratorial em Saúde Pública)-Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, CEFOR/SUS-SP, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, 2019.

Área de concentração: Imunossorologia em Saúde Pública

Orientação: Prof. Dr. Fabio Hiroto Shimabukuro

1-Anticorpos; 2-Arbovírus; 3-Diagnóstico; 4-Sorologia; 5-Vacinas

SES/CEFOR/IAL-46/2019

Dedico este trabalho aos amantes da Virologia, em especial ao meu querido amigo e eterno professor, Dr. Paulo Vitor Marques Simas, por todo seu apoio incondicional e inspiração desde o começo até aqui.

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar ao Universo que me proporcionou essa oportunidade de aprendizado e desenvolvimento.

À minha amada mãe que, com muito esforço e trabalho, me criou e sempre me apoiou em meus estudos para que eu tivesse uma vida melhor.

Ao Paulo Ricardo Pavani, pelo apoio dado em todas as oportunidades que a medicina veterinária me trouxe e pelo companheirismo.

À Marília Rossi Padula, pela amizade sincera e por sempre torcer pelo meu crescimento pessoal e profissional.

Aos demais familiares e amigos que me apoiaram diretamente ou indiretamente.

Aos colegas de especialização – Marcus Vinícius França, Júlia Senne Kupper e Ana Elisa Rubinato Cavalheiro, pelos momentos de descontração, almoços, estudos e aprendizado compartilhados. Vocês tornaram tudo muito mais leve!

Ao meu orientador Dr. Fábio Hiroto Shimabukuro, por compartilhar comigo o gosto pela pesquisa e todo o seu conhecimento, experiência, paciência e atenção durante esse período.

À Dra. Aparecida Helena de Souza Gomes, por todo aprendizado prático e teórico proporcionados, conselhos e atenção.

A todos os funcionários do Instituto Adolfo Lutz – CLR Sorocaba, que compartilharam comigo seus muitos anos de experiência prática em laboratório, especialmente aos do Laboratório de Virologia, Sorologia e Parasitologia – Alessandra, Maria Cláudia, Maria de Fátima, Rhodmara, Neuza, Aline, Wendel e um agradecimento especial às funcionárias Cássia e Valéria, por compartilharem momentos de descontração e amizade e às funcionárias Marlene e Valquíria pelas refeições preparadas com tanto carinho e sabor.

A todos os tutores, coordenadores e demais funcionários que contribuíram com o Programa de Especialização em Vigilância em Saúde Pública

Ao CEFOR/SES/SUS pelo suporte financeiro e administrativo.

OBRIGADA!

"Quando uma criatura humana desperta para um grande sonho e sobre ele lança toda a força de sua alma, todo o universo conspira a seu favor"

Johann Goethe

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – PORCENTAGEM DE ARTIGOS PUBLICADOS DE ACORDO COM OS TIPOS DE INTERAÇÕES IMUNOLÓGICAS VIRAIS.....	25
FIGURA 2 – REAÇÃO SOROLÓGICA CRUZADA ENTRE OS <i>FLAVIVÍRUS</i>	28

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – PORCENTAGEM DA ORIGEM DAS PUBLICAÇÕES SOBRE O TEMA POR PAÍS.....	25
TABELA 2 – FREQUÊNCIA DAS OCORRÊNCIAS DE PUBLICAÇÕES SOBRE IMUNIDADE CRUZADA ENTRE ARBOVÍRUS POR ANO.....	26

LISTA DE SIGLAS

DENV – Vírus do Dengue

ZIKV – Vírus Zika

CHIKV – Vírus Chikungunya

YFV – Vírus da Febre Amarela

OROV – Vírus Oropouche

WNV – Vírus do Oeste do Nilo

MAYV – Vírus Mayaro

JEV – Vírus da Encefalite Japonesa

RNA – Ácido Ribonucleico

HI – Inibição da Hemaglutinação

IF – Imunofluorescência

EIA – Ensaio Imunoenzimático

ELISA – *Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*

PRNT – *Plaque Reduction Neutralization Test*

IgG – Imunoglobulina G

IgM – Imunoglobulina M

FC – Fixação do Complemento

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

NS1 – *Non Structural 1*

MAC-ELISA - *Antibody Capture Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*

UMELISA – *UltraMicroImmunoEnzymatic Assay*

ORIV – Vírus Oriboca

MURV – Vírus Murutucu

NEPUV – Vírus Nepuyo

CARV – Vírus Caraparu

MARV – Vírus Marburg

ITQV – Vírus Itaqui

RESUMO

Introdução: As arboviroses consistem num sério problema de saúde pública no Brasil, pois são responsáveis por causar grandes epidemias que impactam socialmente e economicamente. A ocorrência de surtos está relacionada frequentemente às famílias virais *Peribunyaviridae*, *Flaviviridae* e *Togaviridae*. A sintomatologia das doenças causadas por esses vírus é muito semelhante, o que pode dificultar o diagnóstico clínico. O diagnóstico laboratorial pode ser realizado de forma direta (pesquisa por antígenos) ou de forma indireta (pesquisa por anticorpos). O método rotineiramente utilizado para o diagnóstico dessas infecções é a sorologia para detecção de anticorpos específicos, seja por métodos desenvolvidos *in-house* ou por kits comerciais. Ao adentrar o organismo, os vírus ativam o sistema imune, que começa a produzir anticorpos IgM apenas alguns dias após a infecção e que poderão ser detectados até 3 meses após a infecção. Já os anticorpos IgG se desenvolvem dias após o IgM e podem ser detectados depois meses a anos da infecção inicial. Entretanto, os anticorpos IgM podem persistir por longos períodos e podem complicar o diagnóstico. Diversos parâmetros biológicos podem influenciar na cinética da resposta do anticorpo depois da infecção, como genética, histórico prévio de vacinação e de infecções por vírus similares e não similares e até mesmo infecções por outros microrganismos. Com o advento e a consolidação do ELISA, os outros métodos foram deixados em segundo plano, o que simplificou muito a interpretação dos resultados no caso de arbovírus e de outros vírus propensos a reações cruzadas, entretanto, é sabido que os *Alphavirus* e *Flavivirus* possuem complexos antigênicos para os quais não foram desenvolvidos testes sorológicos específicos, podendo ocorrer a reação cruzada de IgG e IgM dentro de sorogrupos, gerando resultados falso-positivos. Infecções anteriores ou vacinas também podem desencadear reação cruzada pelos anticorpos. Esses fatores combinados com uma grande variedade de síndromes com sintomatologia clínica semelhantes e a distribuição geográfica das doenças, dificultam muito a realização de um diagnóstico preciso ou diferencial.

Objetivos: Realizar levantamento bibliográfico pela metodologia de revisão sistemática das principais formas de reação cruzada, as interações dos anticorpos nas principais infecções por arbovírus de interesse à saúde pública e as dificuldades no diagnóstico laboratorial. **Metodologia:** análise de dados obtidos em literatura especializada por busca sistematizada nas bases de dados eletrônicas MEDLINE,

LILACS, SciELO e BVS, entre o período de 2008 a 2018. **Resultados:** foram encontrados 18 artigos referentes ao tema, sendo que 8 (44,4%) abordam especificamente a relação DENV-ZIKV; 6 (33,3%) abordam a relação entre DENV e outros *Flavivirus*; apenas um (5,6%) aborda a relação dos *Orthobunyavirus*; um (5,6%) entre DENV e YFV, um (5,6%) entre YFV, JEV e WNV e um (5,6%) entre CHIKV e DENV. **Conclusão:** diversos fatores biológicos podem contribuir para as reações cruzadas entre anticorpos nas infecções por arboviroses. Estudos da interação vírus-anticorpo específico são necessários para o desenho de vacinas eficazes e o desenvolvimento de testes sorológicos mais específicos e sensíveis.

Palavras-chave: Anticorpos; Arbovírus; Diagnóstico; Sorologia; Vacinas

ABSTRACT

Introduction: Arboviruses are a serious public health problem in Brazil, as they are responsible for causing large epidemics that impact socially and economically. The occurrence of outbreaks is often related to the viral families *Peribunyaviridae*, *Flaviviridae* and *Togaviridae*. The symptomatology of the diseases caused by these viruses is very similar, which may make clinical diagnosis difficult. The laboratory diagnosis can be performed directly (antigen search) or indirectly (antibody screening). The method routinely used for the diagnosis of these infections is the serology for the detection of specific antibodies, either by methods developed in-house or by commercial kits. When they enter the body, the virus activates the immune system, which begins to produce IgM antibodies only a few days after infection and can be detected up to 3 months after infection. IgG antibodies develop on days after IgM and can be detected months to years after initial infection. However, IgM antibodies may persist for long periods and may complicate the diagnosis. Several biological parameters may influence the kinetics of antibody response after infection, such as genetics, previous history of vaccination and similar and non-similar virus infections, and even infections by other microorganisms. With the advent and consolidation of the ELISA, the other methods were left in the background, which greatly simplified the interpretation of results in the case of arboviruses and other cross-reactive viruses, however, it is known that *Alphavirus* and *Flavivirus* have antigenic complexes for which specific serological tests were not performed, and the IgG and IgM cross reaction could occur within serogroups, generating false-positive results. Previous infections or vaccines can also elicit cross-reactivity by antibodies. These factors combined with a wide variety of syndromes with similar clinical symptoms and the geographical distribution of diseases makes it difficult to make a precise or differential diagnosis.

Objectives: to carry out a bibliographic survey by methodology of systematic review of the main forms of cross-reaction, the interactions of antibodies in the main arbovirus infections of interest to public health and difficulties in laboratory diagnosis.

Methodology: analysis of data obtained in specialized literature by systematized search in the electronic databases MEDLINE, LILACS, SciELO and VHL, between the periods from 2008 to 2018. **Results:** 18 articles were found related to the topic, of which eight (44.4 %) specifically address the DENV-ZIKV relationship; six (33.3%) deal

with the relationship between DENV and other flaviviruses; only one (5.6%) addresses the *Orthobunyavirus* ratio; one (5.6%) between DENV and YFV, one (5.6%) between YFV, JEV and WNV and one (5.6%) between CHIKV and DENV. **Conclusion:** several biological factors may contribute to the cross-reactivity between antibodies in arbovirus infections. Studies of virus-specific antibody interaction are required for the design of effective vaccines and the development of more specific and sensitive serological tests.

Key-words: Antibodies; Arbovirus; Diagnosis; Serology; Vaccines

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	15
2.1. Objetivo geral	15
2.2. Objetivos específicos	15
3. REFERENCIAL TEÓRICO	15
3.1. Visão geral dos principais arbovírus circulantes no Brasil	15
3.1.1. Dengue	16
3.1.2. Zika	16
3.1.3. Chikungunya	17
3.1.4. Mayaro	18
3.1.5. Oropouche	18
3.1.6. Vírus do Oeste do Nilo	19
3.1.7. Febre Amarela	20
3.2 Diagnóstico laboratorial por sorologia	20
3.2.1 Ensaio imunoenzimático (EIA/ELISA)	21
3.2.2 Imunofluorescência (IF)	21
3.2.3 Teste de Neutralização por Redução de Placas de Lise (PRNT)	21
3.2.4 Inibição da Hemaglutinação (HI)	22
3.2.5 Fixação do Complemento (FC)	22
3.3 Resposta imunológica relacionada ao diagnóstico	23
4 MATERIAL E MÉTODOS	24
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5.1 Dados Bibliométricos	25
5.2 Interação sorológica entre arbovírus	27
5.2.1 DENV – ZIKV	27
5.2.2 DENV – YFV	29
5.2.3 <i>Peribunyaviridae</i>	29
5.3 Considerações sobre a imunidade cruzada e diagnóstico	30
6 CONCLUSÃO	32
REFERÊNCIAS	32

1. INTRODUÇÃO

Os arbovírus (do inglês “*arthropod-borne virus*”) consistem num grupo de agentes virais transmitidos por vetores artrópodes que participam em parte do seu ciclo de replicação e podem ser transmitidos para animais e humanos principalmente através da picada de moscas e mosquitos hematófagos (VASCONCELOS; CALISHER, 2016). São conhecidas mais de 500 espécies de arbovírus, sendo que cerca de 150 delas já demonstraram ter capacidade de causar doenças em humanos e, em sua maioria, são caracterizadas por serem zoonoses. O ciclo de transmissão desses vírus é mantido através de vetores artrópodes e animais vertebrados que atuam como reservatórios (CLETON et al., 2012). Esses vírus pertencem a cinco famílias virais: *Peribunyaviridae*, *Flaviviridae*, *Togaviridae*, *Reoviridae* e *Rhabdoviridae*, sendo que no Brasil as principais famílias que são capazes de causar doenças em humanos e animais são as famílias *Togaviridae* e *Flaviviridae* (FIGUEIREDO, 2007, 2015). Entretanto, estudos indicam que haja a ocorrência de mais de 500 mil casos em humanos de Febre do Oropouche, que é uma síndrome causada por um vírus membro da família *Peribunyaviridae* (LOPES; NOZAWA; LINHARES, 2014; VASCONCELOS et al., 2011).

As arboviroses consistem num sério problema de saúde pública no Brasil, pois são responsáveis por causar grandes epidemias que impactam socialmente e economicamente, podendo sobrecarregar o sistema público de saúde (FIGUEIREDO, 2015). A emergência dessas doenças é frequentemente associada à falta de planejamento urbano, desmatamento, migração, ocupação irregular de áreas urbanas, carência de políticas públicas de saneamento e controle de vetores, bem como fatores climáticos (MOTA et al., 2016).

Os arbovírus mais comuns no Brasil possuem sintomas muito semelhantes e o diagnóstico, em momentos de epidemia, é feito normalmente apenas baseado em critérios clínico-epidemiológicos, o que pode significar que a maioria delas estejam sendo subdiagnosticadas (MOTA et al., 2016). Entretanto, quando o diagnóstico é realizado laboratorialmente, diversos fatores podem interferir na precisão dos testes como as reações cruzadas entre os anticorpos, histórico de vacinação, individualidade genética, o histórico de infecções anteriores por vírus similares e não similares e até mesmo outros agentes infecciosos.

Através desse trabalho pretende-se avaliar as principais formas de reação cruzada entre os arbovírus de importância em Saúde Pública no Brasil, apontar as dificuldades do diagnóstico laboratorial, auxiliar desenvolvimento de novos métodos de diagnóstico e contribuir para medidas decisivas em Saúde Pública, conforme disposto no Plano Estadual de Saúde (PES) 2016-2019, que possui como meta/objetivo: “Desenvolver pesquisas técnico-científicas para a melhoria da qualidade diagnóstica e análise de produtos de interesse da saúde pública/Ampliar em 40% o desenvolvimento de novas metodologias para melhoria da qualidade diagnóstica e análise de produtos de interesse da saúde pública”.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Realizar uma revisão sistemática em literatura especializada sobre a imunidade cruzada entre os principais arbovírus de importância em Saúde Pública no Brasil.

2.2. Objetivos específicos

1. Avaliar as interações sorológicas entre os principais arbovírus de interesse à saúde pública;
2. Avaliar as limitações no diagnóstico laboratorial.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Visão geral dos principais arbovírus circulantes no Brasil

No Brasil, o vírus da Dengue (DENV) é endêmico e continua a ser o principal responsável pelo surgimento de surtos e epidemias, entretanto, recentemente começou a dividir espaço com outros vírus de importância à saúde pública, como o vírus Zika (ZIKV) introduzido no Brasil em 2013 (FARIA et al., 2016) e o vírus Chikungunya (CHIKV) introduzido em 2014 (NUNES et al., 2015). Há ainda, outros vírus considerados negligenciados, como o Vírus do Oeste do Nilo (WNV), Vírus Mayaro (MAYV) (MOTA et al., 2015) e Vírus (Oropouche (OROV) (ROSA et al., 2017).

3.1.1. Dengue

DENV é um vírus envelopado, possui genoma de RNA de polaridade positiva com aproximadamente 11kb, membro da família *Flaviviridae*, gênero *Flavivirus*. Esse gênero possui outros importantes membros para a saúde pública como o vírus da Encefalite Japonesa (JEV), vírus do Oeste do Nilo (WNV) e o da Febre Amarela (YFV) (GEBHARD; FILOMATORI; GAMARNIK, 2011).

São conhecidos quatro sorotipos: DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4. Nos anos de 1980, DENV-1 era o sorotipo mais prevalente, sendo ultrapassado pelo tipo 2 na década de 1990. Posteriormente foi detectado o tipo 3 no ano de 2000 e o tipo 4 em 2007 (MOURÃO et al., 2015). Atualmente, os quatro tipos circulam no país com maior ocorrência dos tipos 1 e 2. O vírus é transmitido principalmente pela picada do mosquito *Aedes aegypti*, que está amplamente distribuído no país, ocupando em torno de 80% do território brasileiro. Estudos indicam que ocorram mundialmente entre 50 a 100 milhões de infecções por ano e que mais de 2,5 bilhões de pessoas vivam em países endêmicos de dengue (BHATT et al., 2013).

Clinicamente, a doença manifesta-se por um quadro febril agudo, com sintomas que podem variar entre febre alta (39 a 40°C), mialgia, artralgia, cefaléia intensa, náusea, vômito, dor retro-orbital, anorexia, astenia e exantema, podendo evoluir para a forma grave da doença ao apresentar dor abdominal, hepatomegalia e hemorragias (BRASIL. Ministério da Saúde, 2016).

3.1.2. Zika

O ZIKV pertence ao gênero *Flavivirus*, da família *Flaviviridae*, é envelopado e possui genoma de RNA com polaridade positiva, transmitido pela picada de mosquitos *Aedes aegypti*. O primeiro isolamento deste vírus ocorreu em 1947 em Uganda, na floresta Zika, em macaco *Rhesus* que era utilizado como sentinela para Febre Amarela (DICK; KITCHEN; HADDOW, 1952). Já em 1954 ele foi encontrado em pacientes com sintomas de icterícia na Nigéria (MACNAMARA, 1954). Após isso, por vários anos o vírus manteve-se silencioso, com poucos casos relacionados a doença em humanos, até que em 2007 foi relatada uma importante epidemia na Micronésia, que se tornou a primeira epidemia fora do continente africano quando cerca de 73% da população soroconverteu ao agente e surgiu um novo genótipo de ZIKV, hoje conhecido como a cepa asiática (LANCIOTTI et al., 2008).

A segunda epidemia de ZIKV ocorreu em 2012 na Polinésia Francesa e no Brasil. Os primeiros casos autóctones foram relatados no início de 2015 (ZANLUCA et al., 2015), embora estudos genéticos e moleculares tenham demonstrado que a entrada no país tenha ocorrido em 2013 (FARIA et al., 2016).

Estima-se que cerca de 82% dos casos de infecção pelo ZIKV sejam assintomáticos porém, quando ocorrem sintomas, eles são semelhantes aos da dengue, apresentando exantema, febre ($<38,5^{\circ}\text{C}$), mialgia, fadiga e conjuntivite (HABY et al., 2018). Esses fatores somados à co-circulação com outros arbovírus, reações cruzadas com outros tipos de vírus da mesma família, dificultam o estabelecimento da real incidência do ZIKV no país e em outras regiões tropicais (LIANG; GAO; A GOULD, 2015; XAVIER et al. 2017).

ZIKV ainda está associado a outras complicações neurológicas graves em humanos, como a Síndrome de Guillain-Barré em adultos e crianças e a microcefalia, em fetos de mulheres grávidas (LUCCHESI; KANDUC, 2016).

3.1.3. Chikungunya

CHIKV é um vírus envelopado composto por genoma de RNA com polaridade positiva e cerca de 11,8kb pertencente à família *Togaviridae*, gênero *Alphavirus* e ao complexo antigênico *Semliki Forest*, que também é composto por vários outros vírus relevantes, como o *Mayaro*, *Ross River*, *O' nyong-nyong*, *Bembaru*, *Semliki forest* e *Getah*. É transmitido por mosquitos *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (FIGUEIREDO, 2007; AZEVEDO; OLIVEIRA; VASCONCELOS, 2015). O vírus foi originalmente isolado de soro humano na Tanzânia em 1953 (ROSS, 1956) e seu nome tem origem de um idioma local, significando “aqueles que se curvam”, em referência às dores articulares causadas pela doença (ROBINSON, 1955).

A infecção pelo CHIKV caracteriza-se pela apresentação de sintomas como febre aguda, artralgia, conjuntivite, exantema e edema articular. Estudos com modelos estatísticos demonstraram que na América Latina cerca de 47,6% dos pacientes que tiveram infecção por CHIKV irão permanecer com sequelas da doença, caracterizada por manifestações articulares crônicas (RODRIGUEZ-MORALES et al., 2015) e/ou altas taxas de persistência de outros sintomas (NUNES et al., 2015).

3.1.4. Mayaro

O MAYV é um vírus envelopado pertencente à família *Togaviridae* e gênero *Alphavirus* (ASSUNÇÃO-MIRANDA et al., 2013), assim como o CHIKV, faz parte do complexo antigênico do grupo *Semliki Forest*. Internamente o vírus é constituído de RNA positivo de fita simples com 11,5kb de comprimento (LAVERGNE et al., 2006). É o agente causador da Febre do Mayaro, uma doença febril aguda que pode estar associada à inflamação articular prolongada e dolorosa, possuindo caráter autolimitante e demais sinais clínicos similares à Dengue e Chikungunya, o que dificulta o diagnóstico clínico. A forma de transmissão ocorre principalmente através da picada de mosquitos do gênero *Haemagogus* sp e o vírus é mantido na natureza através de um ciclo que inclui o vetor e animais vertebrados. Acredita-se que possa ocorrer a adaptação do vírus a vetores antropofílicos, podendo tornar a sua transmissão mais eficiente no meio urbano. Assim como os outros arbovírus emergentes, o MAYV pode se tornar um sério problema de saúde pública, pois tem potencial para gerar alto impacto econômico e social (MOTA et al., 2015).

3.1.5. Oropouche

OROV é um vírus de genoma composto de RNA de polaridade negativa que possui 3 segmentos (L – “*large*”, M – “*medium*”, S – “*small*”). É um membro da família *Peribunyaviridae*, gênero *Orthobunyavirus* e sorogrupo Simbu. O principal vetor do vírus é a mosca *Culicoides paraensis*, popularmente conhecida como “maruim” ou “mosquito-pólvora”, muito comum na região amazônica do país. Desde seu primeiro isolamento no Brasil na década de 1960 (PINHEIRO et al., 1962) diversos surtos de doença febril aguda foram relatados e, até a introdução do ZIKV e CHIKV, a infecção por OROV era considerada a segunda maior causa de doença febril, perdendo apenas para o DENV. Estima-se a ocorrência de mais de meio milhão de casos de OROV desde o seu descobrimento (VASCONCELOS et al., 2011). Considerando que o *C. paraensis* costuma viver em áreas de baixa altitude e está amplamente distribuído pelas Américas, a probabilidade da ocorrência de surto nas regiões costeiras do nordeste e sudeste do Brasil é alta (FIGUEIREDO, 2007). Mais recentemente no ano 2000, o vírus foi isolado de um macaco na região de Arinos, em Minas Gerais, evidenciando a circulação do vírus fora da região Amazônica (NUNES, 2005).

As manifestações clínicas caracterizam-se por uma doença febril aguda, assim como a Dengue, podendo apresentar cefaleia, mialgia, artralgia, fotofobia, mal-estar e algumas manifestações incomuns, como exantema e congestão da conjuntiva. Os sintomas costumam durar de 5 a 7 dias, porém diversos casos de recidiva foram relatados cerca de uma semana após o final dos sintomas. Há ainda o relato de sintomas neurológicos (BASTOS et al., 2012) e aumento significativo no número de abortos em períodos de epidemia na região amazônica (PINHEIRO et al., 1981).

3.1.6. Vírus do Oeste do Nilo

WNV é um vírus envelopado, com genoma de RNA e polaridade positiva com aproximadamente 10,5kb, membro da família *Flaviviridae*, gênero *Flavivirus*. Foi isolado a primeira vez em Uganda, no ano de 1937 de um indivíduo nativo que apresentava quadro febril (SMITHBURN et al., 1940), desde então, surtos esporádicos tem sido relatados no mundo todo. O primeiro caso humano documentado no Brasil ocorreu em 2014 no interior do Piauí, em um trabalhador rural do município de Aroeiras do Itaim que apresentava encefalite aguda e paralisia flácida (VIEIRA et al., 2015), mais recentemente em 2018, o vírus foi isolado de um cavalo que apresentava sintomatologia neurológica no município de São Mateus, no estado do Espírito Santo (MARTINS et al., 2018).

O principal vetor do WNV são os mosquitos do gênero *Culex*, principalmente o *C. pipiens* e possui como reservatório principal as aves, que atuam como amplificadoras do vírus. O ser humano e os cavalos são considerados hospedeiros acidentais e finais, pois apresentam baixos níveis de viremia e por um período muito curto, o que é insuficiente para contribuir com a disseminação da doença (BUNNING et al. 2002).

Os sintomas em humanos, além da doença febril aguda, podem incluir doenças neurológicas como paralisia flácida aguda, meningite e encefalite. Estima-se que cerca de somente 20% dos infectados desenvolvam sintomas (HAYES et al. 2005). Em relação aos equinos, a maioria também permanece assintomática durante a infecção, entretanto, quando a manifestação sintomatológica ocorre, os principais sintomas observados são anorexia, cólica, apatia, encefalite, ataxia, fasciculação muscular, decúbito e miastenia (OSTLUND et al., 2001).

3.1.7. Febre Amarela

O YFV é envelopado, composto por genoma de RNA de polaridade positiva com cerca de 11kb, pertencente ao gênero *Flavivirus* e à família *Flaviviridae*. O vírus é originário da África e estima-se que ele tenha chegado às Américas durante o período de escravidão, com o primeiro caso de epidemia relatado em 1648 (CARTER, 1931).

O vírus mantém-se na natureza em um ciclo enzoótico, onde macacos atuam como hospedeiros amplificadores e sentinelas do vírus e mosquitos do gênero *Haemagogus* e *Sabethes* atuam como transmissores da doença. No ciclo urbano, mosquitos do gênero *Aedes* são os responsáveis por transmitir a doença e o ser humano é considerado hospedeiro. No Brasil, não há registros de casos urbanos desde 1942, entretanto, a recente epidemia no ciclo enzoótico alertou sobre a possibilidade de reurbanização da doença quando registrou em menos de 18 meses 1833 casos confirmados e 578 mortes em humanos sendo a maioria 99,9% deles na região Sudeste e quando milhares de primatas vieram à óbito, levando o Ministério da Saúde a dar maior ênfase ao incentivar à vacinação em áreas de risco (POSSAS et al., 2018).

Os sinais clínicos clássicos da doença são caracterizados pelo início súbito de febre alta e contínua, cefaleia, inapetência, náuseas e mialgia, podendo ou não apresentar o sinal de Faget (bradicardia acompanhada de febre alta). A infecção é autolimitante, podendo durar de dois a quatro dias. Entretanto, em cerca de 15 a 60% das pessoas notificadas e que possuem sintomas irão evoluir para a forma mais grave da doença e dessas, entre 20 a 50% poderão ir à óbito. Pacientes que evoluem para a forma grave poderão apresentar cefaleia e mialgia intensas, náuseas e vômitos frequentes, oligúria, icterícia e manifestações hemorrágicas, como hematêmese, metrorragia e epistaxe; podendo apresentar quadro de regressão dos sintomas de 6 a 48 horas entre o 3º e 5º dias da doença seguido de agravamento dos fenômenos hemorrágicos, insuficiência renal e icterícia (BRASIL. Ministério da Saúde, 2017)

3.2. Diagnóstico laboratorial por sorologia

A sintomatologia das doenças causadas por esses vírus é muito semelhante, o que pode dificultar o diagnóstico clínico. Laboratorialmente, o método mais utilizado para o diagnóstico dessas infecções é a sorologia, tais como a Inibição da

Hemaglutinação (HI), Ensaio imunoenzimático (EIA ou *Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay* – ELISA, em inglês), Fixação do Complemento (FC), Imunofluorescência (IF) e o Teste de Neutralização por Redução de Placas de Lise (*Plaque Reduction Neutralization Test* – PRNT, em inglês), que podem ser utilizados na detecção de anticorpos específicos, seja por métodos “*in-house*” ou por kits comerciais.

3.2.1 Ensaio imunoenzimático (EIA/ELISA)

O ELISA possui capacidade de detectar um determinado anticorpo em um soro através do auxílio de uma reação enzimática. Numa placa de poliestireno, adsorve-se o antígeno e adiciona-se o soro. Se houver a presença de anticorpos específicos para aquele antígeno no soro, ocorrerá a ligação. Após o período de incubação, a placa é lavada para que ocorra a eliminação de anticorpos não específicos e um conjugado de anticorpo anti-imunoglobulina ligado à uma enzima é adicionado. Após outra incubação, lava-se a placa para eliminar resíduos de conjugado que porventura não tenham se ligado e então, é adicionado o substrato e um cromogênico que será capaz de detectar a ligação antígeno-anticorpo na placa. A intensidade da cor é proporcional à quantidade de anticorpos específicos presentes no material biológico adicionado e deve-se ser analisada por espectrofotometria.

3.2.2 Imunofluorescência (IF)

A técnica baseia-se na utilização de anticorpos marcados com compostos fluorescentes (conjugado) que possuem capacidade de formar imunocomplexos vírus-anticorpo. O corante mais comumente utilizado é o isotiocianato de fluoresceína (FITC), que produz uma fluorescência verde-amarelada ao ser visualizado no microscópio de luz ultravioleta (UV). Pode-se basear na detecção tanto de antígenos quanto de anticorpos (método direto e indireto).

3.2.3 Teste de Neutralização por Redução de Placas de Lise (PRNT)

O princípio deste teste é que o vírus infeccioso ao interagir com anticorpos específicos é neutralizado e, como consequência, perde a capacidade de infectar

células que sejam permissivas. Na primeira fase do teste o vírus infeccioso e o anticorpo são misturados e incubados para que ocorra a interação vírus-anticorpo. Na segunda fase, inocula-se a mistura da primeira fase em um hospedeiro permissivo, normalmente, cultura celular. Após um período de incubação, observa-se a cultura para verificar a presença de efeito citopático. Caso os anticorpos tenham se ligado ao vírus na primeira etapa, este será neutralizado e não irá infectar a cultura de células. Caso não tenham se ligado, o vírus permanecerá com a sua capacidade de causar infecção e irá agir na cultura de células. O teste pode ser utilizado tanto para identificação de vírus ou quanto avaliação do nível de anticorpos e possui capacidade de detectar anticorpos totais (IgM e IgG), sem distinção da classe de imunoglobulina.

3.2.4 Inibição da Hemaglutinação (HI)

Neste teste, quando um determinado vírus reage com o anticorpo específico a capacidade de hemaglutinação é bloqueada. Na primeira etapa do teste, o vírus que possui capacidade de hemaglutinação é adicionado ao anticorpo e misturado. Se houver ligação antígeno-anticorpo específico, o vírus perderá a capacidade de produzir hemaglutinação. Na segunda etapa, adiciona-se hemácias à mistura antígeno-anticorpo e, nesse caso, não irá ocorrer a hemaglutinação. Caso na primeira etapa ocorra o efeito contrário, ou seja, o anticorpo não seja específico para o vírus, não ocorrerá a ligação e ao ser adicionadas as hemácias, a capacidade de realização da hemaglutinação será mantida. O teste possui capacidade de detecção de anticorpos totais (tanto IgM quanto IgG).

3.2.5 Fixação do Complemento (FC)

O princípio do teste é em torno da ação lítica do complemento, que é ligado a um complexo antígeno-anticorpo. Na primeira etapa do teste realiza-se a incubação do antígeno, anticorpo e complemento previamente misturados. Se houver afinidade, os três irão ligar-se. Na segunda etapa, adiciona-se a primeira etapa um complexo formado por hemácia e anticorpo anti-hemácia, que possui atividade reveladora. Se houve ligação na primeira etapa, o complemento fixado não estará mais disponível para atuar com o complexo adicionado na segunda etapa e as hemácias não serão lisadas, indicando que o antígeno e o anticorpo da primeira etapa eram específicos

um para o outro. Caso na primeira etapa o anticorpo não seja específico para o antígeno, não haverá a formação de imunocomplexos, deixando o complemento livre e ativo na reação e quando houver a adição do revelador, as hemácias serão lisadas, indicando que o antígeno e o anticorpo da primeira etapa não eram específicos.

3.3 Resposta imunológica relacionada ao diagnóstico

Após a entrada do vírus no organismo, diversos fatores podem influenciar na resposta do anticorpo, como o histórico de vacinação, a individualidade genética, o histórico de infecções anteriores por vírus similares e não similares e até mesmo outros agentes infecciosos. As imunoglobulinas M (IgM) se desenvolvem rapidamente em apenas alguns dias após o início da infecção e geralmente, podem ser detectados até 3 meses após a infecção. Já as imunoglobulinas G (IgG) se desenvolvem dias após o IgM e podem ser detectáveis mesmo depois meses a anos da primo-infecção.

Com o advento e a consolidação do ELISA, os outros métodos foram deixados em segundo plano, o que tornou mais acessível a interpretação dos resultados no caso dos arbovírus e de outros vírus com tendência a realizarem reações cruzadas. Porém, os testes sorológicos não são desenvolvidos especificamente para cada um dos complexos antigênicos das famílias virais e as imunoglobulinas IgG e IgM podem reagir dentro de sorogrupos causando resultados falso-positivos ou ainda, como no caso dos anticorpos de IgG de *Flavivirus*, reagir de forma cruzada dentro dos sorocomplexos e ter propensão a reagir de forma cruzada com outros sorogrupos. Infecções anteriores ou vacinas também podem desencadear reação cruzada pelos anticorpos. Esses fatores combinados com uma grande variedade de síndromes com sintomatologia clínica semelhantes e a distribuição geográfica das doenças, dificulta muito a realização de um diagnóstico diferencial (CHARREL, 2016).

O diagnóstico sorológico através da pesquisa para anticorpos circulantes em sangue de pacientes com suspeita de arboviroses pode ser realizado através de diferentes técnicas sorológicas indireta, entretanto, essas metodologias que procuram o anticorpo de forma indireta podem reagir de forma cruzada, seja por anticorpos oriundos da resposta a uma infecção anterior ou os induzidos vacinalmente.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado com o objetivo de pesquisar na literatura especializada as principais formas de reação cruzada entre os arbovírus de maior importância em Saúde Pública no Brasil.

Baseou-se na busca sistematizada e hierarquizada de artigos em bases de dados eletrônicas consultadas no SciELO (*The Scientific Electronic Library Online*), LILACS (*Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde*) e MEDLINE (*Medical Literature Analysis and Retrieval System Online*) e, eventualmente, fontes do Portal da Biblioteca Virtual em Saúde (BVS).

Foram utilizadas palavras-chaves trilingues de acordo com os DeCS (*Descritores em Ciências da Saúde*) para localizar os artigos e definir quais as melhores estratégias para a pesquisa, como por exemplo: Busca na base eletrônica MEDLINE, onde foram encontrados 285 artigos: “*cross AND reaction AND arbovirus*”.

Os seguintes critérios foram utilizados para inclusão: 1) artigos publicados no período entre 2008 a 2018 e 2) publicações em linguagem portuguesa, inglesa ou espanhola; 3) arbovírus transmitidos por mosquitos e de importância em saúde pública.

Os artigos científicos não incluídos respeitaram os critérios de exclusão descritos a seguir: 1) artigos publicados antes do ano de 2008; 2) publicações escritas em qualquer outra língua não incluída entre as citadas nos critérios de inclusão; 3) estudos que não tenham como tema central arbovírus transmitidos por mosquitos e 4) estudos que não contenham arbovírus de importância médica no Brasil.

A seleção dos artigos foi realizada através de uma triagem a partir da leitura do título e resumo dos mesmos, considerando os critérios de inclusão e exclusão. Artigos idênticos foram excluídos e os demais foram lidos para composição e desenvolvimento do estudo.

Por se tratar de uma revisão bibliográfica do tipo sistemática, não houve necessidade de submissão do projeto ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

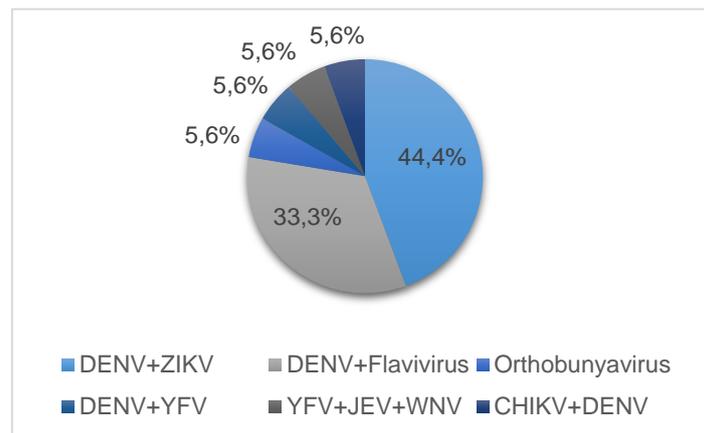
Após busca nas bases de dados eletrônicas MEDLINE, LILACS e SciELO, foram encontrados o total de 308 artigos. Inicialmente, os artigos foram selecionados a partir da triagem por títulos e resumos, totalizando 80 artigos, os demais foram

excluídos. Após leitura completa, 62 artigos foram excluídos e outros 18 foram selecionados para o estudo, pois atendiam aos critérios de elegibilidade previamente estabelecidos de acordo com os objetivos do trabalho.

5.1 Dados Bibliométricos

Dos 18 artigos incluídos neste trabalho, oito abordam especificamente a relação DENV-ZIKV (44,4%); seis abordam a relação entre DENV e outros *Flavivirus* (33,3%); apenas um aborda a relação dos *Orthobunyavirus* (5,6%); um entre DENV e YFV (5,6%), um entre YFV, JEV e WNV (5,6%) e um entre CHIKV e DENV (5,6%) (Figura 1).

Figura 1 – Porcentagem de artigos publicados de acordo com os tipos de interações imunológicas virais



A porcentagem da origem dos artigos por país é apresentada na **Tabela 1**:

Tabela 1 – Porcentagem da origem das publicações sobre o tema por país

PAÍS DE ORIGEM DA PUBLICAÇÃO	N° (%)
Estados Unidos	9 (50)
China	1 (5,55)
Bélgica	1 (5,55)
França	1 (5,55)
Singapura	1 (5,55)
Colômbia	1 (5,55)
Brasil	2 (11,11)
Reino Unido	2 (11,11)
Total	18 (100)

A frequência da ocorrência dos artigos foi separada pelos anos das publicações, conforme tabela 2:

Tabela 2 – Frequência das ocorrências de publicações sobre imunidade cruzada entre arbovírus por ano

FREQUÊNCIA DE OCORRÊNCIA	Nº (%)
2008	1 (5,55)
2009	-
2010	1 (5,55)
2011	1 (5,55)
2012	-
2013	1 (5,55)
2014	-
2015	1 (5,55)
2016	1 (5,55)
2017	6 (33,3)
2018	6 (33,3)
Total	18 (100)

Embora os vírus objetos deste estudo sejam considerados emergentes e de importância para a Saúde Pública, ao mesmo tempo são considerados negligenciados, pois há carência de estudos e de interesse por parte governamental para que esforços e investimentos sejam realizados para a disseminação do conhecimento a respeito deles cheguem à comunidade científica e à população. Nota-se que, mesmo se tratando de um assunto em evidência, poucos artigos foram encontrados e entraram para este estudo. É importante salientar que, embora a América do Sul seja considerada uma rota importante para os arbovírus e possui uma quantidade significativa de casos reportados, apenas três estudos dentre os 18 selecionados foram realizados na região, metade deles foram realizados nos Estados Unidos da América e os restantes estão distribuídos entre China, Bélgica, Singapura e Reino Unido.

Em relação à frequência das publicações é observado que a quantidade de estudos aumentou significativamente após as epidemias de ZIKV em 2015, apresentando maior número nos anos de 2017 e 2018.

5.2 Interação sorológica entre arbovírus

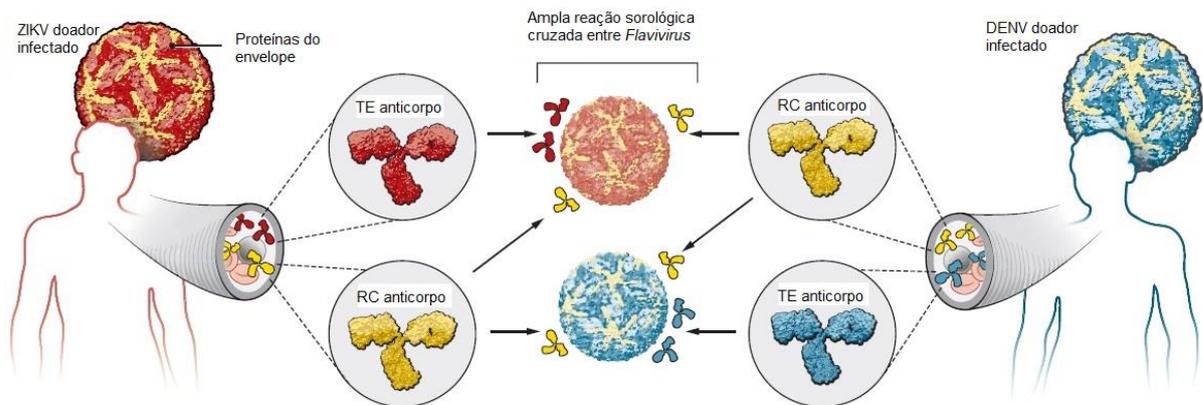
5.2.1 DENV – ZIKV

Barba-Spaeth et al., 2016 relatam que a proteína E do ZIKV é mais próxima da proteína E do DENV (54-57% de amino-ácidos conservados) e do WNV (53% de amino-ácidos conservados), podendo-se dizer que, por análise filogenética da proteína E, que o ZIKV é muito mais próximo do DENV do que qualquer outro *Flavivirus* e que, ainda, é muito mais correto dizer que pode ser considerado um quinto sorotipo, entretanto, o genoma remascente analisado coloca o ZIKV como outros *Flavivirus*.

Pessoas que possuem histórico de infecção prévia pelo DENV e produziram anticorpos contra a proteína NS1, ao se infectarem pelo ZIKV e produzirem anticorpos contra a proteína NS1 do ZIKV, irão apresentar alta taxa de reação cruzada, enquanto que pessoas não infectadas anteriormente apresentam menos reação cruzada. Vale salientar que a infecção prévia por DENV seguida pela infecção do ZIKV, irá aumentar os linfócitos B de memória reativa cruzada, aumentando a capacidade de neutralização dos flavivírus e induzindo capacidade neutralizante contra ZIKV e DENV. Entretanto, essa proteção cruzada pode não possuir longa duração ou pode ser diferente de acordo com os sorotipos de DENV e geralmente não persistem por mais do que 12 a 18 meses, o que pode não ser suficiente para causar uma imunidade de rebanho (RIBEIRO et al., 2018b). Na figura 2, pode-se observar esquematicamente algumas reações sorológicas cruzadas entre *Flavivirus* (SPEER; PIERSON, 2016).

Essa reação cruzada entre os anticorpos pode possuir diversas ações, como dificultar o diagnóstico, promover doença severa como ocorre nos casos de infecções recorrentes pelo DENV, neutralizar o ZIKV - como foi demonstrado por estudos realizados *in vitro* através de uma classe de anticorpo monoclonal humano isolado de pacientes com DENV ou ainda ação protetora, como foi avaliado em modelo murino infectado letalmente. Estudos que avaliem o potencial desses epítomos compartilhados, podem favorecer uma abordagem imunoterápica para o tratamento contra ZIKV ou ainda repropor vacinas contra o DENV que possuam imunidade cruzada protetora também contra o ZIKV (SWANSTROM et al., 2016).

Figura 2 – Reação sorológica cruzada entre *Flavivírus*



Fonte: Adaptado de SPEER, S. D.; PIERSON, T. C., 2016

Koishi et al. (2018) desenvolveram um teste de neutralização fluorescente baseado em imagem de alto rendimento para infecção por ZIKV através de detecção sorológica que apresentou melhor diagnóstico que o PRNT tradicional. O teste ainda apresentou menos reatividade cruzada do que o MAC-ELISA, com taxa menor equivalente a 50,53%. Sua utilização se demonstra eficaz para estudos de soroprevalência, ensaios clínicos de vacinas e para confirmação do diagnóstico clínico para a infecção pelo ZIKV.

Estudos experimentais realizados por McCracken et al. (2017) *in vivo* em macacos *Rhesus* previamente infectados e não previamente infectados com o DENV demonstrou que os soros de macacos imunes ao DENV apresentaram atividade de reação cruzada com o ZIKV quando submetidos a ensaios de ligação e neutralização de anticorpos antes da infecção pelo ZIKV e que foram capazes de exponenciar a infecção pelo ZIKV em cultura celular. Mesmo diante destes dados, não foram observadas diferenças que se considerem significativas entre animais *flavivirus-naive* e animais imunes em relação aos títulos virais, cinética de células imunes e níveis de anticorpos neutralizantes após a infecção pelo ZIKV, indicando que neste modelo de infecção por primata não-humano, os resultados por infecção prévia com flavivírus não foi capaz de conferir proteção e nem de aumentar os títulos observados de ZIKV.

Já os estudos realizados *in vivo* por George et al. (2017) utilizando também como modelo animal os macacos *Rhesus*, demonstrou que infecção prévia pelo ZIKV levou a um aumento significativo da viremia por DENV, acompanhado de um quadro clínico apresentando neutropenia, hiperglicemia, linfocitose, aumento na contagem de

reticulócitos e a ativação de monócitos pró-inflamatórios e liberação de mediadores inflamatórios.

Lopes et al. (2018) sugere que os estudos imunológicos sejam redesenhados e realizados levando-se em consideração as múltiplas variáveis que são capazes de influenciar na reação cruzada entre DENV e ZIKV, dentre eles a existência dos 4 sorotipos de DENV, a consistência de estudos realizados em modelos *in vivo*, realização de estudos em populações naïve ou com histórico de infecções por flavivírus, a avaliação da co-infecção ou imunidade contra outros flavivírus, a existência de anticorpos conservados ou específicos da Proteína E e fatores intrínsecos relacionados aos vírus, como mutações na sequência do gene do envelope viral, principalmente tentando reduzir a lacuna entre testes laboratoriais experimentais e as infecções naturais.

5.2.2 DENV – YFV

Num estudo realizado por HOUGHTON-TRIVINO; MONTANA; CASTELLANOS em 2008 com amostras positivas para YFV confirmadas pelo método de PRNT e posteriormente submetidas ao UMELISA para detecção de anticorpos IgG e IgM para análise. Entretanto, algumas delas ao serem submetidas ao UMELISA foram IgG negativas, sugerindo que os anticorpos IgM detectados pelo UMELISA eram oriundos de uma primo-infecção pelo DENV e que possuíam atividade de reação cruzada. Outra parte do estudo também realizou um teste com amostras negativas pra DENV IgM e que posteriormente os doadores receberam vacina contra YFV. Posteriormente à vacinação 8 de 19 amostras foram positivas para DENV no IgM, demonstrando a alta reatividade cruzada entre os anticorpos de DENV e YFV quando submetidos ao exame pelo método de ELISA. Ainda, demonstraram que alguns indivíduos saudáveis e que foram expostos à vacinação contra YFV apresentaram anticorpos neutralizantes, indicando um contato prévio com DENV e confirmando a reatividade cruzada.

5.2.3 *Peribunyaviridae*

Poucos estudos sorológicos foram realizados para avaliar a reatividade cruzada dos anticorpos entre os *Orthobunyavirus*, entretanto, Pauvalid-Corrêa et al. (2017)

citam alguns estudos que reportaram ação cruzada entre alguns membros desse grupo, como por exemplo, o Oriboca (ORIV) no teste de fixação de complemento, pode reagir de forma cruzada com o vírus Murutucu (MURV) e que o Nepuyo (NEPUV) em teste de neutralização realizado com soro imune de cobaia para diferentes membros do grupo *California*, o NEPUV reagiu fortemente com o soro imune de MURV e também com Caraparu (CARV), Marburg (MARV) e Itaqui (ITQV).

É de extrema importância a realização de estudos *in vitro* e *in vivo* destes vírus, visto que são a maior família viral e muitos de seus membros possuem atividade antroponozoonótica, com potencial de causar grandes epidemias, como o OROV, por exemplo.

5.3 Considerações sobre a imunidade cruzada e diagnóstico

Koishi et al. (2018) alega que o diagnóstico eficaz de ZIKV permanece como um desafio, pois a detecção do RNA viral por metodologia de PCR só é aplicável até alguns dias após o início dos sintomas, depois disso, testes sorológicos devem ser aplicados, porém, conforme esperado, pode ocorrer alta reação cruzada entre ZIKV e outros *Flavivirus*. O ideal, seria fechar o diagnóstico através da realização do teste PRNT, por ser mais específico, entretanto, trata-se de um exame de maior custo e que demanda maior tempo, se tornando um exame limitante.

Estudos ainda demonstram que o surgimento de novas epidemias e a proteção imunológica causada por elas, podem evidenciar novos vírus ou aumentar exponencialmente a quantidade de casos relacionados a vírus inseridos recentemente, os considerados emergentes, como por exemplo, ocorreu no estado da Bahia que, após a epidemia de ZIKV, passou a ter uma alta nos casos de CHIKV e queda nos casos de DENV, levantando a hipótese de que a população previamente exposta ao ZIKV apresentou imunidade cruzada ao DENV e evidenciando os casos de CHIKV (RIBEIRO et al., 2018a).

Esforços contínuos tem sido realizados para desenvolvimento de novas tecnologias com o objetivo de reduzir os erros no diagnóstico das arboviroses, pesquisadores tem feito esforços para identificar regiões peptídicas e resíduos de amino-ácidos das proteínas E e NS1 que sejam únicos para cada tipo de *Flavivirus*, que possam contribuir para o desenvolvimento de métodos sorológicos de diagnóstico para infecções prévias (LEE et al., 2017) e, ainda, Basile et al. em 2013 publicaram

um artigo que apresentava uma técnica inovadora com capacidade multiplex chamada BioPlex (Luminex) que, através de uma pequena porção de amostra pode realizar simultaneamente testes contra múltiplos agentes virais, o que pode ser muito vantajoso, pois os resultados são gerados ao mesmo tempo e sob as mesmas condições, diferentemente do ELISA. A plataforma desenvolvida tem capacidade para detectar flaviviruses como Dengue, Encefalite Japonesa, Powassan, Encefalite de Saint Louis, Oeste do Nilo e Febre Amarela; Alphaviruses como a Encefalite Equina do Leste, Mayaro, Chikungunya, Ross River, Encefalite Equina Venezuelana e alguns membros do sorogrupo C dos peribunyavirus, como La Crosse.

O diagnóstico indireto dos arbovírus, especialmente dos *Flavivirus*, *Alphavirus* e *Peribunyavirus* é parte de um grande desafio para a Saúde Pública. As tecnologias inovadoras desenvolvidas que poderiam auxiliar com maior eficácia os problemas relacionados à reatividade cruzada, possuem um alto custo e difícil acesso, necessitando de mão-de-obra especializada, laboratórios com alta capacidade tecnológica e ter disponível o painel viral correspondente aos anticorpos que se deseja pesquisar, o que torna ainda mais difícil a sua utilização em casos de epidemias.

Entretanto, faz-se necessário manter e aumentar os esforços já realizados para o desenvolvimento de novas tecnologias que melhorem as técnicas atualmente descritas e que possam fornecer um diagnóstico mais preciso, reduzir a mão-de-obra através de métodos automatizados, minimizando erros, custos e tempo diante da complexidade do diagnóstico das arboviroses.

Concordando com Collins et al. (2017), embora as epidemias de arboviroses possuam muitos desafios urgentes, há muitos aspectos que podem ser positivos, pois podem expandir drasticamente o nosso conhecimento da imunidade dos mesmos e ainda há muito o que aprender sobre a resposta vírus-específica e a dinâmica por trás das reações cruzadas de anticorpos, o desenho de vacinas eficazes e o desenvolvimento de testes sorológicos mais específicos e sensíveis diante dos mais diversos arbovírus descritos.

Por se tratarem de doenças subdiagnosticadas e subnotificadas, com alto potencial epidêmico e com sintomatologia clínica muito semelhante, o desenvolvimento de testes com maior acurácia e a realização de estudos que estabeleçam confiavelmente a relação entre estes vírus, faz-se de extrema importância.

6 CONCLUSÃO

- ✓ Existem poucos estudos sobre a imunidade cruzada entre os arbovírus. Muitos não são conclusivos, mas há evidências sobre a sua ocorrência;
- ✓ O maior número de artigos está relacionado à imunidade cruzada entre Dengue e Zika, e Dengue e outros Flavivírus;
- ✓ Pela possibilidade de reação cruzada, os exames sorológicos podem ser afetados;
- ✓ Estudos da interação vírus-anticorpo específico são necessários para o desenho de vacinas eficazes e o desenvolvimento de testes sorológicos mais específicos e que mantenham a alta sensibilidade.

REFERÊNCIAS

ASSUNÇÃO-MIRANDA, I.; CRUZ-OLIVEIRA, C.; POIAN, A. T. da. Molecular mechanisms involved in the pathogenesis of Alphavirus-induced arthritis. **Biomed Research International**, v. 2013, p. 1-11, 2013.

AZEVEDO, Raimunda do Socorro da Silva; OLIVEIRA, Consuelo Silva; VASCONCELOS, Pedro Fernando da Costa. Chikungunya risk for Brazil. **Revista de Saúde Pública**, [s.l.], v. 49, p.1-6, 2015. FapUNIFESP (SciELO).

BARBA-SPAETH, Giovanna et al. Structural basis of potent Zika–dengue virus antibody cross-neutralization. **Nature**, [s.l.], v. 536, n. 7614, p.48-53, ago. 2016. Springer Nature.

BASILE, Alison J. et al. Multiplex Microsphere Immunoassays for the Detection of IgM and IgG to Arboviral Diseases. **Plos One**, [s.l.], v. 8, n. 9, p.75670-75670, 25 set. 2013. Public Library of Science (PLoS).

BASTOS, Michele de Souza et al. Identification of Oropouche Orthobunyavirus in the Cerebrospinal Fluid of Three Patients in the Amazonas, Brazil. **The American Journal Of Tropical Medicine And Hygiene**, [s.l.], v. 86, n. 4, p.732-735, 1 abr. 2012. American Society of Tropical Medicine and Hygiene.

BHATT, Samir et al. The global distribution and burden of dengue. **Nature**, [s.l.], v. 496, n. 7446, p.504-507, 7 abr. 2013. Springer Nature.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Dengue: diagnóstico e manejo clínico: adulto e criança [recurso eletrônico]/Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. 5. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Febre amarela: guia para profissionais de saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2017.

BUNNING, Michel L. et al. Experimental Infection of Horses with West Nile virus. **Emerging Infectious Diseases**, [s.l.], v. 8, n. 4, p.380-386, abr. 2002. Centers for Disease Control and Prevention (CDC).

CARTER, HR. Yellow Fever: An Epidemiological and Historical Study of Its Place of Origin. Baltimore, MD: Williams & Wilkins; 1931.

CHARREL, Remi N.. Diagnosis of arboviral infections – A quagmire of cross reactions and complexities. **Travel Medicine And Infectious Disease**, [s.l.], v. 14, n. 1, p.11-12, jan. 2016. Elsevier BV.

CLETON, Natalie et al. Come fly with me: Review of clinically important arboviruses for global travelers. **Journal Of Clinical Virology**, v. 55, n. 3,

p.191-203, nov. 2012.

COLLINS, Matthew H. et al. Lack of Durable Cross-Neutralizing Antibodies Against Zika Virus from Dengue Virus Infection. **Emerging Infectious Diseases**, [s.l.], v. 23, n. 5, p.773-781, maio 2017. Centers for Disease Control and Prevention (CDC).

DICK, G.W.A; KITCHEN, S.F; HADDOW, A.J. Zika Virus (I). Isolations and serological specificity. **Transactions Of The Royal Society Of Tropical Medicine And Hygiene**, [s.l.], v. 46, n. 5, p.509-520, set. 1952. Oxford University Press (OUP).

FARIA, N. R. et al. Zika virus in the Americas: Early epidemiological and genetic findings. **Science**, [s.l.], v. 352, n. 6283, p.345-349, 24 mar. 2016. American Association for the Advancement of Science (AAAS).

FIGUEIREDO, Luiz Tadeu Moraes. Emergent arboviruses in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 2, p.224-229, abr. 2007.

FIGUEIREDO, Luiz Tadeu Moraes. The recent arbovirus disease epidemic in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [s.l.], v. 48, n. 3, p.233-234, jun. 2015. FapUNIFESP (SciELO).

GEBHARD, Leopoldo G.; FILOMATORI, Claudia V.; GAMARNIK, Andrea V.. Functional RNA Elements in the Dengue Virus Genome. **Viruses**, [s.l.], v. 3, n. 9, p.1739-1756, 15 set. 2011. MDPI AG.

GEORGE, Jeffy et al. Prior Exposure to Zika Virus Significantly Enhances Peak Dengue-2 Viremia in Rhesus Macaques. **Scientific Reports**, [s.l.], v. 7, n. 1, p.s/n, 5 set. 2017. Springer Nature.

HABY, Michelle M et al. Prevalence of asymptomatic Zika virus infection: a systematic review. **Bulletin Of The World Health Organization**, [s.l.], v. 96, n. 6, p.402-413, 27 abr. 2018. WHO Press.

HAYES, Edward B. et al. Virology, Pathology, and Clinical Manifestations of West Nile Virus Disease. **Emerging Infectious Diseases**, [s.l.], v. 11, n. 8, p.1174-1179, ago. 2005. Centers for Disease Control and Prevention (CDC).

HOUGHTON-TRIVINO, Natalia; MONTANA, Diana; CASTELLANOS, Jaime. Dengue-yellow fever sera cross-reactivity; challenges for diagnosis. **Rev. salud pública**, Bogotá , v. 10, n. 2, p. 299-307, maio 2008.

KOISHI, Andrea Cristine et al. Development and evaluation of a novel high-throughput image-based fluorescent neutralization test for detection of Zika virus infection. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [s.l.], v. 12, n. 3, p.e0006342, 15 mar. 2018. Public Library of Science (PLoS).

LANCIOTTI, Robert S. et al. Genetic and Serologic Properties of Zika Virus Associated with an Epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. **Emerging Infectious Diseases**, [s.l.], v. 14, n. 8, p.1232-1239, ago. 2008. CDC.

LAVERGNE, A. et al. Mayaro virus: complete nucleotide sequence and phylogenetic relationships with other alphaviruses. **Virus Research**, v. 117, n. 2, p. 283-290, 2006.

LEE, Alexandra J. et al. Identification of diagnostic peptide regions that distinguish Zika virus from related mosquito-borne Flaviviruses. **Plos One**, [s.l.], v. 12, n. 5, p.e0178199, 31 maio 2017. Public Library of Science (PLoS).

LIANG, Guodong; GAO, Xiaoyan; A GOULD, Ernest. Factors responsible for the

emergence of arboviruses; strategies, challenges and limitations for their control. **Emerging Microbes & Infections**, [s.l.], v. 4, n. 3, p.18-18, mar. 2015. Informa UK Limited.

LOPES, Nayara; NOZAWA, Carlos; LINHARES, Rosa Elisa Carvalho. Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil. **Rev Pan-Amaz Saude**, Ananindeua, v. 5, n. 3, p. 55-64, set. 2014.

LOPES, Thaísa Regina Rocha et al. Dengue in Brazil in 2017: what happened?. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, [s.l.], v. 60, p.e43, 20 ago. 2018. FapUNIFESP (SciELO).

LUCCHESI, Guglielmo; KANDUC, Darja. Zika virus and autoimmunity: From microcephaly to Guillain-Barré syndrome, and beyond. **Autoimmunity Reviews**, [s.l.], v. 15, n. 8, p.801-808, ago. 2016. Elsevier BV.

MACNAMARA, F.N. Zika virus: A report on three cases of human infection during an epidemic of jaundice in Nigeria. **Transactions Of The Royal Society Of Tropical Medicine And Hygiene**, [s.l.], v. 48, n. 2, p.139-145, mar. 1954. Oxford University Press (OUP).

MARTINS, Livia Carício et al. First isolation of West Nile virus in Brazil [Submitted]. **Mem Inst Oswaldo Cruz**. E-pub: 16 Jul 2018.

MCCRACKEN, Michael K. et al. Impact of prior flavivirus immunity on Zika virus infection in rhesus macaques. **Plos Pathogens**, [s.l.], v. 13, n. 8, p.e1006487, 3 ago. 2017. Public Library of Science (PLoS).

MOTA, Mânlio Tasso de Oliveira et al. Mayaro virus: a neglected arbovirus of the Americas. **Future Virology**, [s.l.], v. 10, n. 9, p.1109-1122, set. 2015. Future Medicine Ltd.

MOTA, Mânlio Tasso de Oliveira et al. Mosquito-transmitted viruses – the great Brazilian challenge. **Brazilian Journal Of Microbiology**, [s.l.], v. 47, p.38-50, dez. 2016. Springer Nature.

MOURÃO, Maria Paula Gomes et al. Arboviral diseases in the Western Brazilian Amazon: a perspective and analysis from a tertiary health & research center in Manaus, State of Amazonas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [s.l.], v. 48, n. 1, p.20-26, jun. 2015. FapUNIFESP (SciELO).

NUNES, Marcio Roberto Teixeira et al. Emergence and potential for spread of Chikungunya virus in Brazil. **Bmc Medicine**, [s.l.], v. 13, n. 1, p.1-10, 30 abr. 2015. Springer Nature.

NUNES, Márcio Roberto Teixeira et al. Oropouche Virus Isolation, Southeast Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, [s.l.], v. 11, n. 10, p.1610-1613, out. 2005. Centers for Disease Control and Prevention (CDC).

OSTLUND, Eileen N. et al. Equine West Nile Encephalitis, United States. **Emerging Infectious Diseases**, [s.l.], v. 7, n. 4, p.665-669, ago. 2001. Centers for Disease Control and Prevention (CDC).

PAUVOLID-CORRÊA, Alex et al. Neutralizing antibodies for orthobunyaviruses in Pantanal, Brazil. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [s.l.], v. 11, n. 11, p.e0006014, 1 nov. 2017. Public Library of Science (PLoS).

POSSAS, Cristina et al. Yellow fever outbreak in Brazil: the puzzle of rapid viral spread and challenges for immunisation. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s.l.], v. 113, n. 10, p.e180278, 3 set. 2018. FapUNIFESP (SciELO).

PINHEIRO, Francisco de Paula et al. Epidemia de virus Oropouche em

Belém. **Rev. Serv. Saúde públ.** (Rio de J.), 12(1):15-23, 1962.

PINHEIRO, Francisco P. et al. Oropouche Virus. **The American Journal Of Tropical Medicine And Hygiene**, [s.l.], v. 30, n. 1, p.149-160, 1 jan. 1981. American Society of Tropical Medicine and Hygiene.

RIBEIRO, Guilherme S et al. Can Zika virus antibodies cross-protect against dengue virus? – Authors' reply. **The Lancet Global Health**, [s.l.], v. 6, n. 5, p.495-495, maio 2018b. Elsevier BV.

RIBEIRO, Guilherme Sousa et al. Does immunity after Zika virus infection cross-protect against dengue? **The Lancet Global Health**, [s.l.], v. 6, n. 2, p.140-141, fev. 2018a. Elsevier BV.

ROBINSON, M. C. An epidemic of virus disease in Southern Province, Tanganyika Territory, in 1952–53. I. Clinical features. **Trans R Soc Trop Med Hyg.** 1955;49:28–32.

RODRIGUEZ-MORALES, A. J. et al. How many patients with post-chikungunya chronic inflammatory rheumatism can we expect in the new endemic areas of Latin America? **Rheumatology International**, [s.l.], v. 35, n. 12, p.2091-2094, 5 jun. 2015. Springer Nature.

ROSA, Jorge Fernando Travassos da et al. Oropouche Virus: Clinical, Epidemiological, and Molecular Aspects of a Neglected Orthobunyavirus. **The American Journal Of Tropical Medicine And Hygiene**, [s.l.], p.16-0672, 6 fev. 2017. American Society of Tropical Medicine and Hygiene.

ROSS, R. W. The Newala epidemic. III. The virus: isolation, pathogenic properties and relationship to the epidemic. **J Hyg (Lond)**, v. 54, n.2, p.177–191, 1956.

SMITHBURN, K. C. et al. A Neurotropic Virus Isolated from the Blood of a Native of Uganda 1. **The American Journal Of Tropical Medicine And Hygiene**, [s.l.], v. 1-20, n. 4, p.471-492, 1 jul. 1940. American Society of Tropical Medicine and Hygiene.

SPEER, S. D.; PIERSON, T. C.. Diagnostics for Zika virus on the horizon. **Science**, [s.l.], v. 353, n. 6301, p.750-751, 18 ago. 2016. American Association for the Advancement of Science (AAAS).

SWANSTROM, J. A. et al. Dengue Virus Envelope Dimer Epitope Monoclonal Antibodies Isolated from Dengue Patients Are Protective against Zika Virus. **Mbio**, [s.l.], v. 7, n. 4, p.e0112316, 19 jul. 2016. American Society for Microbiology.

VASCONCELOS, Helena Baldez et al. Molecular Epidemiology of Oropouche Virus, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 5, p.800-806, maio 2011.

VASCONCELOS, Pedro F.C.; CALISHER, Charles H.. Emergence of Human Arboviral Diseases in the Americas, 2000–2016. **Vector-borne And Zoonotic Diseases**, v. 16, n. 5, p.295-301, maio 2016.

VIEIRA, Marcelo A. C. S. et al. West Nile Virus Encephalitis: The First Human Case Recorded in Brazil. **The American Journal Of Tropical Medicine And Hygiene**, [s.l.], v. 93, n. 2, p.377-379, 5 ago. 2015. American Society of Tropical Medicine and Hygiene.

XAVIER, Analúcia R. et al. Clinical and laboratory diagnosis of Zika fever: an update. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, [s.l.], v. 53, n. 4, p.252-257, 2017. GN1 Genesis Network.

ZANLUCA, Camila et al. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s.l.], v. 110, n. 4, p.569-572, 9 jun. 2015. FapUNIFESP (SciELO).