

CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO

Curso de Biomedicina

Natalia de Vasconcelos Durazzo

**POSSÍVEIS MUTAÇÕES NAS ESTIRPES DO VÍRUS ZIKA
FAVORECEM A SUA VIRULÊNCIA E TRANSMISSÃO?**

São Paulo

2019

Natalia de Vasconcelos Durazzo

**POSSÍVEIS MUTAÇÕES NAS ESTIRPES DO VÍRUS ZIKA
FAVORECEM A SUA VIRULÊNCIA E TRANSMISSÃO?**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Biomedicina do
Centro Universitário São Camilo,
orientado pela Profa. Dra. Beatriz
Helena Pizarro De Lorenzo, como
requisito parcial para obtenção do título
de Bacharel em Biomedicina.

São Paulo

2019

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Padre Inocente Radrizzani

Durazzo, Natalia de Vasconcelos

Possíveis mutações nas estirpes do vírus Zika favorecem a sua virulência e transmissão? / Natalia de Vasconcelos Durazzo. -- São Paulo: Centro Universitário São Camilo, 2019.

41 p.

Orientação de Beatriz Helena Pizarro De Lorenzo.

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação), Centro Universitário São Camilo, 2019.

1. Filogenia 2. Poliproteínas 3. Surtos de doenças 4. Transmissão de doença infecciosa 5. Zika vírus I. De Lorenzo, Beatriz Helena Pizarro II. Centro Universitário São Camilo III. Título

CDD: 616.9

Natalia de Vasconcelos Durazzo

**POSSÍVEIS MUTAÇÕES NAS ESTIRPES DO VÍRUS ZIKA
FAVORECEM A SUA VIRULÊNCIA E TRANSMISSÃO?**

São Paulo, 23 de maio de 2019



Professor Orientador

Professor Examinador

Resumo

Vírus Zika (ZIKV) é da família *Flaviviridae*, gênero *Flavivirus*, e o seu genoma é constituído por uma molécula de RNA, fita simples e de sentido positivo. A sua transmissão dá-se pela picada de mosquitos infectados, principalmente pelos mosquitos *Aedes aegypti* (comum nos trópicos e subtrópicos) e *Aedes albopictus* (encontrado principalmente no Mediterrâneo). Em setembro de 2015, começaram a surgir relatos de aumento no número de bebês nascidos com microcefalia nas áreas afetadas pelo ZIKV. Em 1º de fevereiro de 2016, a Organização Mundial de Saúde (OMS) declarou que o surto do ZIKV constituía uma emergência internacional de saúde pública devido à possível ligação à microcefalia e outras síndromes neurológicas. Apenas casos humanos esporádicos relacionados ao ZIKV foram registrados até o ano de 2007 com destaque para circulação do vírus por países da Oceania e a epidemia na Polinésia Francesa. Desde então, o vírus foi detectado em um ritmo crescente em vários países da América do Sul, Central e Caribe. A razão para o surgimento súbito e ampla disseminação do ZIKV permanece indefinida. Há a hipótese de que uma evolução na adaptação do ZIKV ao seu vetor levou à transmissão eficiente do vírus pelos mosquitos *Aedes*, dificultando a diferenciação dessas espécies causando a doença no humano. Situação semelhante foi observada no vírus chikungunya (CHIKV).

Descritores: ZIKV, genoma ZIKV, surto de doenças, filogenia, transmissão de doenças infecciosas, poliproteínas.

Abstract

Zika virus (ZIKV) is a virus of the genus *Flavivirus* among the *Flaviviridae* and the genome containing the single-stranded positive-strand viral RNA. Is transmitted by the bite of mosquitoes infected, mainly by *Aedes aegypti* (common in tropics and subtropics) and *Aedes albopictus* (found mainly in the Mediterranean). In September of 2015, there have been reports of an increase in the number of babies borned with microcephaly in the areas affected by zika virus. On February 1, 2016, the World Health Organization stated that the zika virus outbreak constituted an international public health emergency due to the possible link to microcephaly and others neurologicals syndromes. Only human cases related to zika virus were registered until 2007 with the circulation of the virus by Oceania countries and the epidemic in Polynesia French. Since then, the virus has been detected at an increasing rate in several countries of South and Central Americas and Caribbean. The reason for sudden onset and wide dissemination of the ZIKV remains undefined. It is hypothesized that an evolution in the adaption of the ZIKV to the vector led to the efficient transmission of the virus, hindering the differentiation of these species causing the disease in humans. A similar situation was observed in the chikungunya virus (CHIKV).

Keywords: ZIKV, phylogenetic, epidemic, phylogeny, transmission, transmission of infectious diseases, polyprotein.

Lista de ilustrações

Figura 1 - Circulação do vírus zika no Pacífico: FSM (Estados Federados da Micronésia, 2007), FP (Polinésia Francesa, 2013/2014), NC (Nova Caledônia, 2014), CI (Ilhas Cook, 2014), EI (Ilha Ester, 2014).....	15
Figura 2 - Áreas com transmissão do ZIKV, Américas e África, 2016.	16
Figura 3 - Ciclo silvestre e urbano da transmissão do vírus zika.....	19
Figura 4 - Estados onde foram confirmados casos de zika vírus, Brasil, 2015.	22
Figura 5 - Proteínas estruturais e proteínas NS.	24
Figura 6 - Sequência genômica do ZIKV.....	25
Figura 7 - Análise filogenética das estirpes do ZIKV.	29
Figura 8 - Relações filogenéticas entre as sequências genéticas do envelope do Suriname ZIKV e outros ZIKV.	30
Figura 9 - Diagrama comparativo do genoma do BLAST Atlas do ZIKV	31

Lista de abreviaturas

aa – Aminoácidos

Ae – *Aedes*

C – Capsídeo

CHIKV – Vírus Chikungunya

CSs – Sequências Conservadas

DEN – Dengue

E – Envelope

GBS – Síndrome de Guillain Barré

kb – kilobases

MTase – Metiltransferase

nt - Nucleotídeos

NSs – Proteínas Não Estruturais

OMS – Organização Mundial da Saúde

ORF – Fase de Leitura Aberta

PCR – Reação por Cadeia de Polimerase

PrM – Pré-Membrana

RDRP – RNA Polimerase Dependente de RNA

RGN – Rio Grande do Norte

RNA – Ácido Ribonucleico

RT-PCR – Transcrição Reversa por Reação em Cadeia de Polimerase

SNC – Sistema Nervoso Central

UTRs – Regiões Não Traduzidas

WNV – Vírus do Nilo Ocidental

ZIKV – Vírus Zika

Sumário

1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVO	11
3 METODOLOGIA	12
4 DESENVOLVIMENTO	13
4.1 Histórico e epidemiologia	13
4.1.1 O ZIKV e sua transmissão	18
4.1.1.1 Transmissão silvestre e em ambientes urbanos	18
4.1.1.2 Transmissão vertical e fluídos corporais infectantes.....	20
4.2 Surto do ZIKV no Brasil.....	21
4.2.1 ZIKV e a saúde pública no Brasil	22
4.3 Genoma estrutural do ZIKV	23
4.3.1 Padrão evolutivo do ZIKV	28
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	35
6 REFERÊNCIAS.....	37

1 INTRODUÇÃO

Vírus zika (ZIKV) é da família *Flaviviridae* e do gênero *Flavivirus*. Foi inicialmente isolado em 1947 a partir de uma amostra de sangue de um macaco *rhesus*, que servia de sentinela para estudo de vigilância da febre amarela na floresta Zika de Uganda (LANCIOTTI et al., 2008).

A partir da análise filogenética do genoma viral, observou-se que, provavelmente, o vírus surgiu na floresta Zika, em torno de 1920, originando duas linhagens africanas. Além disso, originou-se a linhagem asiática em torno de 1940, devido à migração do vírus para a Ásia, ocasionando os surtos na Indonésia e a epidemia nos Estados Federados da Micronésia. Essa linhagem também é responsável pelos casos relatados de transmissão autóctone deste vírus no Brasil (PINTO JUNIOR et al., 2015; SHEN, et al., 2016).

Posteriormente, na década de 1960, o ZIKV foi isolado de mosquitos *Aedes aegypti*, inicialmente na Malásia. Depois, em vários países da Ásia, confirmando que esse arbovírus também ocorria fora do continente africano. Na maioria, causava doenças febris agudas e autolimitadas, com cefaleia, mialgia e erupção cutânea, semelhantes às causadas por muitos outros arbovírus encontrados nos trópicos (DESAI et al., 2017).

A razão para o surgimento súbito e ampla disseminação do ZIKV permanece indefinida. Há a hipótese de que uma evolução na adaptação do ZIKV ao seu vetor levou à transmissão eficiente do vírus pelos mosquitos *Aedes*, dificultando a diferenciação dessas espécies e causando a doença no humano. Situação semelhante foi observada com o vírus chikungunya (CHIKV) (OLIVEIRA; VASCONCELOS, 2016).

O CHIKV, um arbovírus, mostrou sofrer uma série de mutações que levaram à substituição da glicoproteína do envelope. Isso, por sua vez, aumentou a transmissão viral, já que esse poderia infectar os mosquitos *Aedes albopictus* de forma eficiente. Portanto, o início súbito dos surtos de ZIKV levantou questões sobre a evolução genética do mesmo (OLIVEIRA; VASCONCELOS, 2016).

Segundo OLIVEIRA; VASCONCELOS (2016), em setembro de 2015 surgiram relatos de aumento no número de bebês nascidos com microcefalia nas áreas

afetadas pelo ZIKV. Em 1º de fevereiro de 2016, a Organização Mundial de Saúde (OMS) declarou que o surto do ZIKV constituía uma emergência internacional de saúde pública, devido à possível ligação à microcefalia e a outras síndromes neurológicas. A declaração da OMS representa seu mais alto nível de alerta que só foram invocadas outras três vezes até 2018 - em 2009, durante a epidemia de Influenza H1N1, em maio de 2014, quando a poliomielite ressurgiu no Paquistão e na Síria, e em agosto de 2014, com o vírus Ebola.

O diagnóstico pode ser feito com segurança em uma epidemia causada apenas pelo ZIKV. Infelizmente, esse quadro clínico poderia ser facilmente confundido com febres de dengue (DEN) ou CHIKV, duas infecções arbovirais comuns e que também são epidêmicas nas Américas, podendo então confundir o diagnóstico clínico. Testes específicos para DEN e CHIKV nem sempre estão disponíveis, e testes comerciais para o ZIKV ainda não foram desenvolvidos. Além disso, como o ZIKV está intimamente relacionado à dengue, as amostras sorológicas podem reagir de forma cruzada em testes para qualquer um dos vírus. O diagnóstico é confirmado pela detecção do genoma viral por amplificação genômica (RT-PCR – Transcrição Reversa a partir da Reação em Cadeia de Polimerase) e isolamento viral (DESAI et al., 2017).

Como a infecção por ZIKV está se espalhando de forma rápida e com grande potencial de prejudicar a saúde pública, é preciso identificar os mecanismos de transmissão do agente infeccioso e, além disso, considerar os possíveis polimorfismos que tenha sofrido no seu genoma ao longo de décadas, para entendermos o motivo do aumento da sua virulência e potencial para desencadear surtos em países como o Brasil (DESAI, et al., 2017).

2 OBJETIVO

A partir da revisão bibliográfica em bases de dados e bibliotecas científicas, objetiva-se analisar e discutir a história do ZIKV, seu genoma, com foco nas principais proteínas estruturais e suas funções. Também avaliar as possíveis mutações do ZIKV e entender como e se estão relacionadas à sua evolução, fazendo com que esse vírus se tornasse uma das principais preocupações de saúde pública mundial.

3 METODOLOGIA

O trabalho foi desenvolvido por meio de revisão bibliográfica utilizando livros para maior esclarecimento de assuntos relacionados aos temas de biologia molecular e microbiologia, em idioma português, disponíveis na biblioteca Pe. Inocente Radrizzani do Centro Universitário São Camilo *campus* Ipiranga. Também foram utilizados artigos científicos sobre a temática, acessados nas bases de dado Scielo, PubMed e Google Acadêmico, publicados nos últimos 11 anos (2007 a 2018). Os artigos estavam nos idiomas português, inglês ou espanhol, a maioria com disponibilidade online do texto completo. Os seguintes descritores foram aplicados: ZIKV, genoma ZIKV, surto de doenças, filogenia, transmissão de doenças infecciosas, poliproteínas.

4 DESENVOLVIMENTO

4.1 Histórico e epidemiologia

No final da década de 1940, estudos proporcionaram a detecção dos primeiros casos de infecção por ZIKV em seres humanos a partir de seu isolamento na Uganda (PINTO JUNIOR et al., 2015).

Nos anos seguintes, dados sorológicos indicaram infecções por ZIKV no continente africano e, os principais locais afetados foram a Nigéria em 1971 e 1975, Serra Leoa em 1972, Gabão em 1975, Uganda em 1969 e 1970, República Centro-Africana, em 1979, no Senegal de 1988 a 1991 e na Costa, do Marfim em 1999 (FAYE et al, 2014).

Já no fim da década de 1970, houve a primeira evidência da circulação do vírus fora do continente africano, devido aos casos de doença febril aguda relatados na Indonésia, onde foram encontrados anticorpos anti-ZIKV no soro de 30 pacientes. Também, foram documentadas duas epidemias causadas pelo ZIKV na Federação dos Estados da Micronésia, mais especificamente na ilha de Yap, na última década. Com isso, a doença disseminou-se pelas ilhas do Oceano Pacífico (Polinésia Francesa), onde foram detectados novos casos em 2013, que evoluíram para uma epidemia (PINTO JUNIOR et al., 2015).

O surto na Polinésia Francesa resultou em aproximadamente 28000 casos, o que se estima ser 11% da população da ilha. Neste surto, a maioria dos pacientes apresentou uma doença leve caracterizada por febre baixa, erupção maculopapular, artralgia e conjuntivite. Porém, meses depois um paciente com confirmação de infecção aguda pelo ZIKV foi diagnosticado com Síndrome de Guillain-Barre (GBS). Esta é considerada autoimune, e afeta o sistema nervoso causando paralisia flácida aguda ou subaguda. Posteriormente, houve casos subsequentes de GBS correlacionados temporalmente com o surto de ZIKV, e as taxas de incidência equivalem a 1-2/100000 da população, ou seja, 1 ou 2 indivíduos a cada 100000 apresentava GBS (MUSSO; NILLES; CAO - LORMEAU, 2014).

Segundo CALVELT et al. (2016) o surto do ZIKV em 2015 no Brasil sugere que os casos de microcefalia podem estar associados a esse vírus, visto que nesse

ano a incidência de microcefalia no país foi 20 vezes maior quando comparada aos anos anteriores. Porém, é válido ressaltar que a microcefalia congênita pode estar associada a outros fatores como, por exemplo, fatores genéticos ou até mesmo outros agentes causadores.

Além disso, CALVELT et al. (2016) resalta que há dados epidemiológicos até 6 de janeiro de 2016, indicando a notificação de 4783 casos em 21 estados das regiões Norte, Nordeste, Sul e Sudeste do Brasil.

Análises filogenéticas foram feitas e demonstraram que a linhagem que causou o surto na Polinésia Francesa estava relacionada com estirpes na ilha de Yap de 2007, corroborando a expansão da linhagem asiática do ZIKV (MUSSO; NILLES; CAO - LORMEAU, 2014).

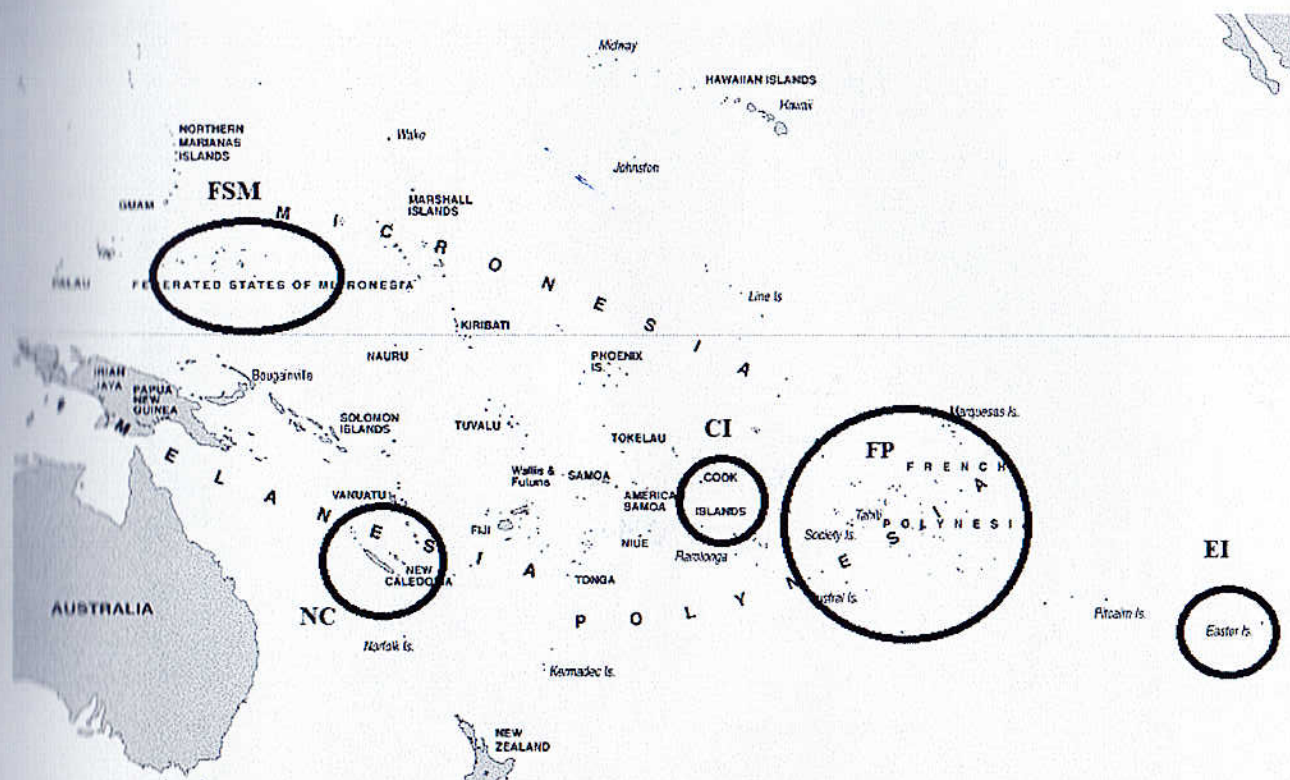
Também foram relatados, casos esporádicos no Sudeste Asiático, incluindo Malásia, Indonésia, Índia, Camboja, Paquistão, Filipinas, Cingapura, Tailândia e Vietnã, antes da epidemia no mês de abril de 2007, na ilha de Yap nos Estados Federados da Micronésia (SAMPATHKUMAR et al., 2016).

Esse surto pela infecção do ZIKV na ilha de Yap foi o primeiro documentado. O ZIKV demonstrou o seu potencial como uma doença emergente, que poderia ser diagnosticada erroneamente como DEN, o que aconteceu durante o início do surto dos Estados Federados da Micronésia (FAYE et al., 2014).

Apenas casos humanos esporádicos relacionados ao ZIKV foram registrados até o ano de 2007 com destaque para circulação do vírus por países da Oceania e a epidemia na Polinésia Francesa, outro grande surto notável, pois pela primeira vez a maioria dos casos clínicos apresentava uma doença leve associada com a GBS (Síndrome de Guillain Barré). (LUZ; SANTOS; VIEIRA, 2015).

Após o surto na Polinésia Francesa, no final de 2013, ocorreram surtos subsequentes na Nova Caledônia, nas Ilhas Cook e na Ilha de Páscoa (figura 1) (MUSSO; NILLES; CAO - LORMEAU, 2014).

Figura 1 - Circulação do vírus zika no Pacífico: FSM (Estados Federados da Micronésia, 2007), FP (Polinésia Francesa, 2013/2014), NC (Nova Caledônia, 2014), CI (Ilhas Cook, 2014), EI (Ilha Eater, 2014).



Fonte: (MUSSO; NILLES; CAO-LORMEAU, 2014).

Houve poucos surtos causados pelo ZIKV antes daquele ocorrido em maio de 2015 no Brasil. Desde então, o vírus foi detectado em ritmo crescente em vários países da América do Sul, Central e Caribe (figura 2) (SAMPATHKUMAR et al., 2016).

Figura 2 - Áreas com transmissão do ZIKV, Américas e África, 2016.



Fonte: (SAMPATHKUMAR et al.,2016).

PANWAR; SINGH (2018) fizeram uma revisão histórica da distribuição do ZIKV pelo mundo, que pode ser observada na Tabela 1.

Tabela 1 - Revisão histórica do ZIKV.

Eventos principais	Ano
Primeira confirmação do ZIKV em um macaco rhesus perto da floresta Zika de Uganda.	1947
Reconhecimento de um vírus no mosquito <i>Aedes africanus</i> na floresta Zika.	1948
Detecção de anticorpos no primeiro ser humano para zika em partes do Uganda e da República Unida da Tanzânia.	1951
Identificação do ZIKV em vários países, como República Centro-Africana, Serra Leoa, Egito, Tanzânia, Gabão, Angola, Libéria, Costa do Marfim, Índia, Paquistão, Indonésia, Vietnã e Quênia.	1952 a 1984
Primeiro surto provocado pelo zika em humanos nas Ilhas Yap nos Estados Federados da Micronésia.	2007
A comunidade de pesquisa explica as linhagens de vírus Zika africanos e asiáticos; continuidade da transmissão do ZIKV por outros locais, como Camarões, Maldivas, Filipinas e Tailândia.	2010 a 2012
O segundo surto de zika é detectado na Polinésia Francesa, seguindo na Caledônia, nas Ilhas Cook e na Ilha de Páscoa.	2013 a 2014
15 de maio, o Ministério da Saúde confirma a presença e a rápida circulação do ZIKV no Brasil e nas Américas; no final de dezembro, a transmissão local da infecção é relatada em mais de 45 países, incluindo Aruba, Bonaire, Cabo Verde, Colômbia, Curaçau, Costa Rica, República Dominicana, Guiana Francesa, Guatemala, Haiti, Jamaica, México, Paraguai, Samoa, Saint Martin, Suriname, Tonga e Venezuela; Segundo relatos, surtos de ZIKV também são detectados em alguns países europeus, como Dinamarca, Alemanha, Itália, França, Holanda, Espanha, Suíça, Reino Unido e Suécia.	2015
Fevereiro, a Organização Mundial da Saúde declara o surto ZIKV como uma emergência de saúde pública de preocupação internacional; Março, o Ministério da Saúde de Bangladesh confirma o primeiro caso de infecção por zika; Ministério da Saúde de Cingapura e Agência Nacional do Meio Ambiente anuncia um total de 90 casos de infecção por ZIKV transmitida de forma autóctone.	2016
Maio, o Ministério da Saúde e Bem-Estar Familiar, Governo da Índia tem evidência de surto de ZIKV em Ahmedabad, Gujarat.	2017

Fonte: Modificado de (PANWAR; SINGH, 2018).

4.1.1 O ZIKV e sua transmissão

O ZIKV pertence ao gênero *Flavivirus*, família *Flaviviridae*, e o seu genoma é constituído por uma molécula de RNA, fita simples e de sentido positivo. A sua transmissão dá-se pela picada de mosquitos infectados, principalmente pelos mosquitos *Aedes aegypti* (comum nos trópicos e subtropicais) e *Aedes albopictus* (encontrado principalmente no Mediterrâneo). Já na Polinésia Francesa, foi visto que o *Aedes polynesiensis* pode contribuir para a transmissão do ZIKV; no entanto, existe a possibilidade de transmissão pela via sexual, por transfusão sanguínea e neonatal, que serão discutidas mais adiante (LUZ; SANTOS; VIEIRA, 2015).

A transmissão do ZIKV por mosquitos como *A. aegypti* e *A. albopictus* impõe grande preocupação para a saúde pública, pois estes artrópodes encontram-se amplamente distribuídos em zonas tropicais, subtropicais (*A. aegypti*) e temperadas (*A. albopictus*), abrangendo um enorme número de indivíduos suscetíveis (PINTO JUNIOR et al., 2015).

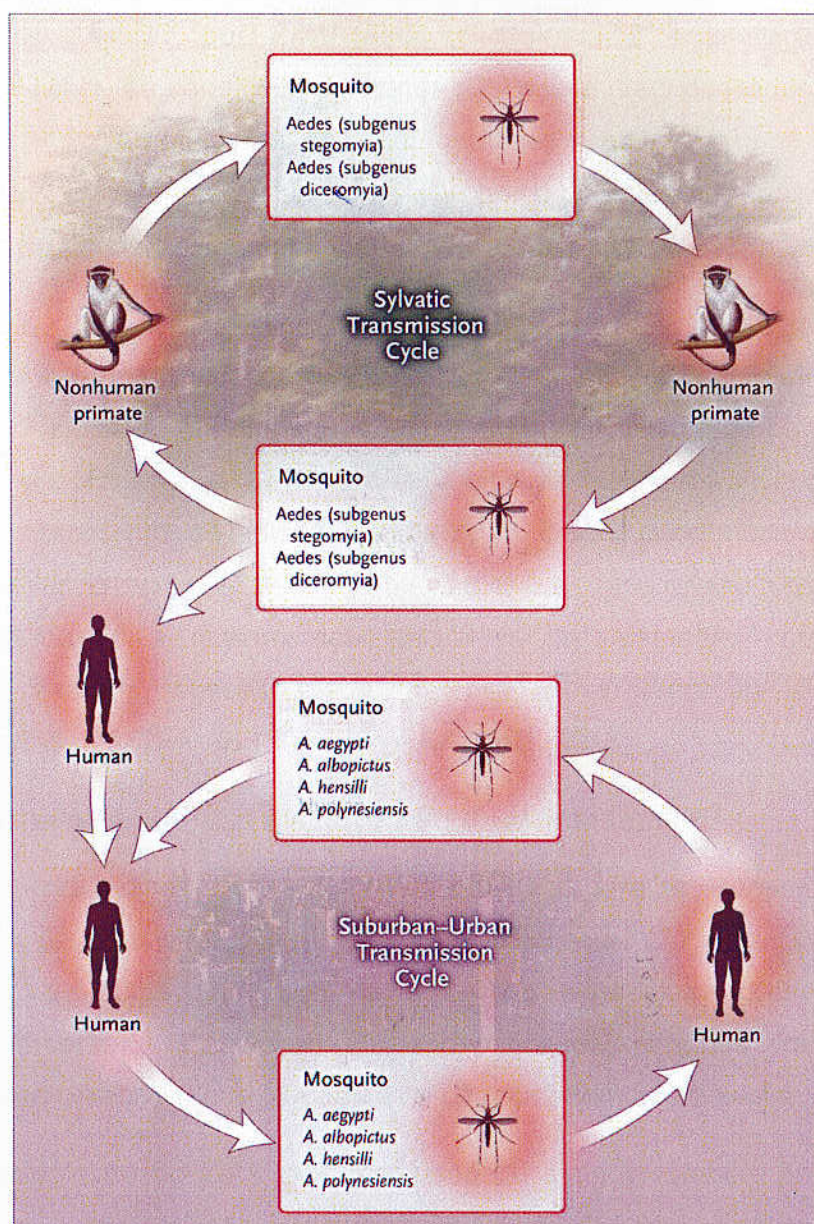
Os dois principais mosquitos (*A. aegypti* e *A. albopictus*) que possuem grande relevância nos surtos causados pelo ZIKV apresentaram baixa competência vetorial, ou seja, baixa habilidade intrínseca do vetor para transmitir um agente, no caso o ZIKV (PETERSEN et al., 2016).

As principais regiões de transmissão são as que apresentam grande número das espécies *A. aegypti* e *A. albopictus*, como Ásia, África, América e Europa (norte da Áustria, a França, Alemanha e Espanha). Porém, além dessas, há outras com potencial de transmissão preocupante como *A. taylori*, *A. africanus*, *A. furcifer*, *A. vittatus*, *A. polynesiensis*, *A. dalzieli*, *A. hirsutus* e *A. metallicusform*, que já foram identificadas como vetores virais (PANWAR; SINGH, 2018).

4.1.1.1 Transmissão silvestre e em ambientes urbanos

Há dois possíveis ciclos de transmissão do ZIKV a partir do mesmo vetor, o mosquito. O ciclo silvestre envolve primatas não humanos e espécies de mosquitos *Aedes* citados acima e esse ciclo acontece principalmente na África. Já em ambientes urbanos e suburbanos, acontece o ciclo de transmissão humano-mosquito-humano (figura 3) (PETERSEN et al., 2016).

Figura 3 - Ciclo silvestre e urbano da transmissão do vírus zika.



Nota: Demonstração esquemática dos ciclos do ZIKV, que exemplifica essencialmente os possíveis ciclos de um flavivírus transmitido por mosquito. A parte superior da imagem exemplifica o ciclo de transmissão silvestre, o qual acomete um primata não humano infectado a partir da picada do mosquito infectado com o vírus podendo levar a um segundo ciclo, denominado de ciclo de transmissão urbano e suburbano, o qual a partir de uma picada do mosquito infectado transmite para o humano.

Fonte: (PETERSEN et al., 2016).

Em relação aos casos relatados nas regiões brasileiras, observa-se que a incidência da infecção por ZIKV está relacionada à proliferação vetorial e, conseqüentemente, às condições sanitárias. Os casos diagnosticados no Nordeste, como por exemplo, no município de Natal, os casos concentravam-se na zona norte da cidade, na qual apenas 5% da população possui saneamento básico adequado. Além disso, o município apresenta alto número de mosquitos *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (LUZ; SANTOS; VIEIRA, 2015).

Alguns estudos genéticos que avaliaram sequências nucleotídicas derivadas do gene NS5 relataram três linhagens principais do ZIKV, uma de origem asiática e duas africanas. Embora o ZIKV circule amplamente, pouco se sabe sobre as relações genéticas entre os isolados das distintas regiões geográficas nas quais o se encontra, podendo apresentar diferentes ciclos de transmissão vetor/hospedeiro, pois a transmissão e disseminação precisam de interações complexas entre adequação climática, suscetibilidade populacional e interação viral-hospedeiro (HADDOW et al., 2012; AVELINO-SILVA; KALLAS, 2018).

4.1.1.2 Transmissão vertical e fluídos corporais infectantes

Evidências indicam que o ZIKV tem potencial para ser transmitido durante a gravidez da mãe para o feto. Segundo PETERSEN et al. (2016), o RNA do vírus foi identificado no líquido amniótico de mães de fetos que apresentam alguma anormalidade cerebral. Além disso, foram identificados antígenos virais e o RNA do ZIKV no tecido cerebral e nas placentas de crianças com microcefalia.

A transmissão do ZIKV por transfusão de sangue também pode ocorrer de forma similar à transmissão de outros flavivírus. Durante o surto do ZIKV na Polinésia Francesa, 3% das amostras de sangue doadas apresentaram resultados positivos em testes feitos para detecção do ZIKV por RT-PCR (MUSSO et al., 2014; MARANO et al., 2015).

Outra forma de transmissão é pelo ato sexual. Após o surgimento do ZIKV nas Américas, houve a confirmação de casos e a hipótese de outros de que a transmissão tenha sido por meio do ato sexual. Esses casos foram relatados em pelo menos 13 países (DUGGAL et al., 2018).

A maioria dos casos documentados envolveu transmissão sexual de homens sintomáticos para mulheres e a maioria deles apresentavam RNA do ZIKV no sêmen, mesmo em pequenas quantidades, já suficientes para a transmissão sexual (DUGGAL et al, 2018).

Estudos confirmam a presença de antígenos virais em células do sistema fagocitário, principalmente os macrófagos encontrados no tecido placentário, comprovando a hipótese de transmissão vertical do vírus. Com isso, é possível que, em uma gestação o vírus seja proveniente do sêmen, oferecendo risco tanto à mulher infectada quanto ao feto, devido à capacidade do ZIKV em ultrapassar as barreiras placentárias e hematoencefálica fetal (CALVET et al., 2016; QUICKE et al., 2016).

4.2 Surto do ZIKV no Brasil

Entre o final de 2014 e início de 2015, houve vários relatos de pacientes com os seguintes sintomas e sinais: febre baixa aguda, erupção maculopapular pruriginosa, artralgia, edema periarticular e conjuntivite não purulenta etc, porém esses sintomas e sinais deixavam a condição clínica do paciente inespecífica. Além disso, investigações etiológicas foram feitas e não houve sinal de DEN ou CHIKV. Com isso, levantaram a hipótese de um surto de sarampo, considerando os sintomas de erupção cutânea e um recente surto no estado do Ceará, mas logo foi descartado. A hipótese de que o ZIKV foi a causa do surto foi investigada por dois grupos na região do Nordeste do país, sendo confirmado por exames laboratoriais de amostras de soro de pacientes com histórico de febre, erupção cutânea, artralgia, edema periarticular, cefaleia, mialgia e conjuntivite, permitindo a exclusão de infecções virais por DEN e CHIKV. Após esse período, houve uma rápida disseminação do ZIKV por todo o país e outros países da América Latina (AVELINO-SILVA; KALLAS, 2018).

Foram coletadas amostras em diferentes regiões da América do Sul e Caribe e realizada a análise genômica do ZIKV. Assim, foi possível estimar a provável data de entrada nas Américas: final do ano de 2013, introduzida no Nordeste do Brasil. Depois disso, o ZIKV foi disseminado para outras regiões do país, além de outros países na América do Sul, Caribe e Estados Unidos. Como o surto alcançou proporções altas em um curto prazo, a sensibilidade para detectar RNA do ZIKV a

partir de RT-PCR era limitada e, com a falta de testes sorológicos para detectar o vírus, houve dificuldade no diagnóstico preciso (AVELINO-SILVA; KALLAS, 2018).

4.2.1 ZIKV e a saúde pública no Brasil

Devido à rápida disseminação das estirpes do ZIKV analisadas na Polinésia Francesa, há uma preocupação com a saúde pública em países da América do Sul e América Central, nos quais já foram relatados casos em diversas regiões após os grandes surtos nas Américas ocorridos em 2015-2016 (figura 4) (DESAI et al., 2017).

Dentro desses casos, notou-se o aumento da presença da Síndrome de Guillain-Barré e anomalias neurológicas congênitas, ambos notificados pelo Ministério da Saúde do Brasil (ENFISSI et al., 2016).

Figura 4 - Estados onde foram confirmados casos de ZIKV, Brasil, 2015.



Fonte: Modificado de (European Center for Disease Prevention and Control, 2015).

A Figura 4 mostra que os estados e regiões afetados são Nordeste (Bahia, Maranhão, Pernambuco, Rio Grande do Norte, Paraíba, Alagoas, Ceará e Piauí), norte (Amazonas, Pará, Rondônia, Roraima e Tocantins), Centro-Oeste (Mato Grosso), Sudeste (Espírito Santo, Rio de Janeiro e São Paulo) e sul (Paraná).

Além dos casos notificados e confirmados, houveram casos notificados, mas não confirmados em laboratório no estado do Sergipe, relatando uma doença eruptiva. Esses casos foram negativos para DEN e/ou CHIKV (*European Center for Disease Prevention and Control*, 2015).

Os casos de infecção por ZIKV foram confirmados em 18 estados no Brasil desde fevereiro de 2015, com a introdução da técnica de RT-PCR, na qual se utiliza o RNA de cadeia simples como molde, com o objetivo de confirmar a circulação autóctone. Essa técnica é preferencialmente utilizada devido à ausência da padronização de testes sorológicos específicos para anticorpos IgM e/ou IgG do ZIKV (*European Center for Disease Prevention and Control*, 2015).

A análise filogenética pode revelar similaridade entre estirpes virais de diferentes países, como por exemplo, Brasil e Polinésia Francesa. A partir de estudos adicionais foi possível o sequenciamento completo do vírus isolado do líquido amniótico em gestantes do Norte do Brasil que apresentavam gestação com risco do feto apresentar microcefalia, o qual revelou que o vírus isolado do líquido amniótico compartilha 97-100% da sua identidade genômica com a linhagem asiática isolada no surto da Polinésia Francesa, e que a presença do genoma viral nos pacientes por algumas semanas após a fase aguda sugere que a carga viral intraútero resulta da replicação persistente (OLIVEIRA; VASCONCELOS, 2016).

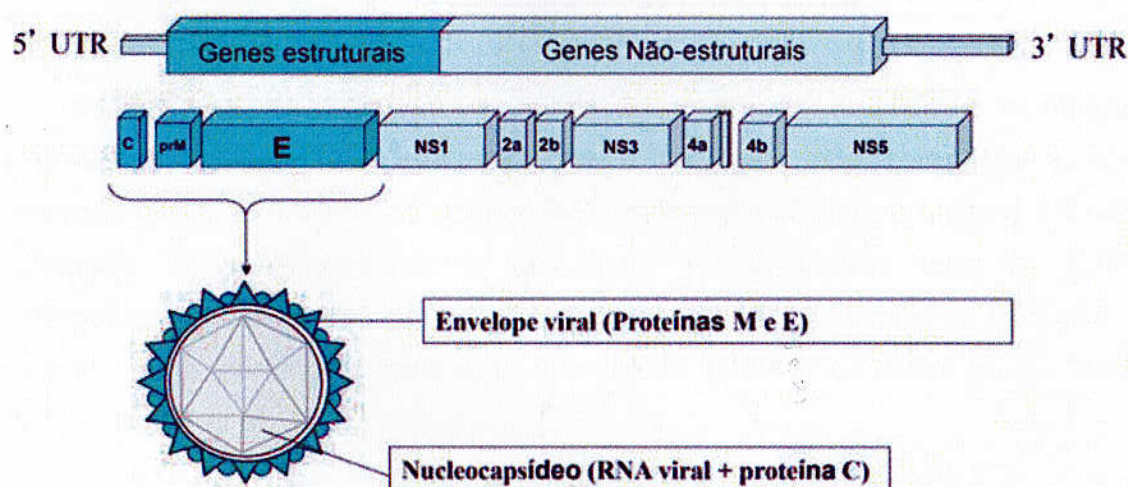
4.3 Genoma estrutural do ZIKV

O genoma do protótipo MR 766 (estirpe do ZIKV isolada do macaco *rhesus* sentinela na Uganda em 1947) foi sequenciado pela primeira vez em 2007. A organização do genoma do ZIKV consiste em um RNA fita simples de sentido positivo com aproximadamente 11 kilobases de tamanho, compondo uma única fase de leitura aberta (ORF) flanqueada por duas regiões não traduzidas (UTRs; o 5' UTR e o 3' UTR). A ORF codifica uma poliproteína de 3.423 aminoácidos, os quais são processados durante a tradução pelas proteases virais com três proteínas

estruturais (o capsídeo (C), a membrana precursora (prM) e o envelope (E)), além de proteínas não estruturais (NSs) (NITATPATTANA et al., 2018).

As proteínas estruturais e as NSs possuem domínios multitransmembrana, o que permite que o ZIKV desempenhe um papel essencial na formação, replicação e montagem do capsídeo no hospedeiro. A poliproteína é clivada em dez proteínas no total, sendo 3 proteínas estruturais e 7 NSs, que semelhante a outros flavivírus, no ZIKV possuem uma ordem na região codificadora: 5'- capsídeo (C) - preMembrana (prM) - envelope (E) - NS1- NS2A - NS2B - NS3 - NS4A - NS4B - NS5 - 3' (figura 5) (ZHU et al., 2016).

Figura 5 - Proteínas estruturais e proteínas NS.



Fonte: Modificado de (FIOCRUZ, 2016).

As UTRs em flavivírus têm grande papel na ciclização e estabilização do genoma, e dobram-se em estruturas secundárias de RNA que codificam sequências altamente conservadas (CSs) mesmo que a organização dessas sequências seja diferente entre os flavivírus. Na literatura, há evidências que constam que, em flavivírus transmitidos por mosquitos, incluindo o ZIKV, a 3'UTR é dividida em três CSs (figura 6), mais especificamente, CS1 localizada logo abaixo do códon de parada, CS2 e CS3 que contém a estrutura sHP-3'SL, as quais podem desempenhar funções importantes no genoma do ZIKV do MR766 (PANWAR; SINGH, 2018; ZHU et al., 2016).

Figura 6 - Sequência genômica do ZIKV.



Fonte: Modificado de (VILLORDO et al., 2016).

Segundo VILLORDO et al. (2016) há apenas dois elementos do RNA dos flavivírus que são conservados da mesma forma em todos os genomas desse grupo. Essas estruturas são: a alça em haste na forma de Y abreviada como SLA que está presente na extremidade 5' do genoma viral e a alça em haste presente na extremidade 3' abreviada como SHP-3'SL. Ambas participam da síntese de RNA viral.

As estruturas secundárias de RNA ligam-se a proteínas do hospedeiro e complexo viral (C, NS2A, NS3 e NS5) para promover a ciclização do RNA genômico (VILLORDO et al., 2016; ZHU et al., 2016).

Basicamente, as proteínas estruturais desempenham funções na montagem de novas partículas virais, enquanto que as proteínas não estruturais podem apresentar atividade enzimática, como a NS3 (helicase de RNA e protease) e a NS5 (polimerase de RNA dependente de RNA) ou juntamente com as UTRs desempenham funções relacionadas à replicação viral, transcrição, tradução e resposta imune durante a replicação intracelular (NITATPATTANA et al., 2018; PINTO JUNIOR et al., 2015).

A proteína C associa-se ao RNA genômico e atua na formação de cápsides virais para construir um núcleo da partícula viral madura. A segunda proteína, a PrM, interage com a proteína E para formar heterodímeros essenciais na formação de vírions imaturos. Essa se associa à proteína M (gerada pela clivagem de PrM por proteases celulares) para a produção e liberação de vírions maduros. Segundo ZHU et al. (2016) foram encontradas em todas as estirpes epidêmicas do ZIKV, substituições denominadas V153M, I125V, S139N, K143E, A148P, H157Y, V158I, K246R e V262A, que são diferentes entre as linhagens africanas e asiáticas e que precisam ser analisadas em estudos futuros.

Por fim, a proteína E é a principal glicoproteína de superfície do ZIKV que está envolvida na ligação à célula hospedeira, fusão de membrana, penetração e hemaglutinação durante o ciclo de replicação viral (PANWAR; SINGH, 2018).

A proteína E possui três domínios estruturais: o domínio I, localizado no meio da proteína E, contém locais de glicosilação na porção N-terminal; domínio II contém o peptídeo de fusão e flanqueia um lado do domínio I; domínio III flanqueia o outro lado do domínio I, além de ser a principal região antigênica dessa proteína. Além disso, esses autores evidenciam a importância de substituições de aminoácidos na proteína E de estirpes do ZIKV, já que em estirpes do DEN- 4 a substituição de E345K na proteína E desse vírus fez com que houvesse uma redução na virulência (PANWAR; SINGH, 2018).

Também foram encontradas as substituições, como V603I e D679E no domínio III da proteína E em todas as estirpes epidêmicas do ZIKV, porém ainda não se sabe as consequências das mesmas (PANWAR; SINGH, 2018).

As proteínas NS desempenham papéis fundamentais durante o ciclo de replicação, bem como na resposta imune do hospedeiro. Na literatura há evidências que sugerem a importância da NS1 para o início da síntese de RNA em flavivírus, ela é uma glicoproteína que pode conter mais de um local de N-glicosilação e ligações dissulfeto, e mutações nesses locais podem afetar tanto a replicação viral quanto a virulência (WHITEMAN, et al., 2011; FAYE, et al., 2014; ZHU et al., 2016; PANWAR; SINGH, 2018).

Segundo FREIRE et al. (2015) houve a descoberta que nas estirpes da linhagem epidêmica asiática há uma maior adaptação aos humanos nos códons dos genes NS1 e NS4A, fazendo com que essa adaptação pudesse estar associada à melhora na eficiência translacional em humanos e aumento da viremia em pacientes.

As pequenas proteínas hidrofóbicas NS2A, NS2B, NS4A e NS4B possuem regiões de membrana que desempenham importantes funções na montagem e ancoragem dos complexos de replicação viral na membrana reticular endoplasmática. Foram descritas duas substituições de aminoácidos em todas as estirpes epidêmicas do ZIKV. Além disso, não foi descrita a recombinação genética da estirpe epidêmica brasileira do ZIKV com outros arbovírus, como DEN-1, DEN-4 e CHIKV. Porém, alguns arbovírus não foram incluídos nessa análise, o que não garante que essas substituições não tenham acontecido devido à recombinação genética entre o ZIKV e outro flavivírus transmitido por mosquitos vetores para

humanos. Assim, deve-se determinar o significado biológico dessas substituições e se foram feitas a partir de recombinações entre flavivírus (WHITEMAN, et al., 2011; FAYE, et al., 2014; ZHU et al., 2016; PANWAR; SINGH, 2018).

A proteína que desempenha o papel central nos processos de replicação e sobrevivência é a NS3, cujo N-terminal possui atividade de protease e, o C-terminal de RNA-trisfosfatase e RNA helicase (PANWAR e SINGH, 2018).

A última proteína que compõe o genoma viral é a NS5, composta por dois domínios essenciais denominados de metiltransferase N-terminal (MTase), que possui como principais funções a formação do capsídeo viral e a inibição da resposta imune inata do hospedeiro e, a polimerase de RNA dependente de RNA C-terminal (RDRP), responsável pela síntese de RNA viral (PANWAR e SINGH, 2018; COLOMA et al., 2016).

Segundo DONG, et al. (2010) a metiltransferase do DEN metila nas posições guanina N-7 e ribose 2'O do capsídeo viral. O estudo mostrou que se houver uma mutação que suspende a metilação 2'O diminui a replicação do DEN, enquanto que outra mutação que suspende ambas as metilações é letal para a replicação do mesmo.

Com isto, foi visto a importância da metiltransferase para flavivírus como o DEN e o ZIKV, já que o ZIKV apresenta 65% de similaridade estrutural com a MTase do DEN (DONG, et al., 2010; COUTARD et al., 2016).

Além disso, a NS5 e NS3 são as proteínas mais conservadas do genoma viral, por estarem envolvidas com a síntese de RNA viral. Portanto, mutações nessas proteínas não são recorrentes para que não haja danos letais ao ZIKV ou outros flavivírus (PANWAR e SINGH, 2018; YE et al., 2016).

A Tabela 2 mostra o tamanho exato de cada gene que codifica as principais proteínas do genoma do ZIKV.

Tabela 2 - Genes que compõem o genoma viral do ZIKV.

Genes	ZIKV
5' UTR	106 nt
Capsídeo	122 aa
PrM	178 aa
Envelope	500 aa
NS1	342 aa
NS2A	226 aa
NS2B	130 aa
NS3	617 aa
NS4A	127 aa
NS4B	252 aa
NS5	902 aa
3' UTR	428 nt
Total	10794 nt

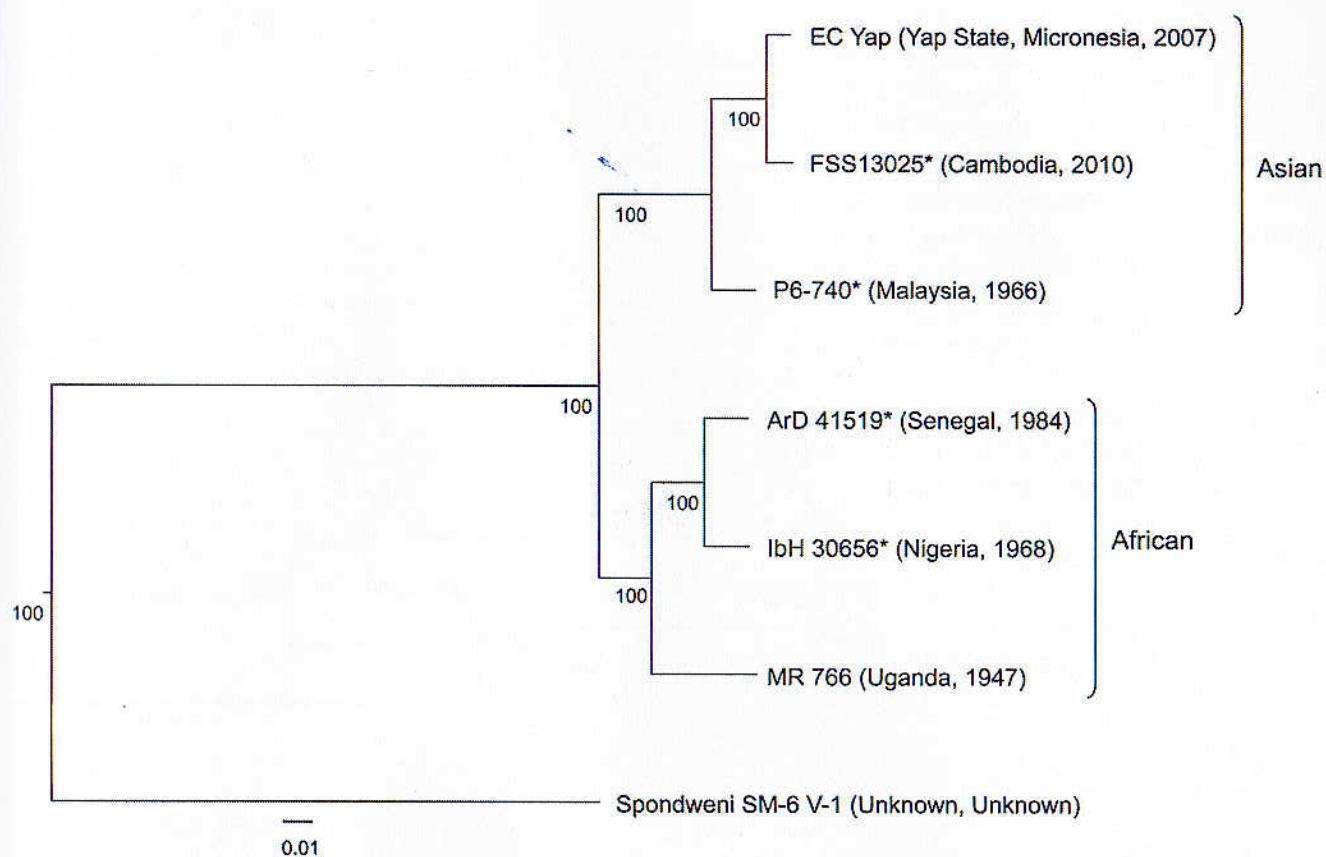
nt – nucleotídeo; aa – aminoácido

Fonte: Modificado de (KUNO; CHANG, 2007).

4.3.1 Padrão evolutivo do ZIKV

A análise filogenética apresentada na árvore da Figura 7 foi enraizada com o vírus Spondweni. Essa análise feita por HADDOW e colaboradores (2012) comprova que o ancestral comum mais recente MR 766 (Uganda, 1947) divergiu primeiro, seguido pela divergência do último ancestral comum das estirpes ArD 41519 (Senegal, 1984) e IbH 30656 (Nigéria, 1968), a estirpe P6-740. (Malásia, 1966) e, por último, as estirpes EC Yap (Micronésia, 2007) e FS13025 (Camboja, 2010).

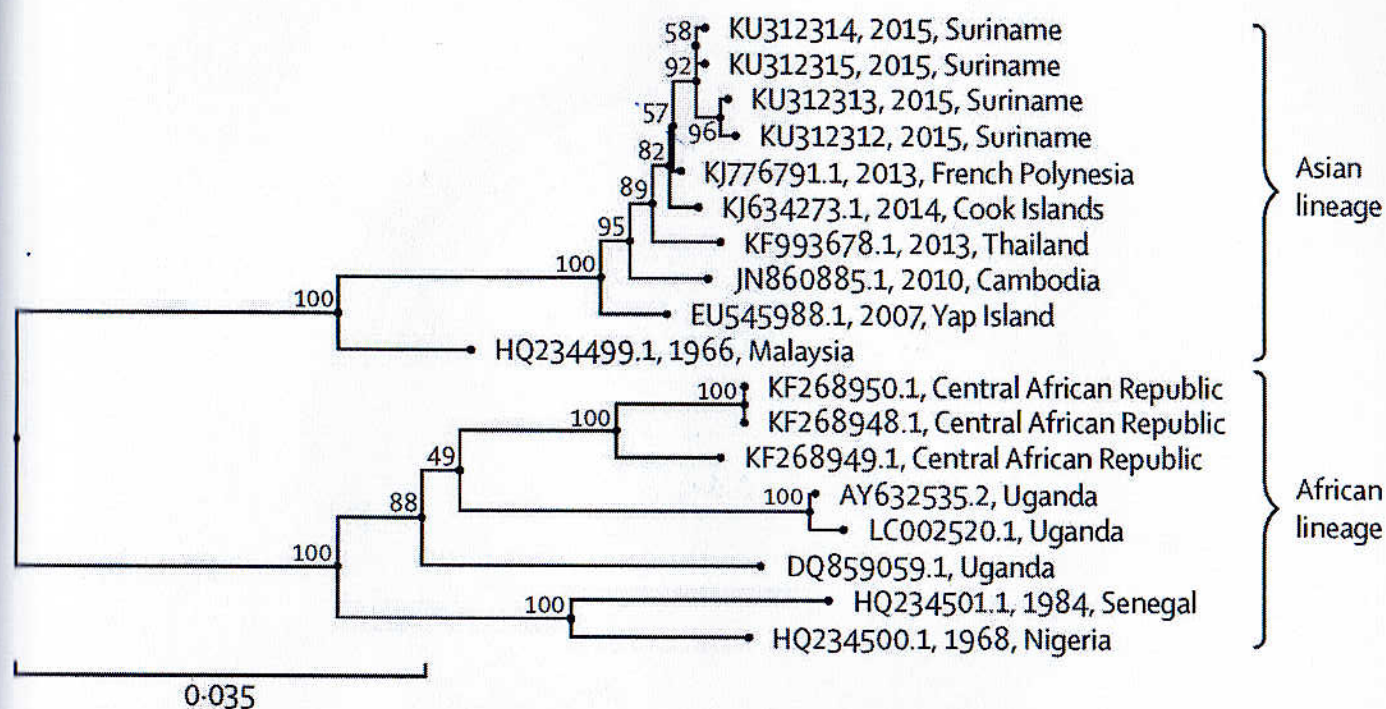
Figura 7 - Análise filogenética das estirpes do ZIKV.



Fonte: (HADDOW, et al., 2012).

Há poucos genomas completos do ZIKV disponíveis, porém as estirpes do Suriname que pertencem ao genótipo asiático parecem ter relação com a estirpe circulante na Polinésia Francesa em 2013, pois as duas compartilham aproximadamente 99,7% e 99,9% de nucleotídeos e aminoácidos (figura 8) (ENFISSI et al., 2016).

Figura 8 - Relações filogenéticas entre as sequências genéticas do envelope do Suriname ZIKV e outros ZIKV.

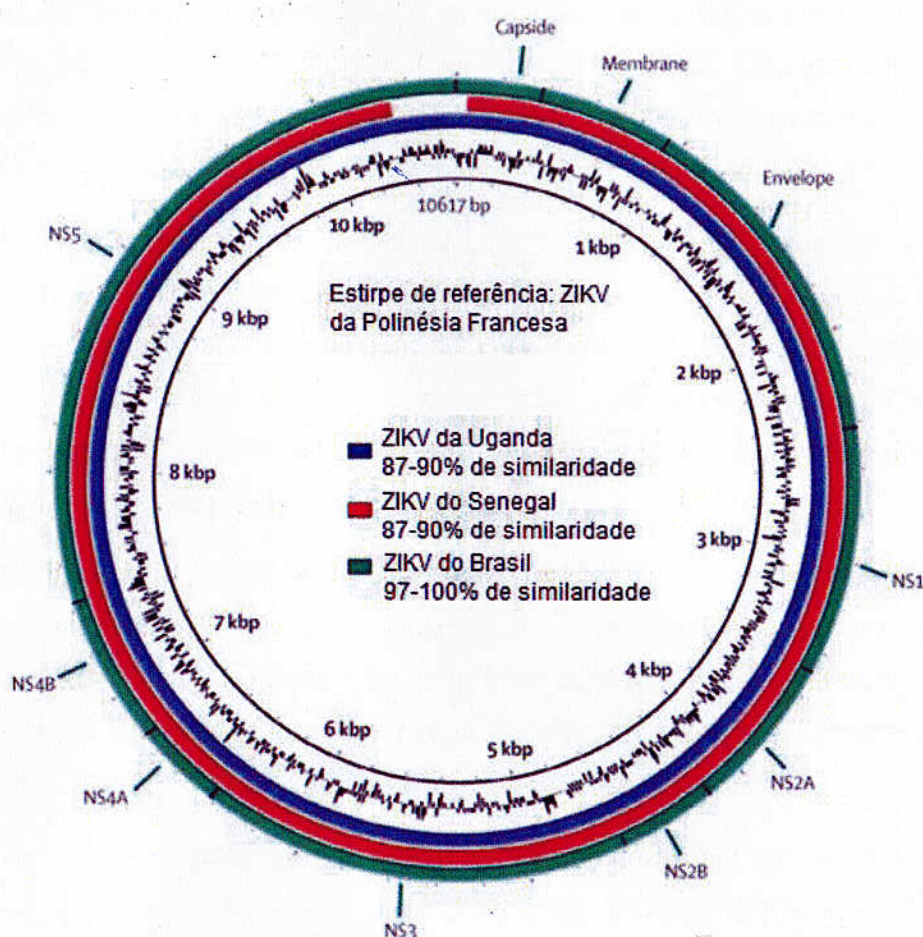


Fonte: (ENFISSI et al., 2016).

O ZIKV que causou o surto no Brasil compartilha 97 a 100% do genoma com o vírus isolado na Polinésia Francesa (KJ776791.1). Já quando comparado com estirpes africanas como NC_012532.1 (ZIKV encontrado na Uganda) e KF383118.1 (ZIKV encontrado no Senegal) a compatibilidade é de 87 a 90% (figura 9) (CALVELT et al., 2016).

Conclui-se então que as estirpes epidêmicas da América do Sul se agrupam na linhagem asiática, pois as sequências completas possuem uma similaridade de 89,4% - 99,8% nucleotídeos, enquanto que com as de diferentes linhagens possuem similaridade menor (87,9% - 95,5% nucleotídeos) (ZHU et al., 2016).

Figura 9 - Diagrama comparativo do genoma do BLAST Atlas do ZIKV



Nota: A estirpe da Polinésia Francesa foi comparada com estirpes da linhagem africana (Uganda e Senegal) e a similaridade entre as duas estirpes da linhagem africana com a estirpe da Polinésia Francesa foi de 87-90%. Já quando a estirpe do ZIKV da Polinésia Francesa quando comparada com as estirpes do ZIKV do Brasil houve uma similaridade de 97-100%.

Fonte: (CALVET et al., 2016).

Frequentemente as mutações significativas são as que causam alteração não-sinônimas de aminoácidos. Se a mudança entre aminoácidos de tamanho e polaridade semelhantes acontecer, é provável que não haja mudança efetiva no funcionamento da proteína (LOGAN, 2016).

No território brasileiro as estirpes conhecidas possuem divergências genéticas, mas não foram relatadas mutações não sinônimas que fossem comuns entre três isolados (ZIKV2015, estirpes de Natal RGN – Rio Grande do Norte – e

BeH823339). Segundo TSETSARKIN, et al. (2016) as estirpes isoladas de fetos com microcefalia apresentam mutações específicas e diferenciadas. O ZIKV2015 apresenta mutações nas posições poliproteicas: 550, 1143, 1259 e 2831. As estirpes isoladas em Natal RGN contêm mutações nas posições poliproteicas: 940, 1027 e 2509. Já o BeH823339 possui 7 mutações: 337, 354, 358, 545, 984, 1404 e 2800.

O padrão evolutivo foi originado a partir da variação genômica das estirpes isoladas do ZIKV de pontos geográficos distintos. Esse padrão evolutivo foi descrito a partir de uma análise genômica comparativa entre as estirpes pré-endêmicas, ou seja, as isoladas antes de 2007 e as recentes estirpes endêmicas. Foram vistas várias mudanças compartilhadas nas estirpes endêmicas recentes entre si, mas não no ZIKV pré-endêmico (ZHU et al., 2016).

Segundo ZHU et al. (2016) nove nucleotídeos que se localizavam na região 3' da linha tronco UTR da linhagem ZIKV pré-epidêmica mostraram ser mais semelhantes à alça de haste I da linhagem epidêmica. Essa mudança estrutural pode ser uma das razões relacionadas ao aumento da transmissibilidade e virulência do recente ZIKV.

ZHU et al. (2016) afirma que quando comparado a linhagem asiática pré-endêmica (estirpes da Malásia em 1996) e as estirpes epidêmicas detectou 24 substituições de aminoácidos, nas quais: PrM: 2, E: 3, NS2A: 1, NS3: 3, NS4B: 7 e NS5: 8. Dessas substituições, quatro estão relacionadas com a hidrofobicidade dos aminoácidos (T773M em E, Y2082H em NS3, L2451S em NS4B e T2630V em NS5).

Segundo WANG, et al. (2016) e ZHU et al. (2016) foram identificadas 75 substituições de aminoácidos na linhagem africana comparado a linhagem asiática, nas quais: C: 5, PRM: 9, E: 10, NS1: 4, NS2A: 5, NS2B: 2, NS3: 9, NS4A: 1, NS4B: 9 e NS5: 21. Apenas quinze dessas substituições estão presentes nas estirpes epidêmicas do ZIKV, já o restante das substituições são marcadores que diferenciam as linhagens africanas e asiáticas do ZIKV. Já na linhagem asiática foram detectadas 34 substituições de aminoácidos e mais de 400 nt em comparação com a linhagem original da Malásia de 1966. A maior quantidade de variações entre as linhagens asiáticas e africanas foi observada na região Pr da proteína PrM,

totalizando uma variação de 10% dos aminoácidos. Contudo, os genomas são semelhantes, tendo em vista a sua porcentagem de 88,9% de similaridade.

CALVELT et al. (2016) afirma que não houve recombinação genômica com outros flavivírus transmitidos por mosquitos, pois foi feita uma varredura do genoma do ZIKV a cada 50 pb tendo como referência os genomas dos vírus da DEN (1-4), WNV, vírus da febre amarela e CHIKV, o que permitiu descartar a hipótese de que o genoma recém-sequenciado nas regiões brasileiras tivesse sido uma estirpe recombinante com outros flavivírus citados acima, mas os mesmos não descartam a hipótese do ZIKV ter sofrido recombinações, ocasionando perdas e ganhos recorrentes de glicosilação ligados ao N-terminal na proteína E, aumentando a patogenicidade e virulência do ZIKV.

Ainda não se sabe o real motivo do surgimento súbito e rápida disseminação do ZIKV a partir de 2007, por isso várias hipóteses já foram levantadas, como possíveis fatores ambientais. Os principais fatores considerados foram a globalização e urbanização, que permitiram que o ZIKV e os vetores, abrangessem outras regiões além do habitat geográfico original. Eventos mundiais, como a Copa do Mundo e o Campeonato Mundial Va'a Sprint realizados no Brasil em 2014, podem ter favorecido a disseminação do vírus por meio de viajantes infectados. As mudanças climáticas associadas ao evento denominado *El Niño* na América do Sul em 2015, juntamente com o aquecimento global também podem ter facilitado a disseminação do ZIKV pelo mosquito *Aedes*. Além disso, como países entraram em estado de alerta após os surtos causados pelo ZIKV, a capacidade de diagnóstico da infecção provavelmente levou ao aumento da detecção dessa doença que antes poderia facilmente ser confundida com aquelas causadas por outros arbovírus. Fatores intrínsecos do vírus possivelmente estão associados à propagação do ZIKV após 2007 (ZHU et al., 2016).

Durante a epidemia brasileira de ZIKV, FARIA et al. (2016) isolou e sequenciou sete genomas do ZIKV com a finalidade de criar análises filogenéticas e uma estimativa da introdução do ZIKV nas Américas, que foi estimada entre maio a dezembro de 2013. Este tempo estimado antecede a Copa do Mundo e ao Campeonato Mundial Va'a Sprint realizados em 2014, o que enfraquece as hipóteses propostas anteriormente que esses eventos trouxeram o ZIKV para as Américas.

Com base em amostras coletadas desde a epidemia do ZIKV em 2015 no Brasil há relativamente poucas mutações não-sinônimas em relação as mutações sinônimas, ou seja, há mais mutações que não produzem uma mudança de aminoácido. Com isto, LOGAN (2016) apresenta dados de estirpes com presença de mutações que são proporcionais à data em que a amostra foi coletada, mostrando que o ZIKV continua sofrendo mutações em ritmo acelerado.

A taxa de mutação que o ZIKV sofre varia entre 12 a 25 mutações por ano, alterando entre 0,12% a 0,25% do RNA do vírus a cada ano. LOGAN (2016), também afirma que a propagação do ZIKV pela América do Sul e Central não parece ter sido causada por alterações no mosquito que transmite o vírus ou pelo vírus ter se tornado mais virulento. Parece estar relacionado com a facilidade de disseminação da doença.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Há algumas limitações para afirmar que as mutações realmente são a resposta para a ampla disseminação do ZIKV nos últimos anos. O ZIKV foi descoberto em 1947, mas só apresentou consequências à saúde pública brasileira em 2015, quando houve a epidemia por ZIKV causada pela disseminação da Ásia e do Oceano Pacífico para as Américas. Com essa disseminação em larga escala na última década, foi vista a relação do ZIKV com distúrbios neurológicos, como a GBS causando má formação fetal. De todos os arbovírus, o ZIKV é o único relatado que possui a característica de atravessar a barreira placentária e afetar diretamente a gestação, sendo assim, o ZIKV merece máxima atenção principalmente nos países tropicais e subtropicais, onde há maior reprodução e disseminação do vírus por meio do vetor *Aedes aegypti*. Nesses países, as medidas de controle vetorial devem ser intensificadas, assim como as ações de assistência à população. O Brasil, infelizmente é o cenário adequado para a disseminação do ZIKV, pelo fato de apresentar uma grande área vegetal com o aumento do processo de urbanização e falta de qualidade no saneamento básico. Além disso, muitos estudos afirmam que não houve recombinação genômica do ZIKV com outros flavivírus transmitidos por mosquitos, mas não descartam a hipótese do ZIKV ter sofrido recombinação com outros flavivírus que não fizeram parte da varredura genômica e, com isso, ocasionar perdas e ganhos recorrentes de glicosilação ligados ao N-terminal na proteína E, aumentando a sua patogenicidade e virulência.

Há outros estudos que não descartam a hipótese da rápida disseminação ter acontecido por fatores como a globalização e urbanização, que permitiram que o ZIKV e o seu vetor abrangessem outras regiões além do habitat geográfico original. A Copa do Mundo de 2014 realizada no Brasil é o evento perfeito para essa hipótese. No entanto, estudos afirmam que a data de entrada do ZIKV na América do Sul aconteceu entre maio e dezembro de 2013, isso enfraquece essa hipótese.

Atualmente o ZIKV está se disseminando de forma acelerada e acarretando graves consequências e prejuízos à saúde pública, por isso, além de identificar e criar medidas de controle para a sua transmissão por vetores é importante considerar os polimorfismos que o vírus sofreu no seu genoma e, se eles são o motivo de um possível aumento da virulência do ZIKV. A maioria das mutações que

causam alteração não-sinônimas de aminoácidos são as significativas, mas no caso do ZIKV há mais mutações sinônimas, ou seja, não há alteração de aminoácidos e, conseqüentemente não altera a proteína. Há mutações não-sinônimas nas linhagens epidêmicas relacionadas ao aumento da transmissibilidade e virulência - ganho de nove nucleotídeos na região 3' UTR da alça de haste I -, relacionadas a hidrofobicidade dos aminoácidos - T773M em E, Y2082H em NS3, L2451S em NS4B e T2630V em NS5 - e prováveis recombinações recorrentes de glicosilação ligados ao N-terminal na proteína E relacionados a patogenicidade e virulência do ZIKV.

As estirpes de ZIKV continuam sofrendo mutações em ritmo acelerado, alterando o seu genoma entre 0,12% a 0,25% a cada ano, mas a maioria dessas mutações são sinônimas, não tornando o vírus mais virulento a ponto de causar grandes epidemias.

Apenas casos esporádicos relacionados ao ZIKV foram documentados fora dos continentes asiático e africano até o surto em 2007 nos Estados Federados da Micronésia, onde foi visto pela primeira vez que o ZIKV poderia ser diagnosticado erroneamente como DEN e CHIKV. É esperado que o diagnóstico feito durante uma epidemia seja seguro e que não reaja de forma cruzada para outros arbovírus.

Devido a um diagnóstico cruzado com DEN e CHIKV, o diagnóstico para o ZIKV não era feito de forma fidedigna, levando a conclusão de que não era relevante, pois não atingia a nossa população como os outros arbovírus que causam doenças similares ao ZIKV. Portanto, não é possível concluir se era por uma situação de negligência ou aumento de casos de infecção por ZIKV. É esperado que essa situação seja acompanhada futuramente, para concluir se de fato casos de ZIKV foram negligenciados com a falta de diagnóstico preciso para esse flavivírus ou se realmente houve o aumento de infecções causadas pelo ZIKV.

6 REFERÊNCIAS

AVELINO-SILVA, Vivian I.; KALLAS, Esper G.. Untold stories of the Zika virus epidemic in Brazil. **Reviews In Medical Virology**, [s.l.], v. 28, n. 6, p.1-9, 3 ago. 2018. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/rmv.2000>. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/rmv.2000>>. Acesso em: 05 dez. 2018.

CALVET, Guilherme et al. Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study. **The Lancet Infectious Diseases**, [s.l.], v. 16, n. 6, p.653-660, jun. 2016. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(16\)00095-5](http://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(16)00095-5). Disponível em: <[https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099\(16\)00095-5/fulltext#seccesstitle150](https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(16)00095-5/fulltext#seccesstitle150)>. Acesso em: 20 ago. 2018.

COLOMA, Javier et al. Structures of NS5 Methyltransferase from Zika Virus. **Cell Reports**, [s.l.], v. 16, n. 12, p.3097-3102, set. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.celrep.2016.08.091>. Disponível em: <[https://www.cell.com/cell-reports/fulltext/S2211-1247\(16\)31200-1?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS2211124716312001%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/cell-reports/fulltext/S2211-1247(16)31200-1?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS2211124716312001%3Fshowall%3Dtrue)>. Acesso em: 10 mar. 2019.

COUTARD, Bruno et al. Zika Virus Methyltransferase: Structure and Functions for Drug Design Perspectives. **Journal Of Virology**, [s.l.], v. 91, n. 5, p.1-21, 28 dez. 2016. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/jvi.02202-16>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5309936/#!po=69.0476>>. Acesso em: 10 mar. 2019.

DESAI, Sruti K et al. Zika Virus (ZIKV): a review of proposed mechanisms of transmission and associated congenital abnormalities. **American Journal Of Stem Cells**. Washington, USA., 30 jul. 2017. p. 13-22. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5545216/pdf/ajsc0006-0013.pdf>>. Acesso em: 15 ago. 2018.

DONG, Hongping et al. Biochemical and genetic characterization of dengue virus methyltransferase. **Virology**, [s.l.], v. 405, n. 2, p.568-578, set. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.virol.2010.06.039>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0042682210004216?via%3Dihub>>. Acesso em: 20 mar. 2019.

DUGGAL, Nisha K. et al. Sexual transmission of Zika virus enhances in utero transmission in a mouse model. **Scientific Reports**, [s.l.], v. 8, n. 1, p.1-8, 14 mar. 2018. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-22840-6>. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s41598-018-22840-6.pdf>>. Acesso em: 15 dez. 2018.

ENFISSI, Antoine et al. Zika virus genome from the Americas. **The Lancet**, [s.l.], v. 387, n. 10015, p.227-228, jan. 2016. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(16\)00003-9](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(16)00003-9). Disponível em:

<[https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(16\)00003-9/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(16)00003-9/fulltext)>. Acesso em: 10 set. 2018.

European Centre for Disease Prevention and Control. Rapid risk assessment: microcephaly in Brazil potentially linked to the Zika virus epidemic. Stockholm, Sweden: **European Centre for Disease Prevention and Control**; 2015. Disponível em: <<http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/zika-microcephaly-Brazil-rapid-risk-assessment-Nov-2015.pdfCdc-pdf>> Acesso em: 10 set 2018.

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). <http://dx.doi.org/10.1126/science.aaf5036>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4918795/>>. Acesso em: 03 mar. 2019.

FAYE, Oumar et al. Molecular Evolution of Zika Virus during Its Emergence in the 20th Century. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [s.l.], v. 8, n. 1, p.1-19, 9 jan. 2014. Public Library of Science (PLOS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0002636>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3888466/>>. Acesso em: 10 set. 2018.

FREIRE, Caio Cesar de Melo et al. Spread of the pandemic Zika virus lineage is associated with NS1 codon usage adaptation in humans. **Cold Spring Harbor Laboratory**, [s.l.], p.1-8, 25 nov. 2015. Cold Spring Harbor Laboratory. <http://dx.doi.org/10.1101/032839>. Disponível em: <<https://doi.org/10.1101/032839>>. Acesso em: 30 maio 2019.

GIL, Laura H. V. G.. **Sistemas de genética reversa do ZIKV**: Pernambuco: Departamento de Virologia, Cpqam-fiocruz Workshop Abcde do Zika Vírus, 2016. 23 slides, color. Disponível em: <http://scf.cpqam.fiocruz.br/eventozika/pdfs/Laura_Gil_Zika_ABCDE_2016.pdf>. Acesso em: 15 dez. 2018.

HADDOW, Andrew D. et al. Genetic Characterization of Zika Virus Strains: Geographic Expansion of the Asian Lineage. **Plos Neglected Tropical Diseases**, [s.l.], v. 6, n. 2, p.1-12, 28 fev. 2012. Public Library of Science (PLOS). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0001477>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3289602/>>. Acesso em: 20 ago. 2018.

KUNO, G.; CHANG, G.-j. J.. Full-length sequencing and genomic characterization of Bagaza, Kedougou, and Zika viruses. **Archives Of Virology**, [s.l.], v. 152, n. 4, p.687-696, 3 jan. 2007. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s00705-006-0903-z>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17195954>>. Acesso em: 15 ago. 2018.

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. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). <http://dx.doi.org/10.3201/eid1408.080287>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2600394/>>. Acesso em: 15 ago. 2018.

LOGAN, Ian S.. ZIKA-How fast does this virus mutate? **Science Press: Zoological Research**, [s.l.], v. 37, n. 2, p.110-115, mar. 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4876826/pdf/ZoolRes-37-2-110.pdf>>. Acesso em: 03 mar. 2019.

LUZ, Kleber Giovanni; SANTOS, Glauco Igor Viana dos; VIEIRA, Renata de Magalhães. Febre pelo vírus Zika. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Natal, Brasil, v. 24, n. 4, p.785-788, out. 2015. Instituto Evandro Chagas. <http://dx.doi.org/10.5123/s1679-49742015000400021>. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/ress/v24n4/2237-9622-ress-24-04-00785.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2019.

MARANO, Giuseppe et al. Zika virus and the never-ending story of emerging pathogens and transfusion medicine. **Blood Transfusion**, [s.l.], p.95-100, 2015. Edizioni SIMTI. <http://dx.doi.org/10.2450/2015.0066-15>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4786129/>>. Acesso em: 03 mar. 2019.

MUSSO, D et al. Potential for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during an outbreak in French Polynesia, November 2013 to February 2014. **Euro Surveill**, S.i, v. 19, n. 14, p.1-3, 31 mar. 2014. Disponível em: <<https://www.eurosurveillance.org/docserver/fulltext/eurosurveillance/19/14/art20761-en.pdf?expires=1556913037&id=id&accname=guest&checksum=10DC96224A0A17443683CC4B2458A579>>. Acesso em: 03 mar. 2019.

MUSSO, D.; NILLES, E.j.; CAO-LORMEAU, V.-m.. Rapid spread of emerging Zika virus in the Pacific area. **Clinical Microbiology And Infection**, [s.l.], v. 20, n. 10, p.595-596, out. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1111/1469-0691.12707>. Disponível em: <[https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X\(14\)65391-X/fulltext](https://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198-743X(14)65391-X/fulltext)>. Acesso em: 15 jan. 2019.

OLIVEIRA, Consuelo Silva de; VASCONCELOS, Pedro Fernando da Costa. Microcephaly and Zika virus. **Jornal de Pediatria**, [s.l.], v. 92, n. 2, p.103-105, mar. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jped.2016.02.003>. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021755716000395?via%3Dihub>>. Acesso em: 15 jan. 2019.

PANWAR, Umesh; SINGH, Sanjeev Kumar. An Overview on Zika Virus and the Importance of Computational Drug Discovery. **Journal Of Exploratory Research In Pharmacology**, [s.l.], v. 3, n. 2, p.43-51, 27 mar. 2018. Xia & He Publishing. <http://dx.doi.org/10.14218/jerp.2017.00025>. Disponível em: <<http://www.xiahepublishing.com/ArticleFullText.aspx?sid=2&jid=3&id=10.14218%2fJERP.2017.00025>>. Acesso em: 10 jan. 2019.

PETERSEN, Lyle R. et al. Zika Virus. **New England Journal Of Medicine**, [s.l.], v. 374, n. 16, p.1552-1563, 21 abr. 2016. Massachusetts Medical Society. <http://dx.doi.org/10.1056/nejmra1602113>. Disponível em: <<https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMra1602113>>. Acesso em: 05 dez. 2018.

PINTO JUNIOR, et al. Zika Virus: A Review to Clinicians. **Revista Científica da Ordem dos Médicos**, Brasília, v. 28, n. 6, p.760-765, 03 dez. 2015. Disponível em: <<https://www.minsaude.gov.br/index.php/documentosite/zika-1/311-virus-zika-revisao-para-clinicos/file>>. Acesso em: 10 jan. 2019.

QUICKE, Kendra m. et al. Zika Virus Infects Human Placental Macrophages. **Cell Host & Microbe**, [s.l.], v. 20, n. 1, p.83-90, jul. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2016.05.015>. Disponível em: <[https://www.cell.com/cell-host-microbe/fulltext/S1931-3128\(16\)30211-6?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1931312816302116%3Fshowall%3Dtrue#secsectitle0055](https://www.cell.com/cell-host-microbe/fulltext/S1931-3128(16)30211-6?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS1931312816302116%3Fshowall%3Dtrue#secsectitle0055)>. Acesso em: 15 jan. 2019.

SAMPATHKUMAR, Priya; SANCHEZ, Joyce L.. Zika Virus in the Americas: A Review for Clinicians. **Mayo Clinic Proceedings**, [s.l.], v. 91, n. 4, p.514-521, abr. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mayocp.2016.02.017>. Disponível em: <[https://www.mayoclinicproceedings.org/article/S0025-6196\(16\)00148-8/fulltext](https://www.mayoclinicproceedings.org/article/S0025-6196(16)00148-8/fulltext)>. Acesso em: 15 jan. 2019.

SHEN, Shu et al. Phylogenetic analysis revealed the central roles of two African countries in the evolution and worldwide spread of Zika virus. **Virologica Sinica**, [s.l.], v. 31, n. 2, p.118-130, abr. 2016. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s12250-016-3774-9>. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12250-016-3774-9#citeas>>. Acesso em: 03 ago. 2018.

TSETSARKIN, Konstantin A. et al. A Full-Length Infectious cDNA Clone of Zika Virus from the 2015 Epidemic in Brazil as a Genetic Platform for Studies of Virus-Host Interactions and Vaccine Development. **Mbio**, [s.l.], v. 7, n. 4, p.1-7, 23 ago. 2016. American Society for Microbiology. <http://dx.doi.org/10.1128/mbio.01114-16>. Disponível em: <<https://mbio.asm.org/content/7/4/e01114-16.full>>. Acesso em: 05 dez. 2018.

VILLORDO, Sergio M. et al. RNA Structure Duplications and Flavivirus Host Adaptation. **Trends In Microbiology**, [s.l.], v. 24, n. 4, p.270-283, abr. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2016.01.002>. Disponível em: <[https://www.cell.com/trends/microbiology/fulltext/S0966-842X\(16\)00014-7?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0966842X16000147%3Fshowall%3Dtrue](https://www.cell.com/trends/microbiology/fulltext/S0966-842X(16)00014-7?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0966842X16000147%3Fshowall%3Dtrue)>. Acesso em: 10 set. 2018.

WANG, Lulan et al. From Mosquitos to Humans: Genetic Evolution of Zika Virus. **Cell Host & Microbe**, [s.l.], v. 19, n. 5, p.561-565, maio 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2016.04.006>. Disponível em:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1931312816301421>>. Acesso em: 12 mar. 2019.

WHITEMAN, Melissa C. et al. Multiple amino acid changes at the first glycosylation motif in NS1 protein of West Nile virus are necessary for complete attenuation for mouse neuroinvasiveness. **Vaccine**, [s.l.], v. 29, n. 52, p.9702-9710, dez. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.09.036>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21945257>>. Acesso em: 15 jan. 2019.

ZHU, Zheng et al. Comparative genomic analysis of pre-epidemic and epidemic Zika virus strains for virological factors potentially associated with the rapidly expanding epidemic. **Emerging Microbes & Infections**, [s.l.], v. 5, n. 1, p.1-12, jan. 2016. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1038/emi.2016.48>. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4820678/#!po=63.3333>>. Acesso em: 10 set. 2018.