



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE
GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

CRISTAL DE ARAUJO CAMPOS

FEBRE CHIKUNGUNYA: ASPECTOS CLÍNICOS E MOLECULARES

Trabalho de conclusão de curso, apresentado em formato de artigo científico ao UniCEUB como requisito parcial para conclusão do Curso de Bacharelado em Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Queiroz.

BRASÍLIA

2015

FEBRE CHIKUNGUNYA: ASPECTOS CLÍNICOS E MOLECULARES

Cristal de Araujo Campos¹
Paulo Roberto Martins Queiroz²

Resumo

A Febre Chikungunya é uma patologia causada pelo vírus chikungunya (CHIKV) e é transmitida pela picada de artrópodes, principalmente pelas espécies *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. O objetivo deste trabalho foi descrever os aspectos clínicos e moleculares do vírus que causa a febre chikungunya. A primeira vez que o CHIKV foi isolado e identificado foi em 1952-53, quando aconteceu uma epidemia na Tanzânia, e assim, começou a acontecer surtos posteriormente. Os sintomas clássicos da doença são febre alta, erupção e artralgia, podendo ter outras manifestações, como dores de cabeça, dor retro-orbital, fotofobia entre outras. Pessoas do grupo de risco podem ter um impacto maior sofrendo manifestações atípicas, atingindo sistema cardiovascular, nervoso, pele, rins entre outros. Essa doença não tem um antiviral no tratamento e é importante a ingestão de água e utilização de corticosteroides, paracetamol e antiinflamatórios não esteroides. A prevenção é paliativa, por isso são essenciais campanhas para o controle da doença. Essa revisão mostra a doença de uma forma geral, desde o histórico até os principais diagnósticos, via RT-PCR, RT-qPCR e uma nova técnica a RT-LAMP.

Palavras chave: “febre chikungunya”, “arboviroses”, “técnicas moleculares”, “*Aedes*” e “vírus chikungunya”.

Abstract

The Chikungunya fever is a disease caused by chikungunya virus (CHIKV), and is transmitted by the bite of arthropods, especially the species *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. The objective of this study was to describe the clinical and molecular aspects of the virus that causes chikungunya fever. The first time the CHIKV was isolated and identified was in 1952-53, when it happened an epidemic in Tanzania, and thus began the outbreaks occurred later. The classic symptoms of the disease are high fever, rash and arthralgia, and may have other manifestations, such as headache, retro-orbital pain, photophobia and others. People risk group may have a high impact suffering atypical manifestations, affecting cardiovascular and nervous system, skin, kidneys and others. This disease hasn't an antiviral in the treatment, it is important to take water and use of corticosteroids, acetaminophen and nonsteroidal antiinflammatories according to stage of disease. The prevention is palliative, so it is essential campaigns to control the disease. This review shows the disease in general, since the history until the main diagnostics, such as RT-PCR, RT-qPCR and a new technique RT-LAMP.

Keywords: “fever chikungunya”, “arthropod”, “molecular techniques”, “*Aedes*” e “chikungunya virus”.

¹Graduanda do curso de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília – UniCEUB.

²Biólogo, Dr. em Biologia Animal – UnB, Professor de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília – UniCEUB.

1. INTRODUÇÃO

A febre Chikungunya é uma doença causada pelo vírus Chikungunya (CHIKV), transmitido por artrópodes, sendo transmitida principalmente para o homem pela picada de mosquitos do gênero *Aedes* infectados, podendo transmitir também para animais silvestres e domésticos. Este é um vírus de RNA fita simples pertencente ao gênero *Alphavirus* e família *Togaviridae*. O principal sintoma dessa doença é uma poliartralgia podendo evoluir para uma artrite crônica. Os sintomas da doença são relacionados ao nome “Chikungunya” oriundo da língua Makonde (região de Moçambique), que significa aquele que é contorcido, devido à postura dos pacientes resultante dos sintomas da artralgia (PARDIGON, 2008; KUCHARZ; CEBULA-BYRSKA, 2012).

Durante um surto em uma cidade da Tanzânia na década de 1950, o isolamento do vírus ocorreu em um paciente febril. O vírus foi identificado pela primeira vez nessa região e desde então foram descritos casos na África e Ásia. A sintomatologia clássica da doença pode ser caracterizada por febre, erupções cutâneas (*rash*) e dores articulares. Alguns dos sintomas podem ter solução, mas em alguns pacientes as dores articulares podem durar por anos, tornando-se tão grave que eles passam a andar com uma postura curvada (BURT et al., 2012).

O vírus CHIKV foi identificado pela primeira vez no Quênia em 2004 e logo depois propagou-se para o leste, causando milhões de casos da doença em todo o mundo. A doença era considerada uma epidemia, resultando em alta morbidade. Em 2007 o vírus provocou um surto na Itália, pois CHIKV tinha sido importado para a Europa; devido ao surto, percebeu-se o grande potencial do vírus de ir para diferentes ambientes, podendo chegar até o hemisfério ocidental (STAPLES; BREIMAN; POWERS, 2009).

A importação e a propagação da doença hoje em dia é muito maior devido à dispersão de vetores e ao aumento do turismo pelo mundo. Em 2013, foi descrita pela primeira vez uma transmissão autóctone da Chikungunya no Caribe. A entrada do vírus no Brasil tem um risco alto por causa dos viajantes, são os mesmos vetores da dengue e a população brasileira é suscetível e, por isso, a prevenção é muito importante para evitar essa introdução (DAS et al., 2010; DONALISIO; FREITAS, 2015; BRASIL, 2014a).

O ciclo de transmissão do vírus ocorre por meio de mosquitos infectados. Existem dois ciclos diferentes de transmissão do CHIKV: o ciclo silvestre que acontece na África e o ciclo urbano (humano-mosquito-humano) que acontece na Ásia, Oceano Índico, África e, mais recentemente, na Europa. Os dois principais vetores identificados são *Ae. aegypti* e desde 2006, surgiu *Ae. Albopictus* como outro vetor desse vírus. Em surtos recentes *Ae.*

albopictus possui uma significativa importância devido às mutações adaptativas do genoma viral, que aumenta a replicação viral, facilitando sua circulação nas diferentes regiões que foram identificados (THIBERVILLE et al., 2013).

O objetivo deste trabalho foi descrever os aspectos clínicos, tais como as manifestações clínicas, tratamento e prevenção, e aspectos moleculares do vírus que causa a febre chikungunya.

2. METODOLOGIA

A realização desse trabalho foi elaborada por meio de uma revisão narrativa de literatura. Segundo os autores Cordeiro et al (2007), a revisão narrativa é aquela com texto mais aberto, não sendo específica, não tem um protocolo a ser seguido para elaboração e a escolha dos artigos nas bases de dados é da maneira que o aluno se identificar, podendo ocorrer viés de seleção nesse método.

Esta pesquisa se caracterizou por ser uma revisão bibliográfica, desenvolvida a partir de material já elaborado e publicado, constituído principalmente de revistas e artigos científicos a partir de 2007 com o intuito de buscar informações referentes à febre chikungunya.

Para o levantamento das informações foram consultadas as bases de dados de conhecimento em saúde e metodologia científica. As revistas e portais de informações utilizadas foram: SciELO (*Scientific Electronic Library Online*), PubMed e BVS (Biblioteca Virtual em Saúde – Ministério da Saúde) com as palavras chaves: febre chikungunya, chikungunya, arboviroses, alfavírus, técnicas moleculares, *Aedes* e vírus chikungunya.

Na base de dados SciELO, foi utilizada a palavra chave “Chikungunya” isolada e foram encontrados 49 artigos, dentro eles 2 foram selecionados; a palavra chave “arboviroses” foi encontrada em 22 artigos onde 1 artigo foi selecionado; e a associação das palavras chaves “Aedes” e “Chikungunya” foram encontrados 23 artigos onde 3 foram selecionados.

Na base de dados PubMed, foram utilizadas as palavras chaves em associação, “Vírus Chikungunya” e “Alfavírus” foram encontrados 1723 artigos dentre eles 5 foram selecionados; “Vírus Chikungunya” e “técnicas moleculares” foram encontrados 94 artigos onde 6 foram selecionados; “Febre Chikungunya” e “*Aedes*” foram encontrados 379 artigos dentre eles 5 foram selecionados; e “Vírus Chikungunya” e “Arbovírus” foram encontrados 332 artigos e foram selecionados 7 artigos.

Na base de dados do Ministério da Saúde, a BVS (Biblioteca Virtual em Saúde) foi usada a palavra chave isolada “Chikungunya” e foram encontrados 5 artigos onde foram selecionados 4 artigos.

3. DESENVOLVIMENTO

3.1 Histórico do Vírus

No começo de 1770, apareceram pacientes com sintomas, tais como, febre, exantema e artralgia; assemelhando-se com CHIKV, mas nesse momento o vírus não tinha sido isolado do soro humano ou do mosquito, ficando inconclusivos esses casos. Mas por volta de 1952-1953 houve a epidemia na Tanzânia, ocorrendo o isolamento e a identificação do vírus pela primeira vez em um paciente febril (BRASIL, 2014b; TAUIL, 2014).

Ocorreram outros surtos, conseqüentemente em áreas africanas e asiáticas, atingindo pequenas comunidades. Em 1960 ocorreram grandes surtos em Bangkok e Tailândia e entre 1960-1970 também ocorreu na Índia, sendo as estirpes desses locais isoladas. O vírus voltou a aparecer em 2004, no Quênia, causando um surto e propagando o vírus pelas ilhas Comores, Reunião e pelas ilhas do Oceano Índico nos anos posteriores, tendo uma estimativa de 500 mil casos entre 2004 a 2006 (BRASIL, 2014b).

Após os viajantes retornarem de áreas endêmicas, desde 2006 vem sendo diagnosticados mais de 1000 casos da infecção pelo mundo. Alguns viajantes apresentavam alta taxa de viremia causando uma preocupação ainda maior porque retornavam para países nos quais os vetores estão presentes, podendo ter a possibilidade da globalização da doença (SANTOS et al., 2015).

Em 2007, a epidemia foi importada para a Europa causando um grande surto em um vilarejo na Itália, ilustrando a seriedade da doença. Por causa desse surto, pela primeira vez percebeu-se o potencial do vírus em se adaptar em diferentes ambientes, conseguindo atingir a Europa, Austrália e países do Hemisfério Ocidental. Esse surto na Itália foi introduzido por um viajante contaminado que vinha da Índia ocorrendo uma transmissão autóctone (humano-mosquito-humano), tendo uma preocupação ainda maior. Devido ao fato do vírus conseguir se adaptar a diferentes ambientes, tornando muito importante no mundo a implantação e o aprimoramento da vigilância com as pessoas viajantes, que facilitam a entrada do vírus em outros países (STAPLES; BREIMAN; POWERS, 2009; BRASIL, 2014b).

Em 2013, foram detectados os primeiros casos na América Latina, com casos nas ilhas de San Martin, Mayotte e Reunião Francesa do Caribe. O vírus foi detectado e confirmado a partir de 5 casos notificados de pacientes com febre e dores articulares e, pessoas que moravam no Caribe foram sendo detectadas com o vírus em casos frequentes. Com a presença de vetores e reservatórios para os mosquitos se tornou uma situação preocupante, pois isso facilitou a disseminação nos países da região do Caribe (TRUJILLO; JIMÉNEZ, 2014).

No final de 2013, foram surgindo casos autóctones (quando a pessoa infecta-se fora de seu país de origem) da doença no Caribe, sendo disseminado para Antilhas e Guiana Francesa, tendo uma grande probabilidade do vírus ser introduzido no Brasil (JUNIOR, 2014).

A partir de 2010, começou a ter casos importados de Chikungunya no Brasil. Houve três casos importados no Brasil, o primeiro foi em agosto daquele ano, um homem suspeito de Chikungunya que veio de regiões, nas quais existe a presença do vírus (Sumatra e Jacarta, na Indonésia). O paciente fez testes para malária e dengue e deram negativo, então este foi encaminhado para exame sorológico para Chikungunya, e foi confirmado. Em setembro de 2010, um paciente queixou-se de uma febre persistente durante sua viagem para Indonésia, logo depois começou a ter exantema em várias partes do corpo, a amostra do paciente foi coletada e teve resultado confirmado para Chikungunya, e fez tratamento devido à poliartralgia que apresentava. E o terceiro caso foi em outubro do mesmo ano, pois o paciente passou pela Índia, Inglaterra e, por fim, chegou ao Brasil já queixando-se de febre e dores nas articulações. A paciente fez sorologia para Chikungunya e teve resultado positivo, evoluiu com uma descamação de região bilateral plantar, mas ela está bem (BRASIL, 2010).

3.2 Manifestações Clínicas

A Febre Chikungunya assemelha-se muito com a dengue, sendo que o período de viremia começa um dia antes do início dos sintomas e permanece por 7 dias. O período de incubação é de 1 a 12 dias, sendo que o indivíduo tem febre alta, dores nas articulações, cefaléia, fotofobia, mialgia e exantema. A infecção é assintomática em 25% dos casos e, nos casos sintomáticos, a poliartralgia é o que caracteriza a infecção. Por volta de 7 a 15 dias os sinais e sintomas agudos se resolvem, mas em 10 a 12% dos casos as dores nas articulações podem durar meses ou anos, com ou sem febre, sendo caracterizada por uma fase crônica (TAUIL, 2014; JUNIOR, 2014).

As dores intensas nas articulações ocorrem em 100% dos pacientes, acompanhadas de uma febra abrupta, onde pode ocorrer dores de cabeça e dor nas costas. Desde os primeiros dias da doença tem a presença da artralgia e, progressivamente, a artrite vai se desenvolvendo em poucos dias, isso ocorre em 100% dos pacientes. A Febre Chikungunya é bilateral e com inchaço simétrico das articulações, sendo as principais atingidas, os punhos e tornozelos, mas, também, pode atingir as articulações dos joelhos e cotovelos (KUCHARZ; CEBULA-BYRSKA, 2012).

A tríade clássica da doença é febre alta, erupção e dor nas articulações. Normalmente, a erupção é maculopapular e eritematosa, sendo distribuída na face, membros e tronco do corpo, começa a ser visível depois de 2 a 5 dias da infecção, podendo durar uns 10 dias. Outras manifestações clínicas do CHIKV são dores de cabeça, dor retro-orbital, fotofobia, dor lombar, calafrios, fraqueza, mal-estar, náuseas, vômitos e mialgia; e a junção de alguns sintomas citados são queixas relatadas por quase todos os pacientes, mas podem variar a frequência. Os sintomas da infecção são muito parecidos com outras infecções de áreas endêmicas, por isso a identificação do CHIKV é dificultada, sendo parecido com o vírus da Dengue porém filogeneticamente distantes (POWERS; LOGUE, 2007).

As crianças apresentam um quadro clínico específico, nos quais as manifestações reumatológicas são menos frequentes, fazendo parte do grupo de alto risco com manifestações severas/atípicas. As manifestações em crianças tem uma alta taxa de sintomas dermatológicos, como hiperpigmentação, eritema generalizado e edema maculopapular e, também, complicações neurológicas (THIBERVILLE et al., 2013).

3.2.1 Manifestações Clínicas Atípicas

Alguns pacientes com caso suspeito de Chikungunya podem não apresentar febre e dor articular, esses casos são classificados como manifestações atípicas (Quadro 1). Esses sintomas acontecem devido à resposta imunológica, efeitos diretos do vírus ou pela toxicidade de medicamentos (BRASIL, 2015a).

O grupo de risco das manifestações atípicas são pessoas com doenças preexistentes (diabetes, asma, alcoolismo, doenças reumatologias, anemia falciforme, hipertensão, obesidade, entre outras), neonatos, gestantes, idosos e aquelas pessoas que usam alguns medicamentos, como ácido acetilsalicílico, anti-inflamatórios e paracetamol (BRASIL, 2014b).

Quadro 1 – Descrição das principais manifestações atípicas provocadas pelo vírus Chikungunya.

Sistema / órgão	Manifestações
Nervoso	Meningoencefalite, encefalopatia, convulsão, Síndrome de Guillain-Barré, Síndrome cerebelar, paresias, paralisias e neuropatias.
Olho	Neurite óptica, iridociclite, episclerite, retinite e uveíte.
Cardiovascular	Miocardite, pericardite, insuficiência cardíaca, arritmia e instabilidade hemodinâmica.
Pele	Hiperpigmentação por fotossensibilidade, dermatoses vesiculobolhosas e úlceras aftosa-like.
Rins	Nefrite e insuficiência renal aguda.
Outros	Discrasia sanguínea, pneumonia, insuficiência respiratória, hepatite, pancreatite, síndrome da secreção inapropriada do hormônio antidiurético e insuficiência adrenal.

Fonte: Adaptado de Rajapakse et al. (2010) e do Ministério da Saúde (2015).

Quando aconteceu a epidemia na ilha de La Reunion foram contabilizados 0,3% de casos atípicos, e entre eles 36% foram graves, 14% foram para terapia intensiva e 10% morreram. Falência cardíaca, falência múltipla dos órgãos, hepatite tóxica, encefalite, dermatite bolhosa, pneumonia, infarto agudo do miocárdio, falência respiratória, septicemia entre outras, foram as causas das mortes (SANTOS et al., 2015).

Em 2015, tiveram 1 534 932 casos de dengue e 811 óbitos confirmados no mesmo período. No mesmo ano, foram notificadas 17.131 casos autóctones suspeitos com vírus Chikungunya, dentro desses 6.350 foram confirmados. A CHIKV tem a taxa de mortalidade bem menor, com menos de 1%, inferior a taxa da dengue, quando aconteceu um surto na Índia em 2006, com mais de 1 milhão de pessoas infectadas com CHIKV e não teve nenhum óbito (BRASIL, 2015b).

3.2.2 Manifestações em crianças e gestantes

As mães grávidas sofrem um impacto maior se forem infectadas com Chikungunya, pois pode ocorrer um aborto espontâneo, mas são poucos casos que isso ocorre. A transmissão vertical pode ocorrer também, situação na qual as mães adquirem o vírus durante o período da gravidez podendo passar para o recém-nascido via transplacentária. Segundo os estudos feitos, o parto cesariana não altera o risco de transmissão do vírus; por outro lado, o vírus não é transmitido pelo aleitamento materno. As manifestações estão associadas com febre, falta de

apetite, edema distal, manifestações cutâneas, convulsões, meningoencefalite e anormalidades ecocardiográficas no recém-nascido (OPAS/OMS, 2015; BRASIL, 2015; BRASIL, 2014c).

As crianças também fazem parte do grupo de risco com manifestações atípicas. Os sintomas são mais específicos, mas as manifestações reumatológicas são pouco frequentes. A clínica na criança são manifestações dermatológicas (hiperpigmentação, eritema generalizado, exantema maculopapular e lesões vesiculobolhosas) e complicações neurológicas (encefalite, convulsões, síndrome meníngea e encefalopatia aguda), mas também podem ocorrer distúrbios digestivos, cianoses periféricas e manifestações hemorrágicas (SANTOS et al., 2015).

3.3 Tratamento

A febre Chikungunya, no momento, não tem um antiviral específico, sendo essencial a hidratação oral dos pacientes. O tratamento é sintomático e tem a utilização de analgésicos e auxílio nas compensações clínicas causadas pela doença. Para aliviar os sintomas é indicado o uso de corticosteróides, paracetamol e anti-inflamatórios não esteróides (BRASIL, 2014c; HER et al., 2009).

Na fase aguda, o paciente deve ficar em repouso para aliviar a febre e deve usar acetaminofeno ou paracetamol; e para aliviar a dor artrítica deve usar ibuprofeno, naproxeno ou outro anti-inflamatório não hormonal. Medicamentos com ácido acetilsalicílico não são recomendados devido ao fato de provocarem hemorragias em alguns casos e, também, tem o risco do desenvolvimento da Síndrome de Reye em crianças menores de 12 anos. A Síndrome de Reye é muito rara e normalmente aparece na infância, afetando o sistema nervoso central com uma insuficiência hepática. Em pacientes com dores articulares intensas cujos resultados são insuficientes com os anti-inflamatórios não hormonais, o uso de corticosteróides por pouco tempo é indicado. Os corticosteróides não são recomendados devido à alta taxa de efeito rebote, quando o paciente para de tomar o medicamento as dores podem voltar, por isso são usados em casos raros (BRASIL, 2014b; ROSAS, 2002; KUCHARZ; CEBULA-BYRSKA, 2012).

Na fase subaguda e crônica, quando o paciente se recupera, a convalescência pode ser duradoura podendo chegar a um ano ou mais. Aquela artrite persistente por meses pode responder com corticosteróides de curto prazo e, também, se o paciente preferir injeções locais de corticosteróides ou anti-inflamatórios não hormonais tópicos podem ser opções (BRASIL, 2014b).

Existiram várias tentativas para o desenvolvimento de uma vacina para o controle do CHIKV, mas a produção comercial ainda não aconteceu, pois como a taxa de mortalidade é baixa, não há prioridade para isso. Recentemente, uma versão recombinante está sendo estudada. Essa vacina usa partículas semelhantes do vírus, também chamadas como VLP, e esta pode ser a estratégia que vai estimular a produção dos anticorpos que irão neutralizar o vírus e controlar a sua disseminação (SEBASTIAN; LODHA; KABRA, 2009; KUCHARZ; CEBULA-BYRSKA, 2012).

3.4 Prevenção

A proteção individual recomenda o uso de repelentes para prevenir picadas do mosquito e, também, o uso de mosquiteiros é essencial. Crianças e grávidas devem usar proteções especiais, pois o repelente não é indicado para grávidas e crianças com menos de dois meses (KUCHARZ; CEBULA-BYRSKA, 2012).

As ações de controle dos mosquitos devem ser intensificadas, principalmente, em locais nos quais podem existir criadouros do vetor, tais como, parques, escolas e construções. O mosquito *Aedes* se reproduz em locais nos quais tem acúmulo de água, ou seja, as medidas tomadas para controlar a reprodução do vetor são cobrir caixas d'água ou outros objetos que armazenam água, pneus devem ser guardados em locais fechados e cascas de coco devem ser removidas, pois estes podem acumular água, e os bebedouros de cachorros e passarinhos devem ser esvaziados diariamente para evitar o aparecimento de larvas em águas paradas. Portanto, as medidas de prevenção e as proteções individuais são passos essenciais para o controle da doença (BRASIL, 2014c; MAHENDRADAS; AVADHANI; SHETTY, 2013; SEBASTIAN; LODHA; KABRA, 2009).

3.5 Vetor *Aedes sp*

As pessoas estão cada vez mais fazendo viagens intercontinentais, muitas vezes indo para áreas endêmicas e acabam voltando com casos de CHIKV. Desde a reemergência do vírus em 2004, países como Brasil, Canadá, EUA e Guiana Francesa, estão relatando vários casos importados de CHIKV. Até dezembro de 2013, nunca foram relatados casos autóctones nas Américas, mas depois foram confirmados casos autóctones em Saint-Martin, no Caribe. Progressivamente, o CHIKV esta se espalhando pelas áreas das Américas, principalmente porque o continente americano tem vários fatores para o vírus estabelecer-se nessas regiões:

os principais vetores, *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* estão presentes em muitas áreas; Todo ano tem casos importados em épocas de alta atividade dos mosquitos; As condições ambientais e climáticas são favoráveis para o desenvolvimento do mosquito e também para a replicação do vetor (VEGA-RÚA et al., 2014).

O principal vetor na Ásia é o mosquito *Ae. aegypti* que possui uma estreita relação com os humanos, sendo causador dos grandes surtos no mundo. A febre chikungunya foi reconhecida na Ásia como uma doença urbana e, recentemente, o *Ae. albopictus* foi considerado como o segundo vetor transmissor da CHIKV. Esse último vetor é silvestre, então a predominância dele é pelas florestas e matas (HER et al., 2009).

3.5.1 *Aedes aegypti*

O mosquito *A. aegypti* originou-se na África e foi transportado aos poucos para diferentes continentes pelo homem, respeitando os limites das condições climáticas de cada região. O mosquito fêmea dessa espécie oviposita em recipientes com água ou em vasos com plantas próximos às residências. O mosquito pode picar animais e/ou humanos e essas espécies conseguem sobreviver em áreas tropicais e subtropicais. As picadas do *Ae. aegypti* ocorrem durante o dia, mas os mosquitos ficam mais ativos duas horas após o nascer do sol e 2 horas antes do pôr do sol. Esse mosquito tem uma preferência de picar humanos do que animais e somente as fêmeas picam para depois ovipositar (GOMES, 1998; CDC, 2012a).

3.5.2 *Aedes albopictus*

O vetor que começou a aparecer recentemente é o *Ae. albopictus* e que deve fazer o mesmo percurso do *Ae. aegypti*. Começou a aparecer na Ásia nos anos de 80, passou os limites intercontinentais e chegou em várias partes do mundo, principalmente no Brasil. Estas são as duas espécies colonizando objetos que acumulam água (GOMES, 1998).

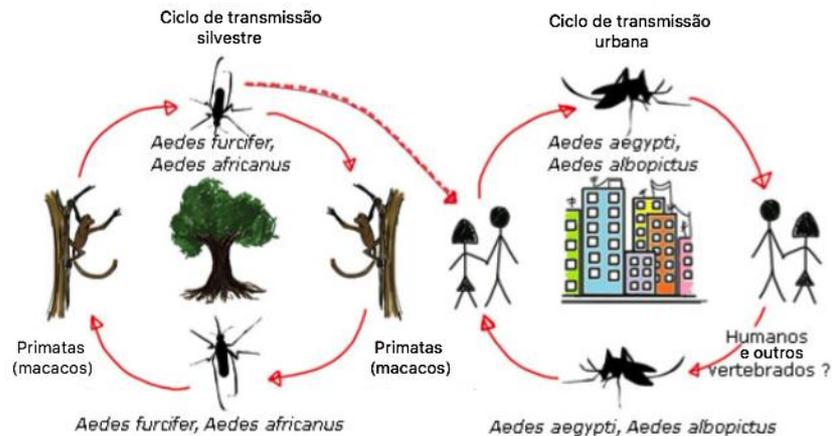
O mosquito fêmea dessa espécie também deposita seus ovos em locais que retém água. Esse mosquito pica pessoas, animais selvagens e animais domésticos, e consegue se adaptar em ambientes tropicais e subtropicais. O pico de alimentação desse mosquito é no começo do dia e no final do dia e sua alimentação é bem rápida (CDC, 2012b).

3.6 Ciclo de transmissão

O CHIKV é um vírus transmitido por artrópode, principalmente, pela picada de mosquitos do gênero *Aedes ssp.* A formação dos ovos ocorre por meio de repastos sanguíneos pelas fêmeas, portanto elas são as únicas que são infecciosas. Em estudos recentes, foi descoberto o vírus em mosquitos machos, podendo fazer a transmissão transovariana do vírus indiretamente. E, também, apesar dos machos não transmitirem o vírus para os humanos, eles podem transmitir para as fêmeas durante o acasalamento (ROUGERON et al., 2015).

Existem dois tipos de ciclos de transmissão: o ciclo silvestre e o ciclo urbano (Figura 1). O ciclo silvestre envolve primatas selvagens que habitam florestas que tem *Aedes sp.*, como *Ae. furcifer*, *Ae. taylori*, *Ae. luteocephalus*, *Ae. africanus* e *Ae. neoafricanus*, sendo uma epidemia com uma taxa menor. *Ae. aegypti* são mosquitos urbanos, sendo responsáveis pelos grandes focos regionais e globais, na Ásia como não tem um ciclo silvestre, e ocorre apenas o ciclo urbano, a transmissão ocorre entre o homem e o mosquito. E, gradualmente, *Ae. albopictus* foi emergindo pelos outros continentes, sendo considerado como o segundo vetor eficiente que transmite o CHIKV (HER et al., 2009).

Figura 1 – Ciclo de transmissão silvestre e urbana do vírus Chikungunya.



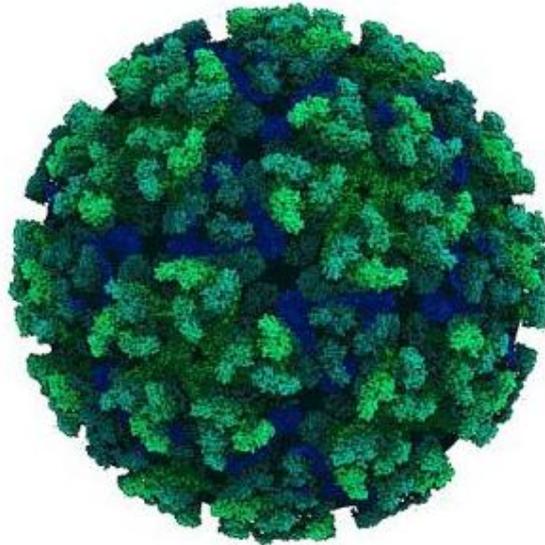
Fonte: FERNANDÉZ; NAVARRO (2015).

3.7 Estrutura viral e organização genômica

O CHIKV é um arbovírus pertencente ao gênero *Alphavirus* da família *Togaviridae*, é um vírus esférico, o capsídeo icosaédrico, com diâmetro de 60 a 70 nm, possui o genoma de RNA de fita simples, linear e sentido positivo (Figura 2). A estrutura genômica possui duas

sequências de leitura aberta (ORFs - *Open Reading Frames*) que codificam as proteínas estruturais e não estruturais (PRESTI et al., 2014; MAHENDRADAS; SHETTY, 2013).

Figura 2 – Estrutura da partícula do Vírus Chikungunya.



Fonte: Página do Medical Express (2014).

A primeira sequência de leitura aberta (ORF) possui a terminação 5' com cap e a partir do RNA genômico ocorre a tradução dessa região e codifica 1 poliproteína precursora de 4 proteínas não estruturais: NSP1, NSP2, NSP3 e NSP4. A terminação 3' é poliadenilada, ou seja, tem uma cauda poli-A, e a partir desse RNA subgenômico 26S ocorre a tradução da segunda sequência em 1 poliproteína precursora das proteínas estruturais, que processam a proteína de capsídeo (C), 2 glicoproteínas de envelope (E1 e E2) e 2 pequenos peptídeos (E3 e 6k). A ordem da organização genômica no final fica: 5' cap, NSP1, NSP2, NSP3, NSP4, C, E3, E2, 6k, E1, 3' poli-A (THIBERVILLE et al., 2013; SANTOS et al., 2015).

Estudos filogenéticos da glicoproteína de envelope E1 do CHIKV revelaram a existência de três genótipos distintos das estirpes virais: África Ocidental (WA), África Oriental/Central/Sul (ECSA) e Ásia, sendo que cada linhagem circulava em regiões diferentes. Segundo as hipóteses a respeito do CHIKV, o genótipo mais distinto geneticamente é o WA, e os genótipos ECSA e Ásia são parafiléticos, ou seja, são descendentes do mesmo ancestral. Em 2000, uma estirpe viral foi identificada na região do Oceano Índico, com uma sequência parecida com o genótipo ECSA que tinha sido isolado há 50 anos na Tanzânia. Ou seja, o ancestral pode ser o genótipo WA, o ECSA é descendente do

WA, e os genótipos Ásia e Oceano Índico, que apareceram nos últimos tempos podem ser variantes do ECSA (CHEVILLON et al., 2007; SANTOS et al., 2015).

Os vírus que estavam sendo isolados tinham um resíduo de alanina na posição 226 do gene que codifica a glicoproteína E1, que faz o reconhecimento e adsorção da célula hospedeira e vírus. Mas quando esses vírus chegaram às Ilhas Reunion e Maurício, nas quais *Ae. aegypti* era escasso e *Ae. albopictus* predominou, surgindo uma nova mutação (E1-226V), apresentando uma substituição de uma alanina por uma valina na posição 226 do gene que codifica a glicoproteína E1, depois de um ano foi identificada a mutação em algumas estirpes virais. Essa mutação do vírus encontrado em *Ae. albopictus* está totalmente relacionada à sua adaptação, levando a um aumento da replicação viral, eficiência da transmissão e disseminação do vetor *Ae. albopictus*, mas isso não ocorre no *Ae. aegypti* (SANTOS et al., 2015; COFFEY; FAILLOUX; WEAVER, 2014).

3.8 Mecanismo de ação viral

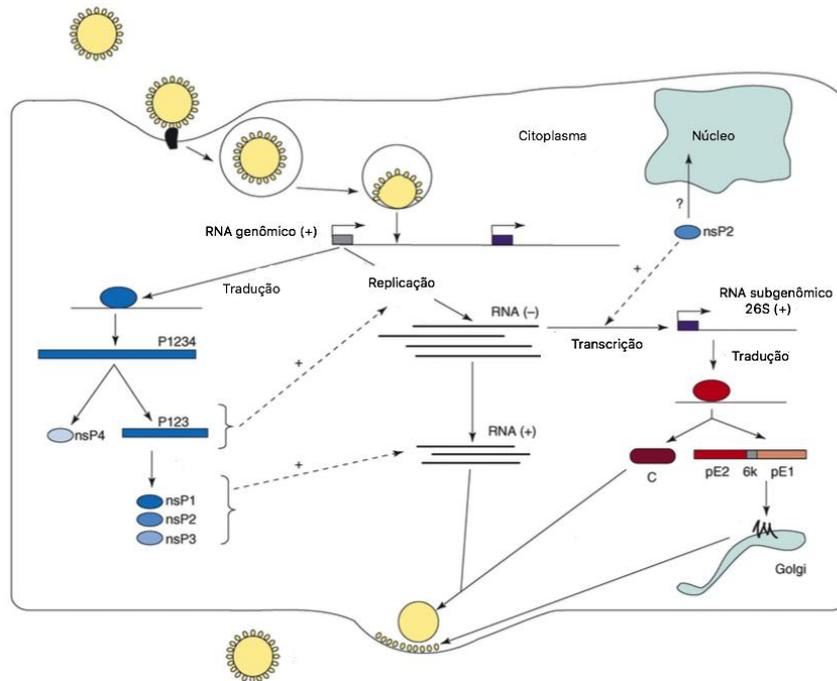
A estrutura responsável pela ligação da partícula viral com a célula hospedeira é a glicoproteína E2, na qual o vírus entra na célula por endocitose mediada por clatrina. Os endossomas, devido ao seu ambiente ácido, desencadeiam alterações na proteína E1 para a realização da fusão do envelope com a membrana para assim liberar o nucleocapsídeo no citosol (Figura 2) (THIBERVILLE et al., 2013; SANTOS et al., 2015).

O RNA genômico está pronto para ser traduzido, ou seja, é uma molécula de RNAm que vai traduzir a poliproteína precursora p1234 das proteínas não estruturais. A replicação do RNA é realizada por uma fita de RNA negativo complementar (RNAc-) do genoma, que é usada como molde para a síntese do RNA genômico e para a transcrição do RNA subgenômico 26S a partir do promotor interno. A poliproteína p1234 é processada em dois produtos, p123 e NSP4, esse complexo funciona como uma RNA replicase. Quando tem uma concentração alta de p123, esse precursor é clivado em p23 e NSP1 formando um complexo da polimerase que sintetiza RNA positivos e negativos. Logo depois, o p23 é clivado em NSP2 e NSP3 dando origem ao complexo da polimerase que sintetiza somente RNA positivos usando o molde da fita negativa (CHEVILLON et al., 2007).

O RNA subgenômico 26S serve como um modelo para traduzir a poliproteína precursora C-pE2-6k-E1 das proteínas estruturais. Essa poliproteína sofre uma clivagem catalítica para liberar a proteína de capsídeo (C). A poliproteína pE2-6k-E1 é colocada na membrana do retículo endoplasmático por uma sequência-sinal, aonde são processadas em

pE2 e E1. Essas proteínas são levadas para o complexo de Golgi e depois são transportadas para a membrana plasmática, e antes de chegar a membrana a pE2 é clivada em E2 e E3 por furinas. E, por fim, a partícula viral sai da célula hospedeira por meio de exocitose através da membrana onde adquire o envelope (SANTOS et al., 2015).

Figura 3 – Ciclo do vírus Chikungunya no interior da célula hospedeira.



Fonte: CHEVILLON et al (2007).

3.9 Diagnóstico laboratorial

A febre Chikungunya é diagnosticada por meio de testes laboratoriais como isolamento viral, sorologia e técnicas moleculares. Durante a fase inicial da doença, é feito isolamento viral e reação de polimerase em cadeia por transcriptase reversa (RT-PCR), sendo o método mais usado devido à sua sensibilidade e especificidade, e também porque nessa fase tem uma maior quantidade de partícula viral na corrente sanguínea, e já na fase mais tardia é feita a pesquisa de anticorpos (MAHENDRADAS; SHETTY, 2013; KUCHARZ; CEBULA-BYRSKA, 2012).

O hemograma de um paciente com Chikungunya apresenta leucopenia com linfopenia; trombocitopenia é rara e a velocidade de hemossedimentação é geralmente alta. Durante a fase aguda a proteína C reativa apresenta-se alta e pode continuar elevada por semanas (BRASIL, 2014c).

Em uma semana após o período de incubação o RNA viral é detectável, entre 2 a 6 dias os anticorpos IgM específicos revelam resultados positivos e, posteriormente, os anticorpos IgG específicos podem ser detectados e persistem por meses ou anos. Devido a alta reação cruzada com outras arboviroses, a especificidade dos métodos de pesquisa de anticorpos não é alta (KUCHARZ; CEBULA-BYRSKA, 2012).

Na fase mais tardia quando ocorre a resposta por meio de um anticorpo é feita a pesquisa desse anticorpo, sendo que as técnicas usadas são ELISA e imunofluorescência que detectam as respostas dos anticorpos IgG e IgM (BURT et al., 2012).

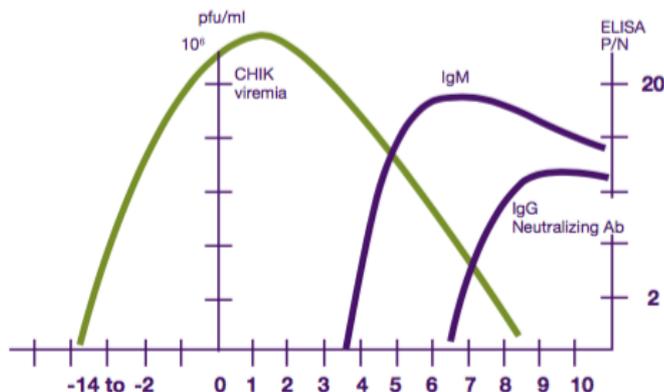
Os critérios clínicos e epidemiológicos são utilizados para a definição do caso. Os critérios clínicos como febre alta ($> 38,5$ °C) e artralgia grave ou artrite aguda não sendo explicados por outros motivos e os critérios epidemiológicos como o paciente ter visitado ou residido áreas endêmicas anteriormente ao aparecimento dos sintomas (FERNANDÉZ; NAVARRO, 2015).

3.10 Técnicas diagnósticas

O isolamento viral é feito a partir de uma amostra do paciente durante a fase aguda, que determina a infecção viral. Mas um bom isolamento é difícil de realizar, pois a coleta da estirpe não é feita cedo e o transporte para o laboratório não é rápido, fatores que interferem na inoculação. E quando o isolamento é bem sucedido, identificando o vírus, em seguida vai ser utilizado um antígeno a partir do isolamento, para testar o soro do paciente para identificar a presença de anticorpos (CDC/PAHO, 2011).

Realiza-se, também, a pesquisa de anticorpos para a detecção do CHIKV pela presença dos anticorpos IgG e IgM (Figura 3). Os métodos usados são a imunofluorescência indireta e ELISA, pois são rápidos e sensíveis. Após o início da febre Chikungunya, pela pesquisa de anticorpos o IgM é identificado entre 2 a 7 dias e persiste por meses. Já o IgG é detectado entre 5 a 6 dias após a febre e pode persistir por anos (BURT et al, 2012).

Figura 4 – Viremia e resposta imunológica após a infecção pelo vírus CHIKV.



Fonte: CDC/PAHO (2011).

A reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa (RT-PCR) é utilizada para um diagnóstico rápido de CHIKV. A RT-PCR com nested-PCR mostrou-se muito eficiente, quando realizadas combinadas, para identificar o vírus (SUDEEP; PARASHAR, 2008).

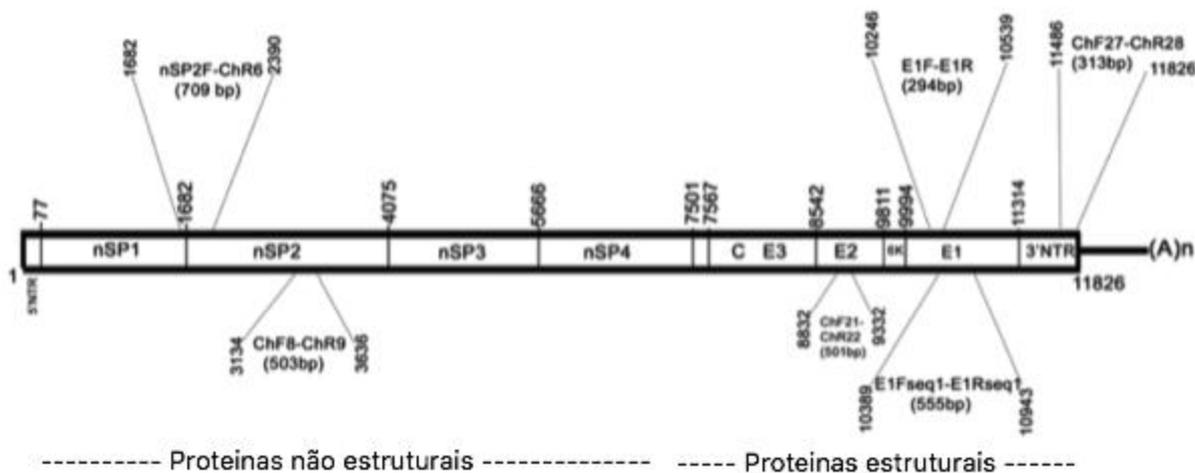
Utilizando-se a metodologia da RT-PCR foram amplificadas regiões específicas do genoma do CHIKV, porque mostra a variabilidade dos nucleotídeos e novas mutações através de sequenciamento, sendo assim adequados para uma análise filogenética (Tabela 1) (Figura 4) (NIYAS et al., 2010).

Tabela 1 – Iniciadores usados na amplificação do genoma do CHIKV.

Iniciadores	Sequência (5'→3'); localização em relação a sequência S27 (acesso GenBank AF369024)	Alvo	T _s (°C)	Tamanho da Amplificação
RT - PCR para detecção do CHIKV em pacientes e mosquitos adultos derivados da larva				
E1 F	taccattatgtgggc (10246-10263)	E1	52	294BP
E1 R	gccttgtacaccagatt (10539-10521)	E1	52	294BP
NSP2F	tgccatgggaataatagagactccg (1682-1699)	nsP2	52	294BP
ChR6	gcgagtaaccgtacgtgcag (2390-2370)	nsP2	55	313BP
ChF27	gtcccctaagagacacattg (11486-11505)	3'NTR	55	709BP
ChR28	tacgtccctgtgggttcggagaat (11798-11780)	3'NTR	52	709BP
RT - PCR de sequências parciais dos genes CHIKV para sequenciamento e análise filogenética				
E1Fseq1	gctccgctcctttacc (10389-10405)	E1	55	555BP
E1Rseq1	atggcgagccccaaagtc (10943-10924)	E1	55	555BP
ChF21	gggacacttcatcctggc (8832-8849)	E2	55	501BP
ChR22	acattgcccagcggaaac (9332-9315)	E2	55	501BP
ChF8	cctatcctcgaacagcg (3134-3151)	nsP2	55	503BP
ChR9	gtgactctcttagtaggc (3636-3619)	nsP2	45	503BP

Fonte: NYAS et al (2010).

Figura 5 – Sítios de anelamento dos iniciadores de RT-PCR para amplificação de regiões específicas do genoma do vírus CHIKV.



Fonte: NYAS et al (2010).

A técnica RT-qPCR ou RT-PCR em tempo real revolucionou o mercado com suas vantagens, devido a sua rapidez, sensibilidade, reprodutibilidade e menor contaminação, essa técnica está sendo usada na rotina para detectar e quantificar o vírus. Essa técnica é bastante utilizada para detectar o RNA viral devido à sua excelente sensibilidade e especificidade (SUDEEP; PARASHAR, 2008; KUCHARZ; CEBULA-BYRSKA, 2012).

Um novo método de amplificação de gene, chamado de RT-LAMP, também baseado no princípio da PCR em tempo real mostra-se um método rápido, sensível e específico para identificar e quantificar o vírus durante a fase aguda da doença. Tem grande potencial para substituir o PCR convencional por causa da sua simplicidade, rapidez, especificidade e baixo custo. Essa metodologia permite detectar com muita rapidez o CHIKV no soro do paciente em fase aguda da doença, e não é preciso o uso de equipamentos sofisticados. Esse método quantifica o vírus com a utilização do turbidímetro de loop (LAKSHMI et al., 2008).

O RT-LAMP é um ensaio para detecção rápida do CHIKV e é usado em exames clínicos nos quais é marcado o gene E1. Para os países em desenvolvimento esse método tem grande potencial para vigilância da CHIKV. O método de LAMP utiliza apenas um tipo de DNA polimerase com atividade de deslocamento de cadeia, por isso o preço é baixo. Então o padrão do RT-LAMP é voltando para o gene E1 para a detecção rápida e em tempo real do vírus. A RT-LAMP quando compara-se com RT-PCR e a PCR em tempo real é melhor por causa das suas vantagens, como a simplicidade da reação e a sensibilidade de detecção. Tem

uma alta sensibilidade e especificidade, devido à sua amplificação contínua sob condições isotérmicas, possuindo 6 iniciadores que conseguem reconhecer oito regiões diferentes do alvo (JAIANAND et al., 2010; PARIDA et al., 2007).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir de 2004, a doença Chikungunya começou a propagar-se pelo mundo todo chegando em todos os continentes. Como o vírus consegue adaptar-se a diferentes condições ambientais, a vigilância tem um importante papel em investir em campanhas para mostrar o risco desse vírus para a população.

Como os mosquitos vetores são os mesmos da dengue, muitas vezes o diagnóstico é concluído de forma errada. Por isso, é necessária muita atenção nas manifestações clínicas, como febre alta e artralgia, que é bem característico do CHIKV. Mas as pessoas que fazem parte do grupo de risco, às vezes podem não apresentar os sintomas clássicos e, sim, sintomas atípicos que atingem o sistema nervoso, cardiovascular, rins, olhos, entre outros.

Essa doença é dividida em aguda, subaguda e crônica. Na fase aguda, o repouso e a hidratação oral são essenciais e para aliviar a dor é indicado o uso de anti-inflamatório não hormonal. Na fase subaguda e crônica, o paciente pode usar corticosteróides, por pouco tempo, para artrites persistentes, ou então anti-inflamatórios não hormonais tópicos.

A prevenção vem por meio de medidas paliativas; para evitar as picadas dos mosquitos recomenda-se o uso de repelentes diariamente e mosquiteiros durante a noite, e também, fazer vistorias na casa para não deixar formar criadouros do vetor em locais que possam acumular água.

O CHIKV espalhou-se mais rápido nas Américas por vários fatores como as condições climáticas favoráveis para esses mosquitos. O principal vetor é *Ae. aegypti*, sendo o causador dos importantes surtos pelo mundo, mas posteriormente *Ae. albopictus* também causou surtos, resultando em dois vetores causadores da doença. Em algumas regiões, *Ae. Aegypti* perde a competição para *Ae. Albopictus*, onde este predominava e acabou se relacionando uma mutação (E1-226V) no vírus Chikungunya que transmite.

Para fechar o diagnóstico do CHIKV é necessário fazer isolamento viral, sorologia e técnicas moleculares. Na fase aguda, é feito o isolamento viral e RT-PCR, mas recentemente uma nova técnica de amplificação está sendo usada, o RT-LAMP, quando compara-se esse método com RT-PCR, aquele é melhor devido à sua rapidez na detecção, especificidade,

sensibilidade e, também, consegue quantificar o vírus. E já na fase tardia é feita a pesquisa de anticorpos para o fechar o diagnóstico.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria da Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Boletim Epidemiológico**. Brasília: Ministério da Saúde, v. 46, n. 36, 2015b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária da Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Plano de contingência para a introdução do vírus Chikungunya**. Brasília: Ministério da Saúde, 2014a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária da Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Preparação e resposta à introdução do vírus Chikungunya no Brasil**. Brasília: Ministério da Saúde, 2014b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria da Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Guia de Vigilância em Saúde**. Brasília: Ministério da Saúde, 2014c.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria da Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Febre Chikungunya: manejo clínico**. Brasília: Ministério da Saúde, 2015a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria da Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Casos importados da Febre Chikungunya no Brasil**. Brasília: Ministério da Saúde, 2010.

BURT, F. J. et al. Chikungunya: a re-emerging vírus. **The Lancet**, Londres, v. 379, n. 9816, p. 662-671, feb. 2012.

CDC. **Dengue and the Aedes aegypti mosquito**. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention, 2012a.

CDC. **Dengue and the Aedes albopictus mosquito**. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention, 2012b.

CDC/PAHO. **Preparedness and Response for Chikungunya Virus introduction in the Americas**. Washington: Pan American Health Organization, 2011.

CHEVILLON, C. et al. The Chikungunya threat: an ecological and evolutionary perspective. **Trends in Microbiology**, Cambridge, v. 16, n. 2, p. 80-88, feb. 2008.

COFFEY, L. L.; FAILLOUX, A.; WEAVER, S. C. Chikungunya Virus-Vector Interactions. **Viruses**, Basiléia, v. 6, n. 11, p. 4628-4663, nov. 2014.

CORDEIRO, A. M. et al. A. Revisão Sistemática: uma revisão narrativa. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, Rio de Janeiro, v. 34, n. 6, p. 428-431, nov./dez. 2007.

DAS, T. et al. Chikungunya fever: CNS infection and pathologies of a re-emerging arbovirus. **Progress in Neurobiology**, Amsterdã, v. 91, n. 2, p. 121-129, jun. 2010.

DONALISIO, M. R.; FREITAS, A. R. R. Chikungunya no Brasil: um desafio emergente. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, São Paulo, v. 18, n. 1, p. 283-285, jan./mar. 2015.

FERNANDÉZ, L. M.; NAVARRO, Y. P. T. Fiebre Chikungunya. **Revista Cubana de Medicina**, Havana, v. 54, n. 1, p. 74-96, mar. 2015.

GOMES, A. C. Medidas dos níveis de infestação urbana para *Aedes (stegomyia) aegypti* e *Aedes (stegomyia) albopictus* em programa de vigilância entomológica. **Informe Epidemiológico do SUS**, Brasília, v. VII, n. 3, p. 49-57, jul./set. 1998.

HER, Z. et al. Chikungunya: a bending reality. **Microbes and Infection**, Amsterdã, v. 11, n. 14-15, p. 1165-1176, dez. 2009.

JAIANAND, K. et al. Molecular detection of chikungunya vírus targeting the immunodominant envelope (E1) gene: current status and future applications. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, Índia, v. 1, n. 4, p. 282-293, out./dez. 2010.

JUNIOR, V. L. P. Dengue e Chikungunya: coexistência possível no Brasil. **Revista de Medicina e Saúde de Brasília**, Brasília, v. 3, n. 1, p. 2-3, jan./abr. 2014.

KUCHARZ, E. J.; CEBULA-BYRSKA, I. Chikungunya fever. **European Journal of Internal Medicine**, Amsterdã, v. 23, n. 4, p. 325-329, jun. 2012.

LAKSHMI, V. et al. Clinical features and molecular diagnosis of chikungunya fever from South India. **Clinical Infectious Diseases**, Oxford, v. 46, n. 9, p. 1436-1442, mai. 2008.

MAHENDRADAS, P.; AVADHANI, K.; SHETTY, R. Chikungunya and the eye: a review. **Journal of Ophthalmic Inflammation and Infection**, Alemanha, v. 3, n. 35, p. 1-9, fev. 2013.

NIYAS, K. P. et al. Molecular characterization of Chikungunya virus isolates from clinical samples and adult *Aedes albopictus* mosquitoes emerged from larvae from Kerala, South India. **Virology Journal**, Londres, v. 7; n. 189, p. 1-8, ago. 2010.

PAHO/WHO. **Informações para profissionais de saúde: Febre Chikungunya**. Washington, jan. 2014.

PARDIGON, N. The biology of chikungunya: a brief review of what we still do not know. **Pathologie Biologie**, Amsterdã, v. 57, n. 2, p. 127-132, mar. 2009.

PARIDA, M. M. et al. Rapid and real-time detection of Chikungunya virus by reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 45, n. 2, p. 351-357, fev. 2007.

POWERS, A. M; LOGUE, C. H. Changing patterns of chikungunya vírus: re-emergence of a zoonotic arbovirus. **Journal of General Virology**, Londres, v. 88, n. 9, p. 2363-2377, set. 2007.

PRESTI, A. L. et al. Chikungunya virus, epidemiology, clinics and phylogenesis: a review. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, Singapura, v. 7, n. 12, p. 925-932, dez. 2014.

ROSAS, A. S. Síndrome de Reye. **Hospital Militar “Dr. Carlos Arvelo”**, Caracas, out. 2002.

ROUGERON, V. et al. Chikungunya, a paradigm of neglected tropical disease that emerged to be a new health global risk. **Journal of Clinical Virology**, Filadélfia, v. 64, n. 3, p. 144-152, mar. 2015.

SANTOS, N. S. O. et al. Viroses Multisistêmicas. In: SANTOS, N. S. O.; ROMANOS, M. T. V.; WIGG, M. D. **Virologia Humana**. 3ª ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 350-397, 2015.

SEBASTIAN, M. R.; LODHA, R.; KABRA, S. K. Chikungunya infection in children. **Indian Journal of Pediatrics**, Nova Deli, v. 76, n. 2, p. 185-189, feb. 2009.

STAPLES, J. E.; BREIMAN, R. F.; POWERS, A. M. Chikungunya fever: an epidemiological review of a re-emerging infectious disease. **Clinical Infectious Diseases**, UK, v. 49, n. 6, p. 942-948, set. 2009.

SUDEEP, A. B.; PARASHAR, D. Chikungunya: an overview. **Indian Academy of Sciences**, Bangalore, v. 33, n. 4, p. 443-449, nov. 2008.

TAUIL, P. L. Condições para transmissão da febre do vírus chikungunya. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v. 23, n. 4, p. 773-774, out./dez. 2014.

THIBERVILLE, S. et al. Chikungunya fever: Epidemiology, clinical syndrome, pathogenesis and therapy. **Antiviral Research**, Amsterdã, v. 99, n. 3, p. 345-370, set. 2013.

TRUJILLO, A. I. C.; JIMÉNEZ, L. C. V. El virus chikungunya, una enfermedad emergente en América. **Revista de Ciencia Animal**, Bogotá, v. 10, n. 8, p. 85-93, mes. 2014.

VEGA-RÚA, A. et al. High level of vector competence of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from ten american countries as a crucial fator in the spread of Chikungunya Virus.

Journal of Virology, Washington, v. 88, n. 11, p. 6294-6306, jun. 2014.