

# Preparação e Resposta à Introdução do **Vírus Chikungunya** no Brasil

---

Baseado no livro *Preparación y respuesta ante la eventual introducción del virus chikungunya en las américas*



# Preparação e Resposta à Introdução do **Vírus Chikungunya** no Brasil

---

Baseado no livro *Preparación y respuesta ante la eventual  
introducción del virus chikungunya en las américas*



# Preparação e Resposta à Introdução do **Vírus Chikungunya** no Brasil

---

Baseado no livro *Preparación y respuesta ante la eventual  
introducción del virus chikungunya en las américas*



2014 Ministério da Saúde.



Esta obra é disponibilizada nos termos da Licença Creative Commons – Atribuição Não Comercial – Compartilhamento pela mesma licença 4.0 Internacional. É permitida a reprodução parcial ou total desta obra, desde que citada a fonte.

A coleção institucional do Ministério da Saúde pode ser acessada, na íntegra, na Biblioteca Virtual em Saúde do Ministério da Saúde: <[www.saude.gov.br/bvs](http://www.saude.gov.br/bvs)>.

Tiragem: 1ª edição – 2014 – 10.000 exemplares

*Elaboração, distribuição e informações*

MINISTÉRIO DA SAÚDE  
Secretaria de Vigilância em Saúde  
Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis  
Coordenação-Geral do Programa Nacional de Controle da Dengue  
Esplanada dos Ministérios, bloco G, Edifício Sede  
1º andar, sala 141  
CEP: 70058-900 – Brasília/DF  
Site: [www.saude.gov.br/svs](http://www.saude.gov.br/svs)  
E-mail: [svs@saude.gov.br](mailto:svs@saude.gov.br)

*Produção*

Núcleo de Comunicação/GAB/SVS

*Colaboração*

Fabiano Geraldo Pimenta Júnior  
Giovannini Evelim Coelho  
Haroldo Sérgio da Silva Bezerra  
Ima Aparecida Braga  
João Bosco da Siqueira Júnior  
José Luís San Martin  
Livia Carla Vinhal Frutuoso  
Otávio Oliva

Pedro Fernando da Costa Vasconcelos

Ricardo Lourenço de Oliveira  
Rita M. R. Nogueira  
Rivaldo Venâncio da Cunha  
Roberta Gomes Carvalho  
Rodrigo Fabiano do Carmo Said

*Capa e diagramação*

Fred Lobo – Nucom/GAB/SVS

*Editora responsável*

MINISTÉRIO DA SAÚDE  
Secretaria-Executiva  
Subsecretaria de Assuntos Administrativos  
Coordenação-Geral de Documentação e Informação  
Coordenação de Gestão Editorial  
SIA, Trecho 4, lotes 540/610  
CEP: 71200-040 – Brasília/DF  
Tels.: (61) 3315-7790 / 3315-7794  
Fax: (61) 3233-9558  
Site: <http://editora.saude.gov.br>  
E-mail: [editora.ms@saude.gov.br](mailto:editora.ms@saude.gov.br)

*Equipe editorial*

Normalização: Daniela Ferreira Barros da Silva  
Revisão: Khamila Silva e Tatiane Souza

Impresso no Brasil / Printed in Brazil

Ficha Catalográfica

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis.

Preparação e resposta à introdução do vírus Chikungunya no Brasil / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília : Ministério da Saúde, 2014.  
100 p. : il.

Baseado no livro Preparación y respuesta ante la eventual introducción del virus chikungunya en las américas.

ISBN 978-85-334-2157-8

1. Vírus Chikungunya. 2. Epidemiologia. 3. Agravos à saúde. 4. Saúde pública. I. Título.

CDU 616-022

Catálogo na fonte – Coordenação-Geral de Documentação e Informação – Editora MS – OS 2014/0471

*Títulos para indexação*

Em inglês: Preparation and response to introduction of Chikungunya virus in Brazil.

Em espanhol: Preparación y respuesta a la introducción del virus Chikungunya en Brasil.

<b>1</b>	<b>EPIDEMIOLOGIA</b>	<b>6</b>
1.1	Surtos recentes	7
1.2	Dinâmica de transmissão	8
<b>2</b>	<b>CLÍNICA</b>	<b>10</b>
2.1	Apresentação clínica da doença	11
2.2	Manifestações atípicas	14
2.3	Grupos de risco	15
2.4	Diagnóstico diferencial	16
<b>3</b>	<b>LABORATÓRIO</b>	<b>18</b>
3.1	Tipos de exames laboratoriais disponíveis e amostras exigidas	19
3.2	Vigilância laboratorial	23
3.3	Interpretação e comunicação dos resultados	24
<b>4</b>	<b>MANEJO DOS CASOS</b>	<b>26</b>
4.1	Tratamento	27
4.2	Capacidade assistencial e hospitalar a surtos epidêmicos	28
4.3	Segurança de sangue, órgãos e tecidos	32
<b>5</b>	<b>VIGILÂNCIA E RESPOSTA AO SURTO</b>	<b>34</b>
5.1	Modos de vigilância	35
5.2	Deteção de casos	36
5.3	Definição de casos	37
5.4	Notificação de casos	37
5.5	Regulamento Sanitário Internacional e Medidas de Fronteira	39
<b>6</b>	<b>VIGILÂNCIA E CONTROLE DO VETOR</b>	<b>42</b>
6.1	Reduzir o risco de CHIKV	47
6.2	Resposta à introdução CHIKV	49
	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>50</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>52</b>
	<b>APÊNDICES</b>	<b>62</b>
	Apêndice A – Protocolo de isolamento viral (para cultura de célula)	63
	Apêndice B – Protocolo da reação da polimerase em cadeia em tempo real	66
	Apêndice C – Protocolos sorológicos IgM e IgG	69
	Apêndice D – Exemplo de um formulário de notificação de casos	82
	Apêndice E – Relatório de evento/surto de importância para saúde pública	84
	Apêndice F – Procedimentos de controle de vetores	85
	Apêndice G – Controle de vetores de contenção do CHIKV	87
	Apêndice H – Modelo de risco e plano de comunicação em caso de surto	91

# 1 EPIDEMIOLOGIA

---

O CHIKV é um vírus RNA que pertence ao gênero Alphavírus da família *Togaviridae*. O nome *chikungunya* deriva de uma palavra em Makonde que significa aproximadamente “aqueles que se dobram”, descrevendo a aparência encurvada de pacientes que sofrem de artralgia intensa.

Casos humanos com febre, exantema e artrite aparentando ser CHIKV foram relatados no início de 1770. Porém, o vírus não foi isolado do soro humano ou de mosquitos até a epidemia na Tanzânia de 1952-53. Outros surtos ocorreram subsequentemente na África e na Ásia. Muitos ocorreram em pequenas comunidades ou comunidades rurais. No entanto, na Ásia, cepas de CHIKV foram isoladas durante grandes surtos urbanos em Bangkok e Tailândia em 1960 e em Calcutá e Vellore, na Índia, durante as décadas de 60 e 70.

## 1.1 Surto recentes

Após a identificação inicial do CHIKV, surtos ocorreram esporadicamente, e uma pequena transmissão foi relatada após metade dos anos 80. Todavia, em 2004, um surto originário da costa do Quênia, espalhou-se pelas Ilhas Comoros, Réunion e muitas outras ilhas do Oceano Índico durante os dois anos seguintes. Da primavera de 2004 ao verão de 2006, ocorreu um número estimado em 500 mil casos.

A epidemia propagou-se do Oceano Índico à Índia, onde grandes eventos emergiram em 2006. Uma vez introduzido, o CHIKV alastrou-se em 17 dos 28 estados da Índia e infectou mais de 1,39 milhão de pessoas antes do final do ano. O surto da Índia continuou em 2010 com novos casos aparecendo em áreas não envolvidas no início da fase epidêmica. Os casos também têm sido propagados da Índia para as Ilhas de Andaman e Nicobar, Sri Lanka, Ilhas Maldivas, Singapura, Malásia, Indonésia e numerosos outros países por meio de viajantes virêmicos. A preocupação com a propagação do CHIKV atingiu um pico em 2007, quando o vírus foi encontrado em transmissão autóctone (humano-para-mosquito-para-humano) no norte da Itália após ser introduzido por um viajante com o vírus advindo da Índia. As taxas de ataque em comunidades afetadas em recentes epidemias variaram de 38% a 63% e, embora em níveis reduzidos, muitos casos destes países continuam sendo relatados. Em 2010, o vírus continua a causar doença na Índia, na Indonésia, em Myanmar, na Tailândia, nas Maldivas e reapareceu na Ilha Réunion. Casos importados também foram identificados no ano de 2010 em Taiwan, na França, nos Estados Unidos e no Brasil, trazidos por viajantes advindos, respectivamente, da Indonésia, da Ilha Réunion, da Índia e do sudoeste asiático.



Durante os recentes surtos, indivíduos virêmicos com CHIKV foram encontrados no Caribe (Martinica), nos Estados Unidos e na Guiana Francesa. Todos esses indivíduos estavam retornando de áreas com endemia ou epidemia de CHIKV e, portanto, a transmissão não ocorreu de forma autóctone. Porém, todas essas áreas têm mosquitos vetores competentes e hospedeiros suscetíveis aumentando o risco da transmissão endêmica do CHIKV nas Américas. Diante desses fatores, o CHIKV tem a capacidade de emergir, reemergir e propagar-se rapidamente em novas áreas, dessa forma, torna-se necessário a implantação e o aprimoramento das ações de vigilância do vírus no Brasil.

## 1.2 Dinâmica de transmissão

### Vetores

Existem dois vetores principais do CHIKV, *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*. Ambos os mosquitos são amplamente distribuídos por todos os trópicos com *Ae. Albopictus*, sendo também presentes em latitudes mais temperadas. Dada a distribuição dos vetores pelas Américas, toda a região é suscetível à introdução e à propagação do vírus.

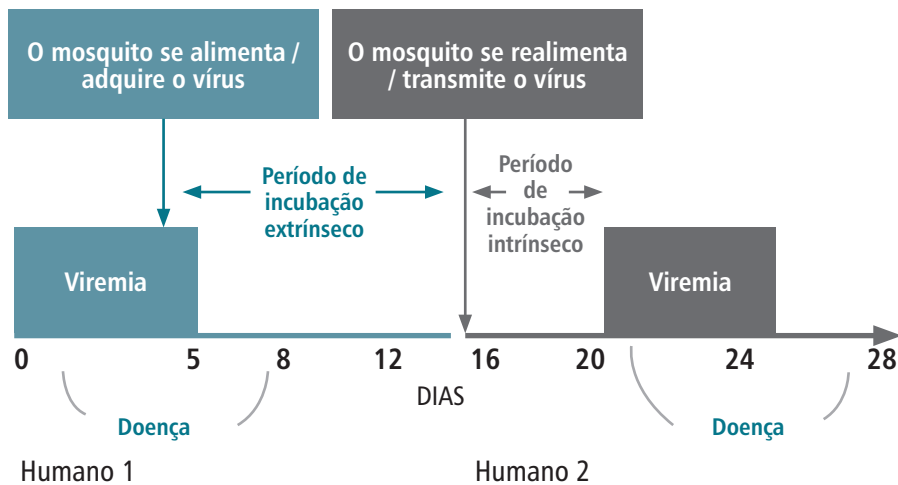
### Reservatórios

Humanos servem como o principal reservatório do CHIKV durante períodos de epidemia. Durante períodos interepidêmicos, um número de vertebrados tem sido implicados como potenciais reservatórios, incluindo primatas não humanos, roedores, pássaros e outros pequenos mamíferos.

### Períodos de incubação

Os mosquitos adquirem o vírus de um hospedeiro virêmico. Após um período de incubação médio de dez dias, o mosquito torna-se capaz de transmitir o vírus a um hospedeiro suscetível, tal como um humano. Em humanos picados por um mosquito infectado, os sintomas da doença tipicamente aparecem após um período de incubação intrínseco médio de 3-7 dias (intervalo 1-12 dias) (Figura 1).

Figura 1 – Períodos de incubação extrínseca e intrínseca para o vírus Chikungunya



Fonte: Centres for Disease Control and Prevention/CDC e Organização Pan-Americana da Saúde.

### Suscetibilidade e imunidade

Todos os indivíduos não previamente expostos ao CHIKV (indivíduos suscetíveis) estão sob o risco de adquirir infecção e desenvolver a doença. Acredita-se que, uma vez exposto ao CHIKV, indivíduos desenvolverão uma imunidade duradoura que os protegerá contra uma nova infecção.

## 2 CLÍNICA

---

## 2.1 Apresentação clínica da doença

A partir da picada por mosquito infectado com o CHIKV, a maioria dos indivíduos apresenta doença sintomática após um período de incubação de dez dias. Porém, nem todos os indivíduos infectados com o vírus desenvolvem sintomas. Análises sorológicas indicam que 3% a 28% das pessoas com anticorpos antiCHIKV apresentam infecção assintomática. Indivíduos agudamente infectados por CHIKV, seja clinicamente aparentes ou assintomáticos, podem contribuir para a propagação da doença se os vetores que transmitem o vírus estiverem presentes e ativos na mesma localidade.

O CHIKV pode causar doença aguda, subaguda e crônica.

### Fase aguda

- A doença aguda é mais comumente caracterizada por febre de início súbito (tipicamente maior que 39°C) e dor articular intensa. Outros sinais e sintomas podem incluir cefaleia, dor difusa nas costas, mialgia, náusea, vômito, poliartrite, erupção cutânea e conjuntivite (Tabela 1). A fase aguda do CHIKV dura de 3-10 dias.

Tabela 1 – Frequência de sintomas agudos da infecção por CHIKV

Sinal ou sintoma	Faixa de frequência (% de pacientes sintomáticos)
Febre	76-100
Poliartralgia	71-100
Cefaleia	17-74
Mialgia	46-72
Dor nas costas	34-50
Náusea	50-69
Vômito	4-59
Exantema	28-77
Poliartrite	12-32
Conjuntivite	3-56

Fonte: (BORGHERIN et al., 2007; STAIKOWSKY et al., 2008; STAIKOWSKY et al., 2009; REZZA et al., 2007).

Nota: Tabela compilada de uma série de estudos.

- A febre dura de poucos dias até uma semana. Pode ser contínua ou intermitente; porém, a queda de temperatura não é associada à piora dos sintomas. Ocasionalmente, pode ser associada a uma bradicardia relativa.
- Sintomas articulares são comumente simétricos e ocorrem frequentemente nas mãos e nos pés, mas podem afetar articulações mais proximais. Edema também pode ser visto e é frequentemente associado com tenossinovite. Os pacientes podem ficar incapacitados devido à dor, à fragilidade, ao edema e à rigidez, sendo incapazes de executar tarefas normais ou ir ao trabalho, e podem ficar confinados devido a esses sintomas.
- Exantemas normalmente ocorrem de dois a cinco dias após o início da febre em aproximadamente metade dos pacientes. As erupções são tipicamente maculopapulares, envolvendo o tronco e as extremidades, mas também podem incluir as regiões palmar, plantar e a facial. Também podem se apresentar como eritema difuso que cede sob pressão. Em crianças, as lesões do tipo vesículo-bolhosas são as manifestações cutâneas mais comuns.
- Não há achados hematológicos patognomônicos significativos observados em infecções por CHIKV. Achados laboratoriais anormais podem incluir trombocitopenia leve ( $>100.000/\text{mm}^3$ ), leucopenia e testes de função hepática elevados. A taxa de sedimentação de eritrócitos e a proteína C-reativa estão frequentemente elevadas.
- Raramente formas graves da doença podem ocorrer com manifestações atípicas. Mortes relacionadas à infecção por CHIKV são incomuns. Entretanto, um aumento na taxa de óbito absoluto foi relatado durante as epidemias de 2004-2008 na Índia e na Ilha Maurício.

## Doença subaguda e crônica

- Após os primeiros dez dias, a maioria dos pacientes sentirá uma melhora na saúde geral e na dor articular. Porém, após este período, uma recaída dos sinais pode ocorrer com alguns pacientes reclamando de vários sintomas reumáticos, incluindo poliartrite distal, exacerbação da dor em articulações e ossos previamente feridos e tenossinovite hipertrófica subaguda nos punhos e tornozelos. Isso é muito comum entre dois e três meses após o início da doença. Alguns pacientes também podem desenvolver distúrbios vasculares periféricos, como a síndrome de Raynaud. Além dos sintomas físicos, a maioria dos pacientes reclama de sintomas depressivos, cansaço geral e fraqueza.

- A doença crônica é definida por sintomas que persistem mais de três meses. A frequência de pessoas relatando sintomas persistentes varia substancialmente por estudo e pela quantidade de tempo decorrido entre o seu início e o tratamento. Estudos da África do Sul mostraram que 12%-18% dos pacientes terão sintomas persistentes de 18 meses a 3 anos. Em estudos mais recentes na Índia, a proporção de pacientes com sintomas persistentes dez meses após o início da doença foi de 49%. Dados da Ilha Réunion demonstraram que 80%-93% dos pacientes se queixam de sintomas persistentes três meses após o início da doença; o que diminui para 57% aos 15 meses e 47% aos dois anos. (F. Simone, Departamento de Doenças Infecciosas e Medicina Tropical, Hospital Militar de Laveran, Paris, França, *comunicação pessoal*).
- O sintoma persistente mais comum é artralgia inflamatória nas mesmas articulações afetadas durante os estágios agudos. Geralmente, não há mudança significativa em testes laboratoriais e nas radiografias das áreas afetadas. Porém, alguns indivíduos desenvolvem artropatia/artrite semelhante à artrite reumatoide ou artrite psoriática. Outros sintomas da fase crônica da doença podem incluir cansaço e depressão<sup>6</sup>. Fatores de risco para a não recuperação são: idade avançada (maiores de 65 anos), problemas de articulação preexistentes e doenças agudas mais graves.

## 2.2 Manifestações atípicas

Embora a maioria das infecções por CHIKV resultem em febre e artralgias, manifestações atípicas podem ocorrer decorrentes dos efeitos diretos do vírus, resposta imunológica e/ou toxicidade dos medicamentos (Quadro 1).

Quadro 1 – Manifestações atípicas da infecção por CHIKV

Sistema	Manifestações Clínicas
Neurológico	Meningoencefalite, encefalopatia, convulsões, síndrome de Guillain-Barré, síndrome cerebelar, paresia, paralisia, neuropatia.
Ocular	Neurite óptica, iridociclite, episclerite, retinite, uveíte.
Cardiovascular	Miocardite, pericardite, insuficiência cardíaca, arritmias, instabilidade hemodinâmica.
Dermatológico	Hiperpigmentação fotossensível, úlcera aftosa intertriginosa, dermatose vesículo-bolhosa.
Renal	Nefrite, insuficiência renal aguda.
Outro	Discrasias hemorrágicas, pneumonia, insuficiência respiratória, hepatite, pancreatite, SSIHA, hipoadrenalismo.

Fonte: Adaptado por Rajapakse et al.

Certas manifestações atípicas são mais comuns em certos grupos. Por exemplo, meningoencefalite e dermatose vesículo-bolhosa são mais observadas em crianças e bebês, respectivamente.

## 2.3 Grupos de risco

CHIKV pode afetar indivíduos de todas as idades e ambos os sexos. Entretanto, a apresentação clínica é conhecida por variar de acordo com a idade, sendo a muito jovem (neonatal) e a idade avançada os períodos considerados como fator de risco para as doenças mais graves. Além da idade, as comorbidades (doenças subjacentes) também vêm sendo identificadas como fator de risco para pior evolução da doença.

A maioria das infecções por CHIKV que ocorre durante a gravidez não resulta na transmissão do vírus para o feto. Existem, porém, raros relatos de abortos espontâneos após a infecção maternal por CHIKV. O risco maior de transmissão parece ser quando mulheres são infectadas durante o período de intraparto. Bebês são tipicamente assintomáticos ao nascimento e então desenvolvem febre, dor, erupção cutânea e edema periférico. Aqueles infectados durante o período intraparto podem também desenvolver doenças neurológicas (por exemplo, meningoencefalite, lesões de substância branca, edema cerebral e hemorragia intracraniana), sintomas hemorrágicos e doença do miocárdio. Anormalidades laboratoriais incluíram testes de função hepática aumentados, plaquetas e contagem de linfócitos reduzidos e níveis de protrombina diminuídos. Neonatos que sofrem de doença neurológica geralmente desenvolvem incapacidades em longo prazo. Não há evidência de que o vírus seja transmitido através do leite materno.

Indivíduos maiores de 65 anos tiveram uma taxa de mortalidade 50 vezes superior quando comparados ao adulto jovem (menores de 45 anos de idade). Apesar de não ser claro por que os adultos mais velhos têm um risco aumentado para doença mais grave, pode ser devido à frequência de comorbidades ou resposta imunológica diminuída.



## 2.4 Diagnóstico diferencial

Febre com ou sem artralgia é uma manifestação muito comum em várias outras doenças. CHIKV pode não ter manifestações típicas ou pode coexistir com outras doenças infecciosas como a dengue ou a malária (Quadro 2).

Quadro 2 – Doenças ou agentes no diagnóstico diferencial de CHIKV

Agente ou doença	Apresentação
Malária	Periodicidade da febre e alteração de consciência.
Dengue	Febre e dois ou mais dos seguintes: dor retro-orbital ou ocular, cefaleia, exantema, mialgia, artralgia, leucopenia ou manifestações hemorrágicas.
Leptospirose	Mialgia severa localizada na panturrilha com congestão/hemorragia conjuntival ou subconjuntival com ou sem icterícia ou oligúria. Considerar história de contato com água contaminada.
Infecções alphavirais (vírus Mayaro, vírus Ross River, vírus Floresta de Barmah, vírus O'nyong nyong e vírus Sindbis)	Apresentação clínica semelhante ao CHIKV; use história de viagem e áreas sabidamente afetadas pelo vírus Mayaro nas Américas.
Artrite pós-infecciosa (inclusive febre reumática)	Artrite de uma ou mais, tipicamente grandes articulações devido a doenças infecciosas tais como clamídia, shigella, gonorreia, entre outras. Febre reumática (FR) é vista mais frequentemente em crianças como poliartrite migratória predominantemente afetando grandes articulações. Considerar título de ASO e história de amigdalite com critério de Jones para FR.
Artrite reumatoide juvenil	Febre de início súbito e envolvimento articular subsequente em crianças.

Fonte: Centres for Disease Control and Prevention/CDC e Organização Pan-Americana da Saúde.

## Sobreposição e confusão com a dengue

CHIKV deve ser diferenciada da dengue, a qual tem um potencial para resultados muito piores, incluindo a morte. As duas doenças podem ocorrer juntas no mesmo paciente. Observações de surtos prévios na Tailândia e na Índia têm demonstrado as principais características que distinguem o CHIKV de dengue. Em CHIKV, choque ou hemorragia grave é raramente observado; o início é mais agudo e a duração da febre é muito mais curta. Também em CHIKV, exantema maculopapular é mais frequente que na dengue (Tabela 2). Embora as pessoas possam se queixar de dor corporal difusa, a dor é muito mais pronunciada e localizada nas articulações e tendões em CHIKV, quando comparadas a dengue.

Tabela 2 – Comparação das características clínicas e laboratoriais de infecções do vírus de Chikungunya e da dengue\*

Características Clínicas e Laboratoriais	Infecção pelo vírus de Chikungunya	Infecção pelo vírus da dengue
Febre (>102°F ou 39°C)	+++	++
Mialgias	+	++
Artralgias	+++	+/-
Cefaleia	++	+ +**
Erupção cutânea	++	+
Discrasias hemorrágicas	+/-	++
Choques	-	+
Leucopenia	++	+++
Neutropenia	+	+++
Linfopenia	+++	++
Hematócrito elevado	-	++
Trombocitopenia	+	+++

Fonte: Tabela modificada a partir de Staples; Breiman; Powers, 2009.

\*Frequência média dos sintomas de estudos, onde as duas doenças foram diretamente comparadas entre pacientes que procuravam ajuda; +++ = 70%-100% dos pacientes; ++ = 40%-69%; + = 10%-39%; +/- = <10%; - = 0%.

\*\*Geralmente retro-orbital.

## 3 LABORATÓRIO

---

### 3.1 Tipos de exames laboratoriais disponíveis e amostras exigidas

Três tipos principais de testes de laboratório são utilizados para diagnosticar CHIKV: isolamento do vírus, reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) e sorologia. As amostras colhidas durante a primeira semana após o início dos sintomas devem ser testadas por dois métodos: *sorológico* (IgM e IgG ELISA) e *viroológico* (RT-PCR e isolamento). As amostras são geralmente sangue ou soro, mas nos casos neurológicos com características meningoencefálicas, líquido cérebro-espinhal também podem ser coletados. Para a detecção do vírus por isolamento e por RT-PCR a partir de tecidos e/ou órgãos a informação é limitada. Na suspeita de casos fatais, a detecção de vírus pode ser testada nas amostras disponíveis.

A seleção do teste laboratorial adequado baseia-se na origem da amostra (humana ou coleta de mosquitos) e na data de início dos sintomas, no caso de seres humanos.

#### O isolamento do vírus

O isolamento do vírus pode ser realizado em mosquitos coletados no campo ou em amostras de soro na fase aguda ( $\leq 8$  dias). O soro obtido de sangue total colhido durante a primeira semana de doença deve ser transportado refrigerado (entre 2°C-8°C ou gelo seco) o mais rapidamente possível (dentro de 48 horas) para o laboratório, para ser inoculado em uma linhagem de células sensíveis ou uso de camundongos. CHIKV produzirá efeitos citopáticos típicos dentro de três dias após a inoculação em uma variedade de linhagens de células, incluindo células Vero, BHK-21, e as células HeLa. O isolamento do vírus pode ser realizado em frascos T-25 ou frascos estéreis (veja Apêndice A). No entanto, dados recentes sugerem que o isolamento em frascos estéreis é mais sensível e produz efeitos citopáticos (CPE) antes de isolamento comparado com frascos tradicionais. O isolamento de CHIKV deve ser confirmado por IFI utilizando antissoro CHIKV específico ou por RT-PCR do sobrenadante de cultura ou de suspensão de cérebro de rato. O isolamento do vírus só pode ser realizado em laboratórios BSL-3 para reduzir o risco de transmissão viral.

## RT-PCR

Diversos ensaios de RT-PCR para a detecção de RNA CHIKV foram publicados na literatura. PCR em tempo real com ensaios fechados devem ser utilizados devido à sua maior sensibilidade e menor risco de contaminação. O Laboratório de Diagnóstico no *Center for Disease Control and Prevention (CDC), Division of Vector-borne Diseases (DVBD)*, rotineiramente utiliza o ensaio publicado no Apêndice B que demonstra uma sensibilidade de menos de 1 PFU ou 50 cópias do genoma. Soro de sangue total é utilizado para os testes de PCR, assim como o isolamento do vírus.

## Testes sorológicos

Para o diagnóstico sorológico, o soro obtido a partir de sangue total é utilizado em *enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)* e o teste de neutralização por redução de placas (PRNT). A amostra de soro (ou sangue) deve ser transportada entre 2°C-8°C, sem congelamento. O diagnóstico sorológico pode ser feito pela demonstração de anticorpos IgM específicos para CHIKV ou por um aumento de quatro vezes no título de PRNT em amostras das fases aguda e convalescente. Anticorpos IgM específicos para CHIKV são demonstrados pela utilização de técnicas que detectam o anticorpo imunoglobulina M (IgM) como o ELISA de captura (MAC-ELISA) seguida do PRNT (protocolos detalhados para IgM e IgG ELISA estão apresentados no Apêndice C). O PRNT é necessário para confirmar os resultados do MAC-ELISA pelo fato de reatividade cruzada no MAC-ELISA entre alguns membros do sorogrupo do vírus da Floresta Semliki (SFV) ter sido observado. Testes de PRNT, utilizado para confirmar o MAC-ELISA ou demonstrar um aumento de quatro vezes em amostras nas fases aguda e convalescente, deve sempre incluir outros vírus dentro do sorogrupo SFV (como por exemplo, o vírus Mayaro) para validar a especificidade da reatividade. Em situações em que o ensaio PRNT não estiver disponível, outros testes sorológicos (por exemplo, inibição da hemaglutinação) podem ser usados para identificar uma infecção recente com alfavírus, porém PRNT é necessário para confirmar uma infecção recente com CHIKV.

O soro da fase aguda deve ser coletado imediatamente após o início da doença e o soro na fase convalescente entre 10 e 14 dias após. O IgM específico do CHIKV e anticorpos neutralizantes normalmente se desenvolvem no final da primeira semana de doença. Portanto, para excluir definitivamente o diagnóstico, as amostras na fase convalescente devem ser obtidas em pacientes cujas amostras na fase aguda tenham negativas.

## Coleta, armazenamento e transporte de amostras

Coleta apropriada, tratamento, armazenamento e transporte das amostras são aspectos essenciais do diagnóstico laboratorial.

### **Coleta de amostras para sorologia, isolamento e diagnóstico molecular**

**Amostra:** Soro

#### **Tempo de coleta**

Fase aguda: dentro dos primeiros oito dias de doença; fase convalescente: entre 10 e 14 dias após a coleta da amostra em fase aguda.

#### **Para a coleta de soro:**

- Coletar assepticamente 4-5 ml de sangue venoso em um tubo ou um frasco.
- Deixar o sangue coagular em temperatura ambiente e centrifugar a 2.000 rpm para separação do soro. Coletar o soro em um frasco limpo e seco.
- Todas as amostras clínicas devem ser acompanhadas das informações clínicas e epidemiológicas dos indivíduos.

## **Outros tipos de amostras para investigação laboratorial**

**Espécimes:** Líquido cérebro-espinhal em casos de meningoencefalite

O líquido sinovial na artrite com derrame

Autópsia material – soro ou tecidos disponíveis

[Nota: Os mosquitos coletados em campo também serão tratados usando as mesmas técnicas descritas aqui].

### **Transporte das amostras:**

- O transporte das amostras para o laboratório deve ser a 2°C-8°C (caixa com gelo), o mais rapidamente possível.
- Não congelar o sangue total, pois a hemólise pode interferir no resultado do teste de sorologia.
- Se mais de 24 horas de atraso ocorre antes de amostras serem enviadas para o laboratório, o soro deve ser separado e armazenado em temperatura refrigerada.
- As amostras de soro para isolamento viral e o diagnóstico molecular devem ser armazenados congelados (ou a -20°C para armazenamento de curto prazo ou a -70°C para armazenamento de longo prazo).

## 3.2 Vigilância laboratorial

O Quadro 3, a seguir, descreve os testes ideais a serem realizados em diversos contextos epidemiológicos.

Quadro 3 – Vigilância laboratorial de vírus Chikungunya em um cenário epidemiológico

Cenário Epidemiológico	Testes a serem realizados	Amostras para testar
Nenhum sinal de transmissão	IgM ELISA, IgG ELISA	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Todas as amostras de pacientes apresentando doença clinicamente compatível.</li> <li>– Protocolo Unidades Sentinelas que utilizam o teste Ns1 para dengue.</li> </ul>
Doença CHIKV suspeita	IgM ELISA, IgG ELISA, RT-PCR em tempo real, isolamento de vírus, PRNT	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Todas as amostras de pacientes apresentando doença clinicamente compatível.</li> <li>– Protocolo Unidades Sentinelas que utilizam o teste Ns1 para dengue.</li> </ul>
Transmissão continuada	IgM ELISA, IgG ELISA, RT-PCR em tempo real; isolamento de vírus limitada	<ul style="list-style-type: none"> <li>– 10% de amostras de casos clássicos de CHIKV.</li> <li>– Amostras de todos os casos atípicos e/ou graves.</li> <li>– Grupos de risco: maiores de 65 anos, menores de 15 anos, gestantes e pacientes com comorbidades.</li> </ul>
Epidemias periódicas (uma vez que CHIKV foi detectado em uma área) ou vigilância ativa em áreas próximas a transmissão de CHIKV	IgM ELISA, IgG ELISA, RT-PCR em tempo real; isolamento limitado de vírus	<ul style="list-style-type: none"> <li>– 10% de amostras de casos clássicos de CHIKV.</li> <li>– Amostras de todos os casos atípicos e/ou graves.</li> <li>– Grupos de risco: maiores de 65 anos, menores de 15 anos, gestantes e pacientes com comorbidades.</li> </ul>

Fonte: Adaptado de Centres for Disease Control and Prevention/CDC e Organização Pan-Americana da Saúde.



### 3.3 Interpretação e comunicação dos resultados

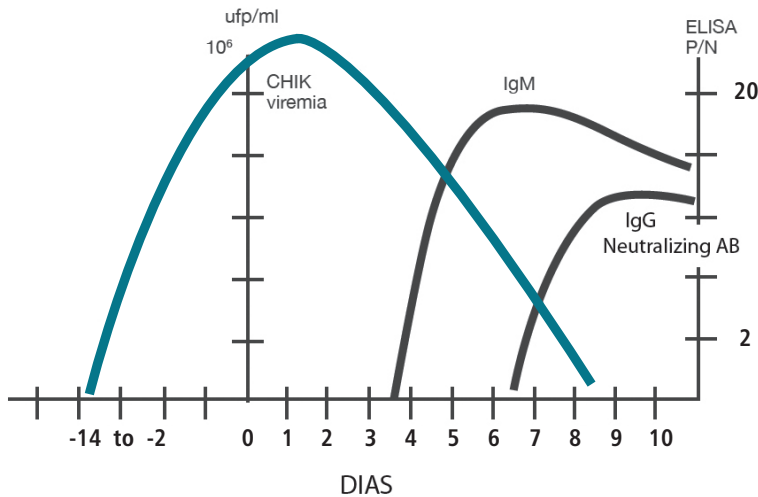
Viremia e resposta de anticorpos típicos de seres humanos são ilustradas na Figura 2, e a Tabela 3 descreve os resultados típicos de amostras de teste em vários intervalos de tempo.

Tabela 3 – Resultados típicos das amostras testadas em vários intervalos de tempo após infecção

Dias após o início da doença	Teste de vírus	Teste de anticorpos
Dia 1-3	RT-PCR = Positivo	IgM = Negativo
	Isolamento = Positivo	PRNT = Negativo
Dia 4-8	RT-PCR = Positivo	IgM = Positivo
	Isolamento = Negativo	PRNT = Negativo
>Dia 8	RT-PCR = Negativo	IgM = Positivo
	Isolamento = Negativo	PRNT = Positivo

Fonte: Centres for Disease Control and Prevention/CDC e Organização Pan-Americana da Saúde.

Figura 2 – Viremia e resposta imune seguida de infecção por vírus Chikungunya



Fonte: Centres for Disease Control and Prevention/CDC e Organização Pan-Americana da Saúde.

Os resultados dos seguintes testes laboratoriais confirmariam uma infecção recente com CHIKV:

- Isolamento da CHIKV, incluindo a identificação e confirmação (IFA, RT-PCR ou sequenciamento).
- Detecção de RNA de CHIKV por RT-PCR em tempo real.
- Identificação de um resultado positivo de IgM em um paciente com sintomas agudos de CHIKV, seguido da demonstração de anticorpos específicos para CHIKV determinado pelo PRNT com vírus nos sorogrupo SFV.
- Demonstração de soro conversão ou um aumento de quatro vezes no PRNT, HI, ou títulos de ELISA (novamente usando outros vírus do sorogrupo SFV) entre as amostras nas fases aguda e convalescente.

A comunicação de casos autóctones para a OMS deve ser relatada de acordo com o Regulamento Sanitário Internacional (ver Seção 6F).

## 4 MANEJO DOS CASOS

---

## 4.1 Tratamento

Não há tratamento antiviral específico para CHIKV. Tratamento sintomático é recomendado após a exclusão de condições mais graves tais como malária, dengue e infecções bacterianas.

### Doença aguda

O tratamento é sintomático ou de suporte, consistindo de repouso e uso de acetaminofeno ou paracetamol para aliviar a febre, e ibuprofeno, naproxeno ou outro anti-inflamatório não hormonal para aliviar o componente artrítico da doença. Uso de aspirina não é recomendado devido ao risco de hemorragia em um baixo número de pacientes e risco de desenvolvimento de síndrome de Reye em crianças menores de 12 anos de idade. Em pacientes com dor articular severa que não cede com anti-inflamatórios não hormonais, o uso de narcóticos (morfina) ou corticosteroides de curto prazo podem ser indicados após avaliar o risco-benefício desses tratamentos. Pacientes devem ser orientados a ingerir líquidos em abundância a fim de recuperar fluido perdido por sudorese, vômitos e outras perdas imensuráveis.

### Doença subaguda e crônica

Se por um lado a recuperação da febre do Chikungunya é o resultado esperado, a convalescência pode ser prolongada (algumas vezes até um ano ou mais) e dor articular persistente pode exigir gerenciamento, incluindo terapia anti-inflamatória prolongada. Embora um estudo mais antigo tenha sugerido que fosfato de cloroquina ofereça algum benefício, um estudo recente duplo-cego controlado por placebo e randomizado concluiu que este agente não apresenta benefício no tratamento de sintomas articulares. Artrite periférica debilitante com tendência a persistir por meses, se refratária a outros agentes, pode ocasionalmente responder a corticosteroides de curto prazo. A fim de limitar o uso de corticosteroides orais, injeções locais (intra-articulares) de corticosteroides ou anti-inflamatórios não hormonais tópicos podem ser usados. Em pacientes com sintomas articulares refratários, terapias alternativas tais como metotrexate podem ser avaliadas. Além de farmacoterapia, casos de artralgia prolongada e rigidez articular podem se beneficiar de um programa de fisioterapia graduada. Movimentação e exercício leve tendem a melhorar a rigidez articular matinal e dor, mas exercício intenso pode exacerbar os sintomas.

## 4.2 Capacidade assistencial e hospitalar a surtos epidêmicos

No pico de um surto epidêmico recente, 47 mil casos suspeitos foram identificados, em apenas uma semana, em uma população de 766 mil habitantes. Adicionalmente, pode haver uma acumulação de pacientes com sintomas buscando assistência de longo prazo. Com tal volume potencial de casos por semana, enormes demandas sobre o sistema de saúde são esperadas durante surtos da doença. Sistemas de triagem devem ser considerados em vários níveis de assistência a fim de facilitar o fluxo de pacientes durante um surto.

Antes da introdução do CHIKV, os seguintes itens devem ser considerados (adaptados do *Plano de Pandemia por Influenza* da Organização Pan-americana da Saúde e do *Health and Human Services* (HHS), nos Estados Unidos):

- Desenvolver e implementar métodos para identificar e investigar a introdução do CHIKV utilizando sistemas de vigilância existentes (Unidades Sentinelas, Ambulatório de Viajantes e Sociedades Médicas).
- Informar profissionais de saúde e oficiais de saúde pública sobre a ameaça potencial do CHIKV e capacitá-los sobre a apresentação clínica, o diagnóstico e o gerenciamento dos casos em unidades de assistência médica.
- Desenvolver estruturas de planejamento e tomada de decisões em unidades de saúde para responder a um potencial surto.
- Desenvolver planos institucionais para abordar vigilância, comunicações hospitalares, capacitações, triagem e avaliação clínica, acesso a unidades de saúde, à saúde ocupacional, à capacidade para surto (a leitos e acesso à assistência médica), à cadeia de suprimentos e acesso a necessidades críticas de inventário.

Após a introdução do CHIKV em uma área, unidades de saúde devem:

- Ativar planos de contingência com assistência do Ministério da Saúde.
- Garantir comunicação rápida e frequente dentro de unidades de saúde e entre unidades de saúde e secretarias de saúde.
- Implementar planos de capacidade em surto que abordem força de trabalho, capacidade de leitos, suprimentos duráveis e perecíveis e continuação de serviços de saúde essenciais (ver seção sobre Planejamento em Saúde no *Plano de Pandemia por Influenza* da Opas e do HHS para maiores detalhes).

Princípios de orientação para o manuseio do estágio agudo da doença foram previamente descritos, em detalhes, na publicação da Organização Mundial da Saúde (OMS) *Guidelines on Clinical Management of Chikungunya Fever*. Informações-chave, incluindo considerações sobre triagem desse documento, são sumarizadas a seguir.

### Quem deve procurar assistência hospitalar?

- Qualquer pessoa com sinais neurológicos ou sintomas incluindo irritabilidade, sonolência, cefaleia severa ou fotofobia.
- Qualquer pessoa com dor torácica, falta de ar ou vômitos persistentes.
- Qualquer pessoa com febre persistindo por mais de cinco dias (indicativo de outra doença como a dengue).
- Qualquer pessoa que desenvolva qualquer um dos seguintes sintomas, especialmente uma vez encerrada a febre:
  - » Dor severa intratável
  - » Tontura, fraqueza extrema ou irritabilidade
  - » Extremidades frias, cianose
  - » Fluxo urinário diminuído
  - » Qualquer sangramento sob a pele ou através de algum orifício
- Mulheres grávidas no último trimestre, recém-nascidos e pessoas com comorbidades, pois essas pessoas ou seus recém-nascidos possuem maior risco de doença severa.

## Triagem no primeiro ponto de contato (Atenção primária ou ambulatório/ unidade de urgência)

- Afastar a possibilidade de outras doenças por histórico, exame físico e investigação laboratorial incluindo, mas não limitado, o hemograma, os testes de função hepática e os eletrólitos. Deve-se avaliar com cuidado a presença de sinais de alerta para dengue grave ou malária. Se presente, referir o paciente imediatamente à assistência hospitalar.
- Avaliar estado de hidratação e fornecer reidratação adequada, conforme necessário.
- Avaliar estado hemodinâmico e estabilizar o paciente. Referir imediatamente pacientes com repercussão capilar defasada, pulso fino, hipotensão, oligúria, sensório alterado ou manifestações hemorrágicas.
- Tratar sintomaticamente (paracetamol/acetaminofeno).
- Para aqueles com dor articular prolongada (três dias após tratamento sintomático) considerar gerenciamento mais agressivo da dor, com agentes tais como morfina e corticosteroides de curto prazo.
- Considerar referência para pacientes de maior risco a uma evolução insatisfatória (pessoas acima de 60 anos, aqueles com doença crônica, gestantes e crianças).
- Coletar amostra de sangue para teste sorológico para CHIKV e outras doenças no diagnóstico diferencial (por exemplo, vírus da dengue).

## Triagem no nível secundário (hospital local ou regional)

- Tratar sintomaticamente (de acordo com os tratamentos acima mencionados).
- Investigar o paciente para insuficiência renal, sinais e sintomas neurológicos, insuficiência hepática, doença cardíaca, trombocitopenia e malária.
- Avaliar o estado hemodinâmico e de hidratação e fornecer suporte de cuidados adequados e reidratação, conforme necessário.
- Considerar punção lombar em caso de suspeita de meningite.
- Coletar amostra de sangue para teste sorológico para CHIKV e outras doenças no diagnóstico diferencial (por exemplo, vírus da dengue).

- Revisar histórico clínico e avaliar se o paciente tem sinais de alerta para dengue grave. Se presentes, administrar suporte de cuidados em uma unidade que possa monitorar sinais vitais de acordo com o protocolo de manejo de pacientes com suspeita de dengue do MS.
- Encaminhar para uma unidade assistencial avançada os seguintes casos: gravidez, oligúria/anúria, hipotensão refratária, sangramento clínico significativo, sensório alterado, meningoencefalite, febre persistente de mais de uma semana de duração e sinais de descompensação de doenças de base.

### Triagem no nível terciário (centros avançados ou centros com especialistas em doenças infecciosas)

- Garantir que todos os procedimentos acima tenham sido seguidos e que uma equipe médica extensa esteja disponível para acompanhar o manuseio de pacientes com doença grave ou atípica.
- Coletar amostra de sangue para sorologia e/ou reação em cadeia de polimerase via transcriptase reversa (RT-PCR).
- Considerar a possibilidade de outras doenças reumáticas (artrite reumatoide, gota, febre reumática) ou infecciosas (meningoencefalite viral ou bacteriana).
- Tratar complicações graves (desordem hemorrágica com componentes do sangue, insuficiência renal com diálise).
- Avaliar incapacidades e recomendar procedimentos de reabilitação.



Dada a severidade da dor e o potencial de longo prazo devido ao CHIKV, a assistência psicológica deve estar disponível e considerada no desenvolvimento de protocolos, equipes e centros de tratamento de dor crônica.

Autópsias devem ser consideradas em todos os óbitos com o envolvimento de patologistas.

### **4.3 Segurança de sangue, órgãos e tecidos**

A transmissão sanguínea é possível. Há casos documentados de infecção em pessoal de laboratório que manusearam sangue infectado e de um profissional de saúde que retirou amostra de sangue de um paciente infectado. Esses casos suportam a opinião de que o CHIKV é capaz de se transmitir por meio de componentes do sangue.

A fim de determinar o impacto do CHIKV na segurança dos suprimentos de sangue, considerar:

1. Incidência de viremia em doadores de sangue (a qual pode variar dependendo do período do surto).
2. Impacto clínico em receptores de transfusão que se tornem infectados.
3. Disponibilidade de medidas para reduzir transmissão por transfusão (por exemplo, teste de amplificação de ácidos nucleicos (NAT) ou terapia fotodinâmica de inativação de micro-organismos).
4. Disponibilidade de fornecimento alternativo de sangue (de áreas não afetadas).
5. Custos associados a estas medidas.

Além de solicitar que a comunidade de assistência médica local promova o uso adequado de componentes do sangue, possíveis considerações em relação à segurança do sangue em áreas com CHIKV devem incluir:

- Continuar a obter doações de sangue de cidadãos locais até que se atinja uma inaceitável incidência ou prevalência\* de infecção na comunidade.
- Realizar triagem de doadores de sangue para sintomas antes da doação.
- Solicitar aos doadores que relatem qualquer doença que ocorra após a doação e ao mesmo tempo manter guardado o sangue doado por vários dias (2-5), antes da liberação.
- Se possível, interromper qualquer doação sanguínea na área sabidamente afetada por CHIKV e obter componentes de sangue de áreas não afetadas.
- Instituir triagem para CHIKV (por exemplo, NAT) no suprimento sanguíneos. Este procedimento requer uma plataforma preexistente e liberação regulamentar, sendo provavelmente indisponível na maior parte das áreas.

\* A ser determinado por bancos de sangue e oficiais de saúde pública do local.

Medidas semelhantes devem ser consideradas em transplantes de órgãos e tecidos (enxertos).

# 5 VIGILÂNCIA E RESPOSTA AO SURTO

---

O principal objetivo da vigilância é detectar, em tempo adequado, casos de CHIKV nas Américas. A detecção precoce permitirá resposta adequada, caracterização do surto e identificação das cepas virais em circulação.

## 5.1 Modos de vigilância

### 1. Fase de preparação

Reforçar centros sentinelas de vigilância febril existentes com a habilidade de detectar casos de CHIKV. Uma porcentagem de pacientes que se apresentam com febre e artralgia de etiologia desconhecida (por exemplo, com teste negativo para malária ou dengue), deve ser testada para CHIKV nos laboratórios de referência nacional (ver Seção 4 para mais detalhes em relação ao laboratório de vigilância diagnóstica proposto).

### 2. Fase de resposta

#### Introdução

Uma vez que um caso autóctone de CHIKV for detectado, uma profunda investigação epidemiológica deve ser conduzida a fim de:

- acompanhar a propagação do vírus;
- monitorar possível introdução em áreas circunjacentes;
- descrever características epidemiológicas e clínicas-chave;
- avaliar severidade clínica e impacto na sociedade (dias de trabalho perdidos, fechamento de escolas etc.);
- identificar fatores de risco para infecção ou doença severa;
- identificar linhagens circulantes de CHIKV.

Essas ações são a base para o desenvolvimento de medidas de controle efetivas.

Vigilâncias ativa, passiva e laboratorial devem ser usadas para calcular e monitorar indicadores tais como: incidência, taxa de propagação, taxa de hospitalização (por infecção), proporção de casos severos, taxa de mortalidade e taxa de incapacitação.

## **Transmissão sustentada**

Uma vez que o vírus tenha sido identificado por todo um país, a diminuição dos níveis de teste e de vigilância ativa pode ser considerada (ou seja, testar apenas uma fração de casos suspeitos dependendo da capacidade laboratorial, casos atípicos ou severos, recém-nascidos, casos em novas regiões), a fim de evitar custos desnecessários em regiões com recursos limitados. Porém, vigilância contínua deve ser persistida a fim de monitorar mudanças na epidemiologia e na ecologia da transmissão do CHIKV. Qualquer mudança na vigilância a nível nacional deve ser imediatamente comunicada aos demais parceiros de vigilância e de prevenção, tais como especialistas de controle de vetores, para assegurar a qualidade e a uniformidade dos dados coletados.

## **5.2 Detecção de casos**

Profissionais de saúde devem considerar CHIKV no diagnóstico diferencial de indivíduos que apresentem febre e artralgias não explicadas por outra etiologia ou com apresentação atípica, por exemplo, uma dengue de apresentação atípica com dor articular mais severa ou conjuntivite. O índice de suspeita deve ser maior no caso de viajantes ou aqueles que entraram em contato com um viajante que tenha recentemente retornado de uma área com infecções por CHIKV (para obter informações atualizadas sobre locais com surto de infecções por CHIKV visite <[www.who.int/csr/don/en/index.html](http://www.who.int/csr/don/en/index.html)> ou <[wwwnc.cdc.gov/travel/default.aspx](http://wwwnc.cdc.gov/travel/default.aspx)>).

Pessoal de laboratório deve considerar CHIKV, se houver uma baixa proporção de amostras soropositivas, para uma etiologia com quadro clínico semelhante, tal como a dengue, ou se houver certo número de amostras de tecido sinovial que sejam estéreis em cultura bacteriana.

Autoridades de saúde pública devem ser alertadas em relação a pequenos acúmulos de doença (febre e artralgia ou artrite) associado a um viajante de retorno de uma área endêmica ou a um aumento no número de hospitalizações por febre e artralgia ou artrite em uma área localizada em um curto período de tempo.

### 5.3 Definição de casos

**Caso suspeito:** um paciente com febre de início súbito  $>38,5^{\circ}\text{C}$  e artralgia ou artrite intensa não explicados por outras condições e residindo ou tendo visitado áreas endêmicas até duas semanas antes do início dos sintomas.

**Caso confirmado:** um caso suspeito com um dos seguintes testes específicos para diagnóstico de CHIKV:

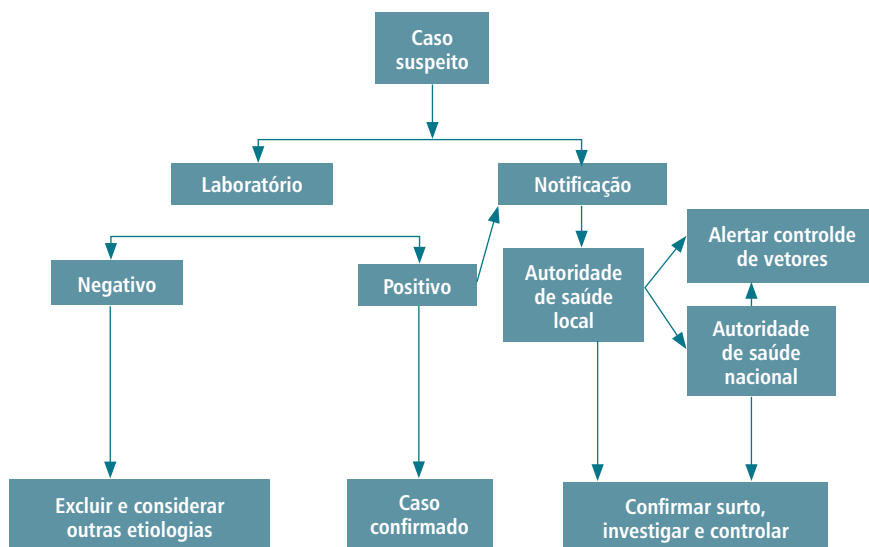
- Isolamento viral.
- Detecção de vírus de RNA por RT-PCR.
- Detecção de IgM em uma única amostra de soro (coletada durante a fase aguda ou convalescente).
- Aumento de quatro vezes no título de anticorpos específicos antiCHIKV (amostras coletadas com pelo menos 2-3 semanas de diferença).
- Critério clínico epidemiológico.

Uma avaliação da sensibilidade e da especificidade do critério clínico para infecção por CHIKV foi feita durante um grande surto da doença. A combinação de febre e poliartralgia teve a melhor sensibilidade e especificidade de 84% e 89% respectivamente, e permitiu a correta identificação de 87% dos indivíduos com confirmação sorológica de infecção por CHIKV.

### 5.4 Notificação de casos

No Brasil, a febre do Chikungunya é uma doença de notificação imediata de acordo com o anexo II, da Portaria MS/GM nº 2.472, de 31 de agosto de 2010. A ocorrência de casos suspeitos pode indicar um possível surto, portanto as autoridades de saúde pública mais próximas devem ser imediatamente notificadas, de acordo com as recomendações do Regulamento Sanitário Internacional. (Figura 3)

Figura 3 – Esquema de notificação de uma suspeita de surto de CHIKV



Fonte: Centres for Disease Control and Prevention/CDC e Organização Pan-Americana da Saúde.

## Epidemiológicos

Idealmente, relatórios epidemiológicos devem ser estabelecidos a nível nacional com o suporte de autoridades de saúde pública locais e regionais. Após a introdução do CHIKV em uma área, uma lista de casos suspeitos e laboratorialmente confirmados deve ser mantida e atualizada diariamente. Os relatórios devem ser coordenados a nível nacional com o estabelecimento de uma lista baseada na *web*, se possível, contendo algumas variáveis obrigatórias e variáveis adicionais, conforme necessário. Um formulário de notificação padronizado, com dados demográficos e laboratoriais, deve ser desenvolvido rapidamente e compartilhado com parceiros-chave a fim de facilitar a coleta de dados (ver exemplo no Apêndice D). Uma vez que um país tenha identificado transmissão autóctone dentro de suas fronteiras, seu centro de operações de emergências deve ser ativado (sala de situação) para servir como uma fonte de rápida comunicação e tomada de decisões.

## 5.5 Regulamento Sanitário Internacional e medidas de fronteira

### Regulamento Sanitário Internacional (RSI)

Um único caso importado (ou seja, viajante) de CHIKV nas Américas não deve necessariamente constituir uma emergência de saúde pública de importância internacional, de acordo com o Regulamento Sanitário Internacional; embora esse caso deva ser minuciosamente investigado a fim de minimizar risco de introdução do CHIKV no país. Porém, a suspeita de transmissão autóctone de CHIKV nas Américas atende aos critérios de emergência de saúde pública de importância internacional e deve ser notificado de acordo com o RSI (ver exemplo no Apêndice E). Tal evento teria um impacto significativo de saúde pública devido à possibilidade de causar uma epidemia com altas taxas de acometimento em uma população imunologicamente suscetível, e porque vetores são suficientemente abundantes para potencialmente permitir o estabelecimento do vírus e transmissão durante o ano todo. O evento seria também incomum para as Américas, pois declararia o aparecimento de um patógeno previamente ausente e sinalizaria um risco significativo de propagação internacional dado o montante de viagens entre países dentro das Américas. Embora o CHIKV não leve a uma alta taxa de mortalidade, ele causa altas taxas de morbidade associadas a artralgias persistentes que podem levar a incapacidade e a redução de produtividade. O estabelecimento do CHIKV em um país-membro pode também afetar fontes de renda críticas, tais como o turismo. Por exemplo, a Ilha Réunion observou um declínio de 60% em turismo após um surto de CHIKV.

Países-membros devem garantir que qualquer caso suspeito de CHIKV, sem conexão de viagem a outro país, seja minuciosamente investigado e excluído da possibilidade de transmissão interna de CHIKV. A Organização Pan-Americana da Saúde (Opas) recomenda que países-membros devem considerar a notificação compulsória de CHIKV a fim de viabilizar e promover uma resposta em tempo hábil.



## Medidas de fronteira

Fechamento de fronteiras devido à suspeita de casos de CHIKV seria contraproducente, não sendo recomendado pela Organização Mundial da Saúde e inconsistente com a RSI, a qual enfatiza detecção e contenção na nova fonte de transmissão em vez de controlar pontos de entrada. Os custos associados à triagem por CHIKV em pontos de entrada superam os benefícios. A triagem é insuficientemente sensível e específica, e muito cara para ser considerada uma ferramenta na prevenção da introdução e na propagação de CHIKV. A previsão da prevalência é baixa entre viajantes provenientes de áreas no mundo com atividade de CHIKV, os sintomas são não específicos e o valor preditivo positivo da triagem seria baixo. A experiência relatada de triagem de entrada para CHIKV, em Taiwan, valida este argumento. Em 2006, mais de 11,7 milhões de passageiros chegaram a Taiwan. Entre estes passageiros, 6.084 foram identificados com febre por meio do uso de câmeras de imagem térmicas com infravermelho; exames laboratoriais, também nesses passageiros, detectaram 44 casos de dengue, 13 casos de shigella, 1 caso de malária, 1 caso de febre paratifoide e 1 caso de CHIKV (JW Hsieh, Centro de Controle de Doenças, Ministério da Saúde, Taiwan, *comunicação pessoal*, 2007).

Algumas jurisdições, fora das Américas, instituíram atividades de abatimento de mosquitos em aeroportos internacionais e aplicação de adulticidas na cabine dos passageiros de voos de chegada internacional, como medida de prevenção contra a importação de dengue. Entretanto, mosquitos infectados por vírus chegando a aeronave de passageiros não são considerados fontes significativas para a maioria das importações de arbovírus. Para arboviroses com um ciclo de transmissão humano-mosquito-humano, a fonte de importação viral mais importante é o viajante virêmico. Em uma região como as Américas, onde vetores competentes já estão presentes na maioria dos países, medidas de abatimento de mosquitos e a vigilância de vetores predominantemente focadas em aeroportos e portos internacionais, com a intenção de prevenir a importação de CHIKV, podem ser implementadas por autoridades nacionais, mas não são recomendadas pela Opa. Semelhantemente, na presença de casos de CHIKV e transmissão viral local, não há necessidade de se colocar quaisquer restrições nas bagagens, carga, contêineres, bens e/ou encomendas postais, além das práticas usuais, a fim de evitar interferências desnecessárias no tráfico internacional na ausência de qualquer benefício específico para a saúde pública. Entretanto, é recomendável estabelecer comunicações entre autoridades de saúde pública e operadores de transporte (mar e ar, carga e passageiros) e outras organizações portuárias, no caso de haver necessidade de implementar uma campanha de comunicação a respeito do CHIKV.

Países podem decidir distribuir orientações de controle sanitário de viajantes para viajantes internacionais, se houver uma preocupação quanto à transmissão de CHIKV ou se a transmissão ativa houver sido detectada. Esta informação ofereceria orientações aos viajantes sobre como reduzir o risco de contágio pelo CHIKV, a fim de seguir passos com o objetivo de reduzir a chance de serem picados por mosquitos ou para procurar diagnóstico precoce na presença de sintomas e sinais compatíveis com CHIKV.

Será importante monitorar padrões de viagens aéreas entre países onde o CHIKV está circulando e qualquer país ou região das Américas a fim de identificar áreas de maior risco à introdução do vírus. Em uma análise preliminar que foi limitada ao uso de dados de voos diretos, dados de voos comerciais agendados mostraram que países que importavam CHIKV têm 23 vezes mais assentos de passageiros agendados que países que não importavam CHIKV originando de países com atividade de CHIKV (CDC, *dados não publicados*). Análise subsequente usando dados específicos de passageiros, que incluem conexões e volume real de passageiros, poderiam fornecer informações mais precisas nas quais se basearia em uma avaliação de risco à importação de CHIKV.

## 6 VIGILÂNCIA E CONTROLE DO VETOR

---

Na ausência de uma vacina eficaz contra o vírus Chikungunya (CHIKV), a única ferramenta disponível para prevenir a infecção é a redução do contato homem-vetor. Os principais vetores da CHIKV são o *Ae. aegypti* e o *Ae. albopictus*. O *Ae. aegypti* é o vetor principal nas áreas da África, onde o vírus é considerado endêmico. No entanto, o *Ae. albopictus* foi incriminado durante as epidemias recentes, após a introdução do vírus na Europa temperada e algumas áreas tropicais do Oceano Índico. Estes surtos foram associados com a adaptação de cepas CHIKV ao *Ae. albopictus*. Ambos, *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* estão presentes nas Américas (figuras 4 e 5). *Ae. aegypti*, provavelmente será o mais importante vetor em áreas urbanas, e *Ae. albopictus*, provavelmente desempenhará um papel mais significativo em áreas temperadas e nas áreas onde está bem estabelecido. Ambos os mosquitos podem, potencialmente, transmitir o vírus em uma variedade de áreas geográficas do continente a partir da introdução de pessoas em viremia. Portanto, os esforços para o planejamento de controle de vetores devem concentrar-se na supressão de ambas as populações de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* para evitar a possibilidade de estabelecimento do CHIKV, e lançar as bases para as intervenções de emergência no caso de um surto.

Figura 4 – Distribuição de *Ae. aegypti* nas Américas



Fonte: (ARIAS, 2002, adaptado).

Figura 5 – Distribuição aproximada de *Ae. albopictus* nas Américas



Fonte: (BENTO et al., 2007, adaptado).

Existem algumas diferenças significativas entre *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* que devem ser consideradas no desenvolvimento de vigilância e de procedimentos de controle. *Ae. aegypti* está mais estreitamente associado com o homem e as suas casas, alimentando-se preferencialmente em seres humanos. O mosquito adulto *Ae. aegypti* encontra-se, geralmente, dentro dos domicílios humanos e outros tipos de imóveis onde a presença humana é frequente nas cidades e os *habitat* das larvas são, frequentemente, recipientes localizados nesses mesmos ambientes ou ao seu redor. O *Ae. albopictus* se alimenta também de humanos, mas pode utilizar uma gama mais ampla de hospedeiros. Normalmente suas larvas são depositadas no peridomicílio, bem como em *habitat* naturais ou modificados adjacentes. Algumas populações de *Ae. albopictus* demonstraram poder hibernar no estágio de ovo e, portanto, serem capazes de ocupar regiões mais temperadas que *Ae. aegypti*. Essas espécies têm diferentes características morfológicas, e a identificação de espécimes coletados durante os programas de vigilância e de controle nas Américas pode ser facilmente realizada.

Quando o vetor transmissor for o *Ae. aegypti*, um programa operacional de controle da dengue eficaz fornece a base da preparação para o combate ao CHIKV. Porém, nas localidades onde o *Ae. aegypti* se torne escasso, devido às medidas de controle, o *Ae. albopictus* pode assumir o papel de transmissor e, neste caso, as medidas de controle devem ser diferenciadas, uma vez que a proliferação deste mosquito ocorre em *habitat* peridomiciliares, bem como nos *habitat* naturais ou modificados adjacentes. Recomendações para vigilância e controle desenvolvidas para a gestão de dengue podem ser utilizadas e implementadas a fim de responder a uma introdução do CHIKV. Programas de controle bem-sucedidos requerem uma equipe de profissionais e técnicos bem treinados e recursos financeiros suficientes. Além disso, um programa independente de avaliação da qualidade deve ser incorporado ao manejo integrado de vetores (MIV).

Para ser bem-sucedido, o programa de MIV do CHIKV deve incluir a participação intersetorial (colaboração) em todos os níveis de governo e entre saúde, educação, meio ambiente, desenvolvimento social e as agências de turismo. Os programas MIV também se beneficiam da participação de ONGs e de organizações privadas. A comunidade deve ser informada sobre o programa de controle do CHIKV, a fim de ser mobilizada. A participação comunitária é um componente essencial do MIV. Uma estratégia MIV deve ser desenvolvida e estar em funcionamento antes da introdução do CHIKV para ser eficaz.

## 6.1 Reduzir o risco de CHIKV

Componentes de um programa MIV para reduzir o risco do CHIKV incluem:

### 1. Controle de vetores e identificação de áreas de alto risco

Em áreas onde a dengue é endêmica, uma análise retrospectiva de transmissão do vírus DEN nos anos anteriores deve ser efetuada durante a fase de planejamento para o CHIKV, a fim de fornecer uma indicação das áreas em que o CHIKV poderá circular (dada a semelhança entre os ciclos de transmissão desses vírus), no entanto, o vírus CHIKV poderá se comportar de forma diferente do vírus DEN; áreas onde a incidência de casos de dengue são elevadas podem não ter altas incidências para Chikungunya, uma vez que o *Ae. albopictus* pode assumir a função de transmissor do CHIKV nas localidades onde o *Ae. aegypti* estiver escasso. As áreas podem ser estratificadas em termos de risco de transmissão e de valores de infestação vetorial de ambas as espécies do mosquito, com vistas para planejar e organização a vigilância e as ações de controle. A estratificação é então utilizada para alocar recursos e prioridades.

O programa deve ter a capacidade de coletar sistematicamente dados de vigilância sobre a densidade relativa do *Ae. aegypti* e do *Ae. albopictus*. Os métodos de vigilância para o *Ae. aegypti* e o *Ae. albopictus* são variados e incluem métodos para monitorar a produção de ovos, locais com presença de larvas, abundância pupal e de mosquitos adultos. Esses métodos são analisados no Capítulo 5, das *Orientações sobre a Dengue da OMS* e nas *Diretrizes Nacionais para a Prevenção e Controle de Epidemias de Dengue*. Novas armadilhas e métodos de amostragem estão sendo desenvolvidos que podem proporcionar uma vigilância mais precisa dos dados. Os programas devem ser capazes de detectar e identificar criadouros potenciais, inclusive aqueles mais ocultos e de difícil controle (por exemplo, locais críticos, fossas, bueiros, as bombas de depósito e terrenos baldios), e outros locais produtivos, bem como os *habitat* prontamente identificados e onde comumente são encontradas larvas desses dois mosquitos.



## 2. Prevenção domiciliar

Deve-se eliminar totalmente a possibilidade de contato entre mosquitos e água armazenada em qualquer tipo de depósito, impedindo o acesso das fêmeas grávidas por intermédio do uso de telas/capas ou mantendo-se os reservatórios ou qualquer local que possa acumular água, totalmente cobertos. Em caso de alerta ou de elevado risco de transmissão, a proteção individual por meio do uso de repelentes deve ser implementada pelos habitantes.

## 3. Prevenção na comunidade

Nas Américas, a prevenção do CHIKV na comunidade deve ser baseada em métodos desenvolvidos para o controle da dengue, utilizando-se estratégias eficazes para reduzir a densidade de mosquitos vetores. Um programa de controle da dengue em pleno funcionamento irá reduzir a probabilidade de um ser humano virêmico servir como fonte de alimentação sanguínea, e de infecção para *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, levando à transmissão secundária e a um possível estabelecimento do vírus nas Américas.

Os programas de controle da dengue para o *Ae. aegypti*, tradicionalmente, têm sido voltados para o controle de mosquitos imaturos, muitas vezes por meio de participação da comunidade em manejo ambiental e redução de criadouros. É essencial que o envolvimento da comunidade seja incorporado em um programa MIV.

### **Procedimentos de controle de vetores**

As orientações da OMS e do Ministério da Saúde do Brasil para a dengue fornecem informações sobre os principais métodos de controle de vetores e devem ser consultadas para estabelecer ou melhorar programas existentes. O programa deve ser gerenciado por profissionais experientes, como biólogos com conhecimento em controle vetorial, para garantir que ele use recomendações de pesticidas atuais e eficazes, incorpore novos e adequados métodos de controle de vetores segundo a situação epidemiológica e inclua testes de resistência dos mosquitos aos inseticidas.

## 6.2 Resposta à introdução CHIKV

Imediatamente após a notificação do primeiro caso suspeito de CHIKV, a vigilância epidemiológica deve fornecer informações sobre a data de início dos sintomas e o local de ocorrência do caso para o programa MIV. Os procedimentos de controle do vetor devem ser intensificados para reduzir efetivamente densidade vetorial e infestação de vetores infectados, a fim de interromper a transmissão nas áreas de ocorrência do(s) caso(s). Simultaneamente, as comissões de resposta de emergência em nível local e nacional devem ser informadas sobre a situação e ativadas. O esforço inicial deverá concentrar-se na contenção da transmissão do vírus e impedir a sua expansão (Apêndice G). Se a contenção do vírus falhar ou se os casos não forem detectados até que o surto se espalhe por uma grande área geográfica, os esforços de intensificação do controle de vetores deverão ser ampliados para um programa de larga escala.

# CONCLUSÃO

---

No momento, não existe conhecimento sobre a circulação do CHIKV nas Américas; entretanto, o risco de introdução é alto devido à importação por viajantes, vetores competentes (mesmos vetores da dengue) e população suscetível. Dada a probabilidade de introdução do CHIKV, a preparação em antecedência é essencial. Detecção de casos em tempo hábil e resposta rápida e apropriada com participação ativa de todos os interessados serão necessárias para minimizar o risco de importação e transmissão sustentada na região.

Este guia de recomendações para a preparação e a introdução do CHIKV nas Américas foi desenvolvido a fim de instituir as estratégias mais apropriadas na prevenção da importação e da propagação do CHIKV na região. Cada país-membro é encorajado a usar e adaptar este guia de recomendações para permitir detecção precoce de um surto da doença, conduzir investigações epidemiológicas pertinentes e prevenir ou minimizar a expansão da doença nas Américas.

# REFERÊNCIAS

---

ANGELINI, P. et al. Chikungunya epidemic outbreak in Emilia-Romagna (Italy) during summer 2007. **Parassitologia**, [S.l.], v. 50, n. 1-2, p. 97-98, June 2008.

ARIAS, J. R. **Dengue**: How are we doing? Celebrating 100 Years of PAHO. Washington, D.C.: PAHO, 2002.

BARRERA, R. Simplified pupal surveys of *Aedes aegypti* (L.) for entomologic Surveillance and dengue control. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [S.l.], v. 81, n. 1, p. 100-107, 2009.

BARRERA, R. et al. Unusual productivity of *Aedes aegypti* in septic tanks and its implications for dengue control. **Medical and Veterinary Entomology**, [S.l.], v. 22, n. 1, p. 62-69, 2008.

\_\_\_\_\_. [Stratification of a hyperendemic city in hemorrhagic dengue]. **Revista Panamericana de Salud Pública**, Washington, DC, v. 8, n. 4, p. 225-233, 2000.

BEATY, B. J.; CALISHER, C. H.; SHOPE, R. S. Arboviruses. In: SCHMIDT, N. J.; EMMONS, R. W. (Ed.). **Diagnostic procedures for viral, rickettsial and chlamydial infections**. 6th ed. Washington, DC: American Public Health Association, 1989. p. 797-856.

BEESON, S. et al. Chikungunya fever, Mauritius, 2006. **Emerging Infectious Diseases Journal**, Atlanta, GA, v. 14, n. 2, p. 337-338, 2008.

BENEDICT, M. Q. et al. Spread of the tiger: global risk of invasion by the mosquito *Aedes albopictus*. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, Larchmont, NY, v. 7, n. 1, p. 76-85, Spring 2007.

BORGHERINI, G. et al. Outbreak of chikungunya on Réunion Island: early clinical and laboratory features in 157 adult patients. **Clinical Infectious Diseases**, [S.l.], v. 44, n. 11, p. 1401-1407, June 1 2007.

BOUQUILLARD, E.; COMBE, B. Rheumatoid arthritis after Chikungunya fever: a prospective follow-up study of 21 cases. **Annals of the Rheumatic Diseases**, [S.l.], v. 68, n. 9, p. 1505-1506, 2009.

BRAGA, I. A. et al. *Aedes aegypti* resistance to temephos during 2001 in several municipalities in the states of Rio de Janeiro, Sergipe, and Alagoas, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** [online], Rio de Janeiro, v. 99, n. 2, p. 199-203, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Amparo Legal à Execução das Ações de Campo – Imóveis Fechados, abandonados ou com Acesso não Permitido pelo Morador**. Brasília, 2006.

\_\_\_\_\_. **Diretrizes Nacionais para a Prevenção e Controle de Epidemias de Dengue.** Brasília, 2009.

BRIGHTON, S. W. Chloroquine phosphate treatment of chronic chikungunya arthritis. An open pilot study. **South African Medical Journal**, [S.l.], v. 66, n. 6, p. 217-218, 1984.

BRIGHTON, S. W. et al. Chikungunya virus infection: a retrospective study of 107 cases. **South African Medical Journal**, [S.l.], v. 63, n. 9, p. 313-315, 1983.

BROGDON, W. G. Biochemical resistance detection: an alternative to bioassay. **Parasitology Today**, [S.l.], v. 5, n. 2, p. 56-60, 1989.

BROGDON, W. G.; MCALLISTER, J. C. Insecticide resistance and vector control. **Emerging Infectious Diseases Journal**, Atlanta, GA, v. 4, n. 4, p. 605-613, 1998.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Chikungunya fever diagnosed among international travelers--United States, 2005-2006. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, Atlanta, GA, v. 55, n. 38, p. 1040-1042, Sept. 29 2006.

CORDEL, H. et al. Imported cases of chikungunya in metropolitan France, April 2005 - February 2006. **Euro Surveillance**, [S.l.], v. 11, n. 4, p. E060420-060423, 2006.

DARSIE, R. F. J; WARD, R. A. **Identification and geographical distribution of the mosquitoes of North America, New Mexico.** Gainesville, FL: University Press of Florida, 2005.

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

DE LAMBALLERIE, X. et al. On chikungunya acute infection and chloroquine treatment. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, Larchmont, NY, v. 8, n. 6, p. 837-839, 2008.

\_\_\_\_\_. Chikungunya virus adapts to tiger mosquito via evolutionary convergence: a sign of things to come? **Virology Journal**, [S.l.], v. 5, p. 33, 2008.

DIAGNOSIS of Infections caused by Viruses, Chlamydia, Rickettsia. In: KONEMAN, E.W. et al. (Ed.). **Diagnostic Microbiology.** 4th Edition. Philadelphia: JB Lippincott Co, 1992. p. 956-1074.

DUBRULLE, M. et al. Chikungunya virus and Aedes mosquitoes: saliva is infectious as soon as two days after oral infection. **PLoS One**, [S.l.], v. 4, n. 6, p. e5895, 2009.

ECONOMOPOULOU, A. et al. Atypical chikungunya virus infections: clinical manifestations, mortality and risk factors for severe disease during the 2005-2006 outbreak on Réunion. **Epidemiology & Infection**, [S.l.], v. 137, n. 4, p. 534-541, 2009.

ERLANGER, T. E.; KEISER, J.; UTZINGER, J. Effect of dengue vector control interventions on entomological parameters in developing countries: a systematic review and meta-analysis. **Medical and Veterinary Entomology**, [S.l.], v. 22, n. 3, p. 203-221, 2008.

ESU, E. et al. Effectiveness of peridomestic space spraying with insecticide on dengue transmission: systematic review. **Tropical Medicine & International Health**, [S.l.], v. 15, n. 5, p. 619-631, 2010.

FOURIE, E. D.; MORRISON, J. G. Rheumatoid arthritic syndrome after chikungunya fever. **South African Medical Journal**, [S.l.], v. 56, n. 4, p. 130-132, 1979.

FRITEL, X. et al. Chikungunya virus infection during pregnancy, Réunion, France, 2006. **Emerging Infectious Diseases Journal**, Atlanta, GA, v. 16, n. 3, p. 418-425, 2010.

GERARDIN, P. et al. Multidisciplinary prospective study of mother-to-child chikungunya virus infections on the island of La Réunion. **PLoS Medicine**, San Francisco, CA, v. 5, n. 3, p. e60, 2008.

HAWLEY, W. A. The biology of *Aedes albopictus*. **Journal of the American Mosquito Control Association Supplement**, [S.l.], v. 1, p. 1-39, 1988.

HEMINGWAY, J. **Techniques to detect insecticide resistance mechanisms (Field and Laboratory Manual)**. Geneva, Switzerland: WHO, 1998.

HILLS, S. L. et al. A focal, rapidly-controlled outbreak of dengue fever in two suburbs in Townsville, north Queensland, 2001. **Communicable Diseases Intelligence**, [S.l.], v. 26, n. 4, p. 596-600, 2002.

HOARAU, J. J. et al. Persistent chronic inflammation and infection by Chikungunya arthritogenic alphavirus in spite of a robust host immune response. **The Journal of Immunology**, [S.l.], v. 184, n. 10, p. 5914-5927, 2010.

HOCHEDÉZ, P. et al. Management of travelers with fever and exanthema, notably dengue and chikungunya infections. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [S.l.], v. 78, n. 5, p. 710-713, 2008.

JAYAKEERTHI, R. S. et al. Shell Vial Culture assay for the rapid diagnosis of Japanese encephalitis, West Nile and Dengue-2 viral encephalitis. **Virology Journal**, [S.l.], v. 3, p. 2, 2006.

JOHNSON, A. J. et al. Detection of anti-arboviral immunoglobulin G by using a monoclonal antibody-based capture enzyme-linked immunosorbent assay. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, DC, v. 38, n. 5, p. 1827-1831, May 2000.



JUPP, P. G.; MCINTOSH, B. M. Chikungunya virus disease. In: MONATH, T. P. (Ed.) **The Arboviruses: epidemiology and ecology**. Boca Raton, FL: CDC Press, Inc., 1988. v. II. p. 137-157.

KARABATSOS, N. Arboviruses. In: HSIUNG, G. D.; FONG, C.; LANDRY, M. (Ed.). **Diagnostic virology**. 4th ed. New Haven, CT: Yale University Press, 1993. Chap. 27.

KROEGER, A. et al. Effective control of dengue vectors with curtains and water container covers treated with insecticide in Mexico and Venezuela: cluster randomized trials. **BMJ Journals**, [S.l.], v. 332, n. 7552, p. 1247-1252, 2006.

LAKSHMI, V. et al. Clinical features and molecular diagnosis of Chikungunya fever from South India. **Clinical Infectious Diseases**, [S.l.], v. 46, n. 9, p. 1436-1442, 2008.

LANCIOTTI, R. S. et al. Chikungunya virus in US travelers returning from India, 2006. **Emerging Infectious Diseases Journal**, Atlanta, GA, v. 13, n. 5, p. 764-767, 2007.

LEMANT, J. et al. Serious acute chikungunya virus infection requiring intensive care during the Réunion Island outbreak in 2005-2006. **Critical Care Medicine**, [S.l.], v. 36, n. 9, p. 2536-2541, 2008.

LENHART, A. et al. Insecticide-treated bednets to control dengue vectors: preliminary evidence from a controlled trial in Haiti. **Tropical Medicine & International Health**, [S.l.], v. 13, n. 1, p. 56-67, 2008.

LEWTHWAITE, P. et al. Chikungunya virus and central nervous system infections in children, India. **Emerging Infectious Diseases Journal**, Atlanta, GA, v. 15, n. 2, p. 329-331, 2009.

LIUMBRUNO, G. M. et al. The Chikungunya epidemic in Italy and its repercussion on the blood system. **Blood Transfusion**, [S.l.], v. 6, n. 4, p. 199-210, 2008.

LUMSDEN, W. H. R. An epidemic of virus disease in Southern Province, Tanganyika Territory, in 1952-53: II. General description and epidemiology. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, [S.l.], v. 49, n. 1, p. 33-57, 1955.

MANIMUNDA, S. P. et al. Clinical progression of chikungunya fever during acute and chronic arthritic stages and the changes in joint morphology as revealed by imaging. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [S.l.], v. 104, n. 6, p. 392-399, 2010.

MARTIN, D. A. et al. Standardization of immunoglobulin M capture enzyme-linked immunosorbent assays for routine diagnosis of arboviral infections. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, DC, v. 38, n. 5, p. 1823-1826, 2000.

\_\_\_\_\_. Standardization of immunoglobulin M capture enzyme-linked immunosorbent assays (MAC-ELISA) for routine diagnosis of arboviral infections. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, DC, v. 38, n. 5, p. 1823-1826, 2000.

MAVALANKAR, D. et al. Increased mortality rate associated with chikungunya epidemic, Ahmedabad, India. **Emerging Infectious Diseases Journal**, Atlanta, GA, v. 14, n. 3, p. 412-415, 2008.

MONATH, T. P. et al. Immunoglobulin M antibody capture enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of St. Louis encephalitis. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, DC, v. 20, p. 784-790, 1984.

MONTELLA, I. R. et al. Insecticide resistance mechanisms of Brazilian *Aedes aegypti* populations from 2001 to 2004. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [S.l.], v. 77, n. 3, p. 467-477, 2007.

MORO, M. L. et al. Chikungunya virus in North-Eastern Italy: a seroprevalence survey. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [S.l.], v. 82, n. 3, p. 508-511, 2010.

MORRISON, A. C. et al. Defining challenges and proposing solutions for control of the virus vector *Aedes aegypti*. **PLoS One**, [S.l.], v. 5, n. 3, p. e68, 2008.

\_\_\_\_\_. Exploratory space-time analysis of reported dengue cases during an outbreak in Florida, Puerto Rico, 1991-1992. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [S.l.], v. 58, n. 3, p. 287-298, 1998.

NAUEN, R. Insecticide resistance in disease vectors of public health importance. **Pest Management Science**, [S.l.], v. 63, n. 7, p. 628-633, 2007.

NIEBYLSKI, M. L. et al. Blood hosts of *Aedes albopictus* in the United States. **Journal of the American Mosquito Control Association Supplement**, [S.l.], v. 10, n. 3, p. 447-450, 1994.

NIMMANNITYA, S. et al. Dengue and chikungunya virus infection in man in Thailand, 1962-1964. I. Observations on hospitalized patients with hemorrhagic fever. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [S.l.], v. 18, n. 6, p. 954-971, Nov. 1969.

PADBIDRI, V. S.; GNANESWAR, T. T. Epidemiological investigations of chikungunya epidemic at Barsi, Maharashtra state, India. **Journal of hygiene, epidemiology, microbiology, and Immunology**, [S.l.], v. 23, n. 4, p. 445-451, 1979.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. **PAHO Strategic and operational Plan for responding to pandemic influenza**. 2005. Disponível em: <[www.paho.org/English/AD/PAHO\\_Plan\\_PandemicInfluenza\\_Eng.pdf](http://www.paho.org/English/AD/PAHO_Plan_PandemicInfluenza_Eng.pdf)>. Acesso em: Aug. 11 2010.

PARKS, W.; LLOYD, L. **Planning social mobilization and communications for dengue fever presentation and control: a step-by-step guide**, 2004. Disponível em: <[http://apps.who.int/tdr/publications/training-guideline-publications/planning-social-mobilization-dengue-fever/pdf/planning\\_dengue.pdf](http://apps.who.int/tdr/publications/training-guideline-publications/planning-social-mobilization-dengue-fever/pdf/planning_dengue.pdf)>. Acesso em: June 2 2010.

PETERSEN, L. R.; STRAMER, S. L.; POWERS, A. M. Chikungunya virus: possible impact on transfusion medicine. **Transfusion Medicine Reviews**, Philadelphia, PA., v. 24, n. 1, p. 15-21, 2010.

PIALOUX, G. et al. Chikungunya, an epidemic arbovirolosis. **The Lancet Infectious Diseases**, [S.l.], v. 7, n. 5, p. 319-327, 2007.

QUEYRIAUX, B. et al. Clinical burden of chikungunya virus infection. **The Lancet Infectious Diseases**, [S.l.], v. 8, n. 1, p. 2-3, Jan. 2008.

RAJAPAKSE, S.; RODRIGO, C.; RAJAPAKSE, A. Atypical manifestations of chikungunya infection. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [S.l.], v. 104, n. 2, p. 89-96, 2010.

RAMFUL, D. et al. Mother-to-child transmission of chikungunya virus infection. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, [S.l.], v. 26, n. 9, p. 811-815, 2007.

RENAULT, P. et al. A major epidemic of chikungunya virus infection on Réunion Island, France, 2005-2006. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [S.l.], v. 77, n. 4, p. 727-731, 2007.

REZZA, G. et al. Infection with chikungunya virus in Italy: an outbreak in a temperate region. **Lancet**, [S.l.], v. 370, n. 9602, p. 1840-1846, 2007.

ROBILLARD, P. Y. et al. [Vertical maternal fetal transmission of the chikungunya virus: ten cases among 84 pregnant women]. **La Presse Médicale**, [S.l.], v. 35, n. 5, Pt. 1, p. 785-788, 2006.

ROBIN, S. et al. Severe bullous skin lesions associated with chikungunya virus infection in small infants. **European Journal of Pediatrics**, [S.l.], v. 169, n. 1, p. 67-72, 2010.

RODRIGUEZ, M. M.; BISSET, J. A.; FERNANDEZ, D. Levels of insecticide resistance and resistance mechanisms in *Aedes aegypti* from some Latin American countries. **Journal of the American Mosquito Control Association Supplement**, [S.l.], v. 23, n. 4, p. 420-429, 2007.

SAM, I. C.; ABUBAKAR, S. Chikungunya virus infection. **Medical Journal of Malaysia**, Kuala Lumpur, v. 61, n. 2, p. 264-269, 2006.

SAVAGE, H. M.; SMITH, G. C. Identification of damaged adult female specimens of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* in the New World. **Journal of the American Mosquito Control Association Supplement**, [S.l.], v. 10, n. 3, p. 440-442, 1994.

SCHMIDT, N. J. Cell culture techniques for diagnostic virology. In: LENNETTE, E. H.; SCHMIDT, N. J. (Ed.). **Diagnostic procedures for viral, rickettsial, and chlamydial Infections**. 5th ed. Washington, DC: American Public Health Association, 1979.

SCHUFFENECKER, I. et al. Genome microevolution of chikungunya viruses causing the Indian Ocean outbreak. **PLoS Med**, [S.l.], v. 3, n. 7, p. e263, 2006.

SHAH, K. V.; GIBBS JR., C. J.; BANERJEE, G. Virological investigation of the epidemic of haemorrhagic fever in Calcutta: isolation of three strains of Chikungunya virus. **Indian Journal of Medical Research**, New Delhi, v. 52, p. 676-683, July 1964.

SIMON, F.; SAVINI, H.; PAROLA, P. Chikungunya: a paradigm of emergence and globalization of vector-borne diseases. **Medical Clinics of North American**, [S.l.], v. 92, n. 6, p. 1323-1343, 2008.

SISSOKO, D. et al. Field evaluation of clinical features during chikungunya outbreak in Mayotte, 2005-2006. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [S.l.], v. 15, n. 5, p. 600-607, 2010.

\_\_\_\_\_. Post-epidemic Chikungunya disease on Réunion Island: course of rheumatic manifestations and associated factors over a 15-month period. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [S.l.], v. 3, n. 3, p. e389, 2009.

SOUMAHORO, M. K. et al. Impact of Chikungunya virus infection on health status and quality of life: a retrospective cohort study. **PLoS One**, [S.l.], v. 4, n. 11, p. e7800, 2009.

STAIKOWSKY, F. et al. Prospective study of Chikungunya virus acute infection in the Island of La Réunion during the 2005-2006 outbreak. **PLoS One**, [S.l.], v. 4, n. 10, p. e7603, 2009.

\_\_\_\_\_. Retrospective survey of Chikungunya disease in Réunion Island hospital staff. **Epidemiology & Infectious**, London, v. 136, n. 2, p. 196-206, Feb. 2008.

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

TAUBITZ, W. et al. Chikungunya fever in travelers: clinical presentation and course. **Clinical Infectious Diseases**, [S.l.], v. 45, n. 1, p. e1-4, July 1 2007.

TOURET, Y. et al. [Early maternal-fetal transmission of the chikungunya virus]. **La Presse Médicale**, [S.l.], v. 35, n. 11, Pt. 1, p. 1656-1658, 2006.

TSAI, T. H. Arboviruses. In: ROSE, N. R. et al. (Ed.). **Manual of Clinical Laboratory Immunology**. 4th Ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1976. p. 606-618.

UNITED STATES. Department of Health and Human Services. **Biosafety in microbiological and biomedical laboratories**. 4th ed. Washington, DC: US Government Printing Office, 1999.

\_\_\_\_\_. **HHS Pandemic Influenza Plan**. 2005. Disponível em: <[www.hhs.gov/pandemicflu/plan/pdf/HHSPandemicInfluenzaPlan.pdf](http://www.hhs.gov/pandemicflu/plan/pdf/HHSPandemicInfluenzaPlan.pdf)>. Acesso em: June 2 2010.

VAZEILLE, M.; MOUSSON, L.; FAILLOUX, A. B. Failure to demonstrate experimental vertical transmission of the epidemic strain of Chikungunya virus in *Aedes albopictus* from La Réunion Island, Indian Ocean. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 104, n. 4, p. 632-635, July 2009.

WILLIAMS, C. R. et al. *Aedes aegypti* population sampling using BG-Sentinel traps in north Queensland Australia: statistical considerations for trap deployment and sampling strategy. **Journal of Medical Entomology**, Washington, DC, v. 44, n. 2, p. 345-350, 2007.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Dengue Guidelines for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control**. 2009. Disponível em: <[http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241547871\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2009/9789241547871_eng.pdf)>. Acesso em: June 2 2010.

\_\_\_\_\_. **Global strategic framework for integrated vector management**. 2004. Disponível em: <[http://whqlibdoc.who.int/hq/2004/WHO\\_CDS\\_CPE\\_PVC\\_2004\\_10.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/2004/WHO_CDS_CPE_PVC_2004_10.pdf)>. Acesso em: 24 fev. 2014.

\_\_\_\_\_. **Guidelines for drinking-water quality**. 3rd ed. 2006. Disponível em: <[www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/gdwq3rev/en/index.html](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3rev/en/index.html)>. Acesso em: June 2 2010.

\_\_\_\_\_. **Guidelines on Clinical Management of Chikungunya Fever**. 2008. Disponível em: <[www.searo.who.int/LinkFiles/Publication\\_guidelines\\_on\\_cli\\_mgmt\\_chikungunya\\_fvr-\(cd-180\).pdf](http://www.searo.who.int/LinkFiles/Publication_guidelines_on_cli_mgmt_chikungunya_fvr-(cd-180).pdf)>. Acesso em: June 2 2010.

\_\_\_\_\_. **International Health Regulations (2005)**. 2008. Disponível em: <[http://whqlibdoc.who.int/publications/2008/9789241580410\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2008/9789241580410_eng.pdf)>. Acesso em: June 2 2010.

\_\_\_\_\_. **Pesticides and their application:** for the control of vectors and pests of public health importance. 2006. Disponível em: <[http://whqlibdoc.who.int/hq/2006/WHO\\_CDS\\_NTD\\_WHOPES\\_GCDPP\\_2006.1\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/2006/WHO_CDS_NTD_WHOPES_GCDPP_2006.1_eng.pdf)>. Acesso em: June 2 2010.

\_\_\_\_\_. **Prevention and Control of Chikungunya in South-East Asia:** report of the Expert Group Meeting. Aurangabad, India: Regional Office World Health Organization, 2008. Disponível em: <[www.searo.who.int/LinkFiles/Publication\\_CD-176.pdf](http://www.searo.who.int/LinkFiles/Publication_CD-176.pdf)>. Acesso em: June 2 2010.

\_\_\_\_\_. **Safe use of pesticides. Fourteenth report of WHO Expert Committee on Vector Biology and Control.** Geneva, Switzerland, 1991.

# APÊNDICES

---

## Apêndice A – Protocolo de isolamento viral (para cultura de célula)

### Introdução

O método ideal para a determinação da etiologia específica de uma arbovirose requer o isolamento do vírus a partir de uma amostra obtida do paciente durante a fase aguda da doença e a demonstração de um aumento no título de um anticorpo para o isolado durante a convalescença. Por uma série de razões, o isolamento de arbovírus a partir de amostras de pacientes é a exceção, sendo que o espécime a ser examinado não é recolhido rapidamente, não é tratado adequadamente, ou não é transportado de forma rápida para o laboratório de vírus para a inoculação. A viremia, para muitas infecções por arbovírus em humanos, se detectável em qualquer fase, cessa no momento ou logo após o início dos sintomas – uma fase em que o anticorpo é frequentemente identificado. Como alguns vírus circulantes podem ser recuperados e os anticorpos podem estar ausentes ou presentes em títulos baixos, as amostras de sangue de fase aguda devem ser recolhidas imediatamente após a suspeita de uma etiologia viral. O atraso de uma hora ou mais pode comprometer a possibilidade de isolamento do vírus, sendo o tempo dependente do tipo de vírus envolvido.

Alguns arbovírus produzem uma viremia de magnitude e duração suficientes e o vírus pode ser isolado do sangue durante a fase aguda da doença, como por exemplo, entre 0 e 5 dias após o início. Exemplos desses vírus incluem os agentes da febre amarela, da dengue, do chikungunya, da encefalite equina venezuelana (VEE) e do mosquito-pólvora, do Ross River e febres Oropouche. A viremia em febre da carraça do Colorado é única porque pode se estender por semanas ou meses, e a infecção foi transmitida por transfusões. Muitos arbovírus encefalitogênicos podem ser recuperados a partir do líquido cérebro-espinal (LCE) obtido durante a fase aguda da doença no cérebro, mais raramente a encefalite St. Louis (SLE), a encefalite japonesa (JE), a encefalite equina oeste (WEE) e a encefalite equina do leste (EEE vírus) que são recuperados a partir do sangue. Os isolados virais podem ser recuperados por meio de biópsia ou autópsia das vísceras dos pacientes com febre amarela aguda, febre hemorrágica da dengue ou outras arboviroses viscerotrópicas. Para o isolamento do cérebro, as amostras devem ser colhidas em vários domínios, incluindo o córtex, os núcleos do cérebro, o cerebelo e o tronco cerebral. O arbovírus neurotrópico, por vezes, pode ser isolado do líquido obtido por punção lombar durante a fase aguda da encefalite ou meningite asséptica. *Alphavirus* têm sido isoladas de líquido sinovial de pacientes com poliartrite aguda e do trato respiratório superior dos pacientes com VEE aguda. Sob certas circunstâncias, os arbovírus foram recuperados na urina, no leite, no sêmen e no fluido vítreo.



## Princípio

Sistemas de cultura celular suscetíveis estão disponíveis para a tentativa de isolamento do agente etiológico presumido de uma doença ou enfermidade. Após o sucesso do isolamento, o agente pode ser positivamente identificado e um antígeno preparado a partir deste isolado ou o próprio vírus pode ser usado para testar o soro do paciente para a presença de anticorpos para o vírus isolado. No caso da detecção de anticorpos positivos, todo esse exercício confirma que o isolado foi o agente causador da doença ou enfermidade. Em certos casos, o soro de um paciente pode não estar disponível. Nestas circunstâncias, depende-se do reisolamento do vírus causador da mesma amostra original. No entanto, o reisolamento é sempre testado, independente de o soro estar disponível a partir do paciente ou não.

## Materiais e reagentes

Monocamadas de cultura de células Vero ou outra cultura de células suscetíveis.  
Culturas de células C6/36-clonadas de mosquito *Aedes albopictus*.

## Procedimento

Tecidos ou líquidos disponíveis devem ser divididos para o isolamento viral, microscopia eletrônica, e para o exame imuno-histoquímico. Os tecidos devem ser coletados de forma asséptica e transportados rapidamente para o laboratório. A alíquota para o isolamento viral deve ser imediatamente congelada a  $-70^{\circ}\text{C}$  em *freezer* mecânico ou armazenada em gelo seco. As amostras para isolamento viral devem ser mantidas congeladas continuamente, evitando ciclos de congelamento e descongelamento que inativam o vírus. A alíquota para microscopia eletrônica deve ser picada e embebida diretamente em glutaraldeído. Mudanças autolíticas ocorrem rapidamente e os tecidos devem ser fixados o mais rapidamente possível. Uma porção da amostra deve ser fixada em formalina tamponada ou, de preferência, inserida em meio de congelamento e congelados para preparar seções para exame imuno-histoquímico.

Espécimes processados devem ser inoculadas em culturas de células com um mínimo de atraso. Soros de pacientes com doença febril aguda podem ser usados não diluídos para o isolamento do vírus ou na diluição de 1:10 e 1:100 em um diluente proteico. É importante para inocular amostras desconhecidas, de preferência em duas ou mais diluições (não diluída a 10<sup>-2</sup>). Culturas de células em frascos estéreis ou culturas em frascos de 25 cm<sup>2</sup> de linhagem Vero são inoculadas e observadas para a produção de

efeitos citopáticos (CPE), durante 10-14 dias. Para frascos estéreis, um volume total de 400 µl é inoculado, seguido de centrifugação a 100 xg por 1 hora a 37°C. Uma parte do sobrenadante de células pode ser coletado e testado para a presença do vírus por um ou outro alvo de RT-PCR ou ensaios consenso de RT-PCR. Alternativamente, as células são colhidas e as lâminas locais são preparadas para o exame IFA usando anticorpos monoclonais específicos.

### Controles

Células Vero e células C6/36 sem inoculação.

### Interpretação

O isolamento do vírus positivo e o reisolamento define o agente etiológico da doença do paciente. Se soros pareados ou um soro convalescente do paciente estiver disponível, o vírus isolado é testado sorologicamente com o soro do paciente para verificar a resposta de anticorpos ao vírus.

## Apêndice B – Protocolo da reação da polimerase em cadeia em tempo real

RT-PCR em tempo real pode ser realizada com um número de *kits* disponíveis comercialmente. Atualmente, utilizamos o iScript BioRad para uma etapa do RT-qPCR (# 170-8895) ou o *kit* QIAGEN QuantiTect Probe RT-PCR (# 204443). Os dois *kits* são quase idênticos na configuração de reação com uma única exceção: o volume de enzima usada no *kit* QIAGEN é 0.5 ul por reação, em vez de 1.0 ul, e o volume de água na mistura principal é ajustado por 0.5 ul para corrigir isso. A configuração mostrada a seguir é para o *kit* da QIAGEN. Note também que o volume de RNA adicionado por reação a seguir é de 10 ml, mas pode ser aumentado ou diminuído com o ajustamento adequado do volume total de água.

Componente	Volume por reação	10 reações
Água livre de RNase	13,2 $\mu$ l	132 $\mu$ l
2X mistura pronta	25 $\mu$ l	250 $\mu$ l
primer 1 (100 $\mu$ M do estoque)	0,5 $\mu$ l	5 $\mu$ l
primer 2 (100 $\mu$ M do estoque)	0,5 $\mu$ l	5 $\mu$ l
FAM/sonda (25 $\mu$ M do estoque)	0,30 $\mu$ l	3,0 $\mu$ l
$\mu$ l da enzima	0,5 $\mu$ l	5 $\mu$ l

Prepare um *master mix* de reagentes de acordo com o número de reações desejadas. O *master mix* deve ser preparado em uma sala limpa, fisicamente separada de todas as outras atividades laboratoriais, com reagentes e equipamentos dedicados (ou seja, pipetas). Para dez amostras fazer um *master mix* 10X (veja acima) multiplicando-se os volumes de todos os reagentes individuais por 10. Combine os reagentes na ordem acima, em um tubo de centrifuga livre de RNase no gelo. Divida a mistura principal em dez parcelas de 40 ml cada uma, em tubos de 0,2 ml (especificamente para os ensaios TaqMan; emissão de fluorescência é lida através do PAC) de PCR ou placa de PCR de 96 poços. Finalmente,

adicione 10 ml da amostra de RNA individuais para cada tubo. Todas as amostras são testadas em duplicata. Inclua vários “SEM RNA” controles negativos (NTC) por adição de água em vez de qualquer amostra de RNA. Inclua um controle positivo ou uma série de diluição de quantidades conhecidas de controle positivo de RNA para a criação de uma análise quantitativa.

Condições de Ciclagem (condições QIAGEN para o RT-PCR em tempo real):

1 ciclo:	45 ciclos:
50°C por 30 min (reação de RT)	95°C 15 seg
95°C por 15 min (ativação enzimática)	60°C 1 min

## Interpretação

Nós utilizamos o seguinte algoritmo para avaliar os resultados de TaqMan:

**Positivo:** Valores de Ct menor igual a 38 em poços em duplicata.

**Ambíguos:** Valores de Ct menor igual a 38 em um dos dois poços.

**Negativo:** Valores de Ct maior que 38 em poços em duplicata.

Todas as amostras positivas e equívocas são repetidas com um segundo conjunto de *primers*/sondas para a confirmação. Um resultado positivo em qualquer um dos controles negativos invalida toda a execução. A falha do controle positivo em gerar um resultado positivo também invalida toda a execução.

## A extração de RNA

**NOTA: Evitando a contaminação e trabalhando com RNA**

- Manter separados fisicamente as áreas de trabalho; uma dedicada ao trabalho de pré-amplificação do RNA (extração de RNA e adição de RNA) e outra para produção do *master mix* da reação.
- Utilizar equipamentos dedicados distintos dentro das áreas de pré e pós-amplificação, especialmente pipetas e centrífugas.
- Sempre utilizar luvas, mesmo quando manipular os tubos fechados.
- Abrir e fechar os tubos rapidamente e evitar tocar em qualquer parte no interior.

- Usar tubos de plástico e pontas de pipeta descartáveis sem RNase.
- Usar pontas de pipeta aerossol.
- Usar água sem RNase.
- Preparar todos os reagentes no gelo.

1. Amostras em fase sólida (mosquitos ou tecidos) são primeiramente homogeneizadas em tampão isotônica para produzir um líquido homogêneo. O RNA é extraído de amostras de líquido (LCE ou soro), sem qualquer pré-tratamento, conforme descrito a seguir. Os espécimes de tecido (aproximadamente 10 mm<sup>3</sup>) são homogeneizadas em 1 ml de diluente BA-1 com dez moedores de tecido Broeck. Espécimes do mosquito são homogeneizados em dez moedores de tecido Broeck ou usando o talão de aço revestido de cobre (BB) como técnica de moagem. Em ambas as técnicas o material é homogeneizado e clarificado por centrifugação em microcentrífuga (ou seja, Eppendorf) à velocidade máxima por 5 minutos para sedimentar qualquer material particulado.

2. Extrair RNA de 140 µl da amostra de líquido (LCE, soro ou homogeneizado clarificado) usando o *kit* QiAmp para extração de RNA viral (QIAGEN parte # 52904). Siga exatamente o protocolo do fabricante.

**NOTA:** Para amostras de mosquito adicionar uma lavagem adicional com AW1. Extrato de pelo menos dois controles negativos e dois controles positivos devem ser adicionados com as amostras. Os controles positivos devem diferir na quantidade de RNA-alvo presente (ou seja, uma quantidade predeterminada positiva alta e uma baixa). O volume de amostra coletada pode ser maior ou menor que o volume padrão declaradas no protocolo QIAGEN (140 µl), com as adaptações adequadas a todos os outros volumes no protocolo.

## Apêndice C – Protocolos sorológicos IgM e IgG

### Protocolo de captura de anticorpos IgM em ensaio ELISA

#### Introdução

Ensaio que detectam imunoglobulina M (IgM) específica de vírus são vantajosos porque a detecção de anticorpos produzidos ocorre durante os primeiros dias, após o início dos sintomas clínicos em uma infecção primária, eliminando em muitos casos a necessidade de coleta de espécimes para a fase de convalescença. A captura de IgM é o método ideal para detecção de IgM, porque é simples, sensível e aplicável a soro e no líquido cérebro-espinhal (LCE) de uma variedade de espécies animais (por exemplo, humanos, equinos, aves). Neste caso, reações falso-positivas devido ao fator reumatoide são minimizadas.

#### Princípio

Anticorpos IgM de captura em “enzyme-linked immunosorbent assay” ou ELISA (MAC-ELISA) fornecem uma alternativa útil comparada com a imunofluorescência para documentação de uma resposta sorológica. ELISA é um teste menos subjetivo que a imunofluorescência e um grande número de amostras podem ser processadas. No entanto, o princípio dessa técnica é semelhante ao da imunofluorescência. Em nosso laboratório, anti-IgM (anticorpo de captura) é revestido em placas de 96 poços, seguido de soro do paciente, e então de um antígeno viral conhecido e não infeccioso. A presença do antígeno é detectada por meio da utilização de uma enzima conjugada a um anticorpo antiviral, e um resultado colorimétrico é gerado pela interação da enzima e de um substrato cromogênico. Essa técnica constitui o MAC-ELISA.

#### Segurança

O procedimento deve ser realizado sob condições de laboratório de segurança que levam em consideração o potencial de infecção das amostras de soro envolvidas. O uso de jaleco, luvas e uma capela de fluxo laminar são recomendados.

## **Materiais e reagentes**

**Tampão de Revestimento:** Tampão carbonato / bicarbonato pH 9,6 – NaHCO<sub>3</sub> Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> + 1,59 g 2,93 g diluídos em 1 L de água.

**Tampão de lavagem:** tampão fosfato (PBS), 0,05% de Tween 20, pH 7.2. PBS está disponível em forma de pó, a partir de várias fontes comerciais.

**Tampão de bloqueio:** PBS leite a 5% / 0,5% Tween 20.

**Solução “Stop”:** 1N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

**Revestimento dos anticorpos:** IgM anti-humano de cabra

Kirkegaard and Perry Laboratories # cat 01-10-03.

**Antígeno viral:** sacarose-acetona, antígenos extraídos de sucção do cérebro do rato infectado com vírus, não infecciosas, previamente titulada.

**Antígeno normal:** sacarose-acetona, antígeno extraído do cérebro de camundongos lactantes, de animais não infectados.

**Conjugação anticorpo de detecção:** anticorpo monoclonal conjugado de HRP, previamente titulado.

**Substrato:** 3,3',5,5' base tetrametilbenzidina (TMB-ELISA), base Gibco # 15980-0414.

**Placas:** Immulon II HB de fundo chato de 96 poços.

Dynatech Technologies # 3455.

Máquina de lavar a microplaca.

Leitor de microplacas.

Incubadora.

Pipetas simples e multicanal.

Reservatórios de reagentes.

Sacos “Ziploc”, toalhas de papel.

## Espécimes clínicas

Soro humano das fases agudas e convalescentes e/ou líquido cérebro-espinhal (LCE).  
Soros humanos previamente testados soro-positivos e anticorpo-negativos para controle.

**NOTA: Guarde todos os espécimes de diagnósticos a 4°C antes do ensaio, e -2°C depois de todos os testes. Evite ciclos repetidos de congelamento e descongelamento.**

## Procedimento

**NOTA: o procedimento a seguir inclui informações sobre o controle de qualidade e interpretação. Cada amostra do soro é testada em triplicata em ambos os antígenos virais e normal. Oito espécimes de testes podem ser analisados por placa. As amostras de ICE geralmente são testadas separadamente.**

1. Usando um marcador permanente de ponta fina, numere e rotule as placas (use a Figura 1 como um guia). Identificar a localização de cada amostra clínica (S1-S8), utilizando o código apropriado do laboratório. *Para manter o calendário de adição de reagentes consistente, processe as placas na ordem em que elas são numeradas em todas as fases do processo.* As placas devem ser mantidas em um ambiente fechado, umidificado durante todos os períodos de incubação, com exceção da etapa de revestimento. Um saco grande “Ziploc” contendo uma toalha de papel úmida funciona bem para essa finalidade.

2. Cubra o interior de 60 poços de 96 placa de poços com 75 microlitros por poço de antiIgM humano produzido em cabra diluído 1:2.000 em tampão de revestimento; pH 9,6. **Incubar a 40°C durante a noite.**

3. Despejar o anticorpo de revestimento e placas em papel absorvente.

Bloquear as placas com 200 ml de tampão de bloqueio por poço.

**Incubar a temperatura ambiente por 30 minutos.**

4. Lavar os poços cinco vezes, com tampão de lavagem, utilizando lavadora automática. Os poços devem ser preenchidos até o topo em cada ciclo de lavagem.

5. Adicionar 50 ml por poço de soro do paciente (S) diluído 1:400 em tampão de lavagem para um bloco de seis poços ou adicionar LCE do paciente não diluído para apenas dois poços, de modo que o LCE será testado isoladamente contra o vírus e antígenos normais.



**NOTA:** O LCE pode ser diluído no máximo de 1:5 em tampão de lavagem, se necessário. Coloque soro humano de controle positivo (Ref) diluído em tampão de lavagem de acordo com a titulação anterior e um controle de soro humano negativo (N) diluído 1:400 em tampão de lavagem para um bloco de seis poços cada (ver Figura 1). Incubar as placas durante 1 hora a 37°C em câmara umidificada.

6. Lavar cinco vezes.

7. Diluir o antígeno viral em tampão de lavagem de acordo com a titulação anterior. Adicionar 50 ml por poço à esquerda dos três poços de cada bloco do soro (ver Figura 1). À direita dos três poços de cada bloco, adicionar 50 ml por poço de antígeno normal diluído em tampão de lavagem para a mesma concentração de antígeno viral. **Incubar durante uma noite a -40°C em câmara umidificada.**

8. Lavar cinco vezes.

9. Adicionar 50 ml por poço de anticorpo monoclonal conjugado com peroxidase amplamente reativo para o grupo viral adequado, diluído em tampão de bloqueio, de acordo com a titulação anterior. Incubar por 1 hora a 37°C em câmara úmida.

10. Ligue o leitor de placas para aquecer e remova o reagente TMB-ELISA da geladeira.

11. Lavar as placas cinco vezes, por **duas vezes**. Virar as placas 180° na máquina de lavar, após a primeira série de cinco ciclos. Isso facilita na obtenção de resultados consistentes.

12. Enquanto a chapa está na temperatura ambiente, adicionar 75 ml por poço de substrato TMB em todos os poços. Cubra as placas para bloquear a luz. Incubar a temperatura ambiente por 10 minutos. A cor azul vai aparecer em poços de anticorpos positivos.

13. Adicionar 50 ml por poço de solução “STOP” em todos os poços, incluindo as linhas exteriores dos poços da placa (o leitor da placa deve ser ajustado para zero). Os poços que estavam azuis irão mudar agora para uma cor amarela. Deixe as placas à temperatura ambiente por 1 minuto. Leia as placas em leitor de microplacas utilizando filtro de 450 nm.

### Considerações práticas

1. As placas podem ser revestidas e mantidas a 4°C por até um semana.
2. Soros controle não diluídos podem ser armazenados a 4°C por até duas semanas.
3. Antígenos virais reconstituídos não diluídos e normais podem ser armazenados a -20°C por um período indefinido de tempo.
4. Soros de teste e de controle podem ser diluídos para as diluições de trabalho e refrigerados um dia antes de usar. Antígenos e conjugado devem ser diluídos para as diluições de trabalho imediatamente antes da utilização.

O MAC-ELISA deve ser padronizado periodicamente. Isso deve ocorrer quando um novo lote de reagentes for introduzido e pelo menos uma vez por ano. Recomenda-se que a média de densidade óptica (DO) do soro controle positivo, que reagiu com o antígeno viral, seja fixada em aproximadamente 1.0. O soro controle normal que reagiu com o antígeno viral deve ser padronizado em torno de 0,2 (isso poderá variar). A padronização dos reagentes é normalmente obtida por meio de titulação, sempre comparando as densidades ópticas dos reagentes quando reagem ou não com o antígeno viral e normal.

## Resultados

Antes dos resultados serem calculados para cada amostra clínica, o teste deve ser correto para ser válido. Para um teste válido, o seguinte deve ser verdadeiro:

$$\frac{\text{A DO média do soro de controle positivo que reagiu em antígeno viral (P)}}{\text{A DO média do soro controle negativo que reagiu em antígeno viral (N)}}$$

$$\frac{\text{A DO média do soro controle negativo que reagiu em antígeno viral (N)}}{\text{A DO média do soro controle negativo que reagiu em antígeno viral (N)}}$$

Deve ser maior ou igual a 2,0. **Este é o P/N do controle positivo.**

A validade do teste deve ser determinada para cada placa. Resultados para as amostras clínicas só podem ser determinados se o teste é válido. Se o teste não é válido, a leitura da placa deve ser repetida. Se o teste ainda falhar após uma repetição, então um ou mais parâmetros ou reagentes causaram provavelmente um erro, e uma solução para o problema deve ser buscada.

Para determinar se os espécimes clínicos (S1-S8) contêm IgM contra o antígeno viral (que indicam infecção recente com o vírus) o seguinte deve ser calculado:

$$\frac{\text{A DO média da amostra do teste que reagem com antígeno viral (P)}}{\text{A DO média do soro controle negativo que reagiu em antígeno viral (N)}}$$

$$\frac{\text{A DO média do soro controle negativo que reagiu em antígeno viral (N)}}{\text{A DO média do soro controle negativo que reagiu em antígeno viral (N)}}$$

**Este é o P/N da amostra teste.** Para um modelo ser considerado IgM positivo para o vírus de teste, o P/N deve ser igual ou superior a 2,0.

**Além disso**, o valor de P para o corpo de prova deve ser maior ou igual ao dobro da média da DO da amostra do teste que reagiu com o antígeno normal. Se este requisito não for cumprido, um conhecimento não específico está sendo gerado, e o resultado **deve ser** reportado como não interpretável.

Todos os pacientes com valores de P/N iguais ou superiores a 2 devem ser relatados como presumíveis de anticorpos IgM (veja o parágrafo a seguir), desde que cumpram os requisitos listados acima. No caso de um LCE agudo precoce ou soro serem negativos por este teste, uma amostra de soro da fase convalescente deve ser solicitada e testada antes que o paciente seja relatado como negativo para evidência sorológica de infecção viral recente. Sem o teste de uma amostra da fase convalescente, um resultado negativo pode refletir o teste de uma amostra da fase aguda obtida antes dos anticorpos terem aumentado a níveis detectáveis. Na maioria dos pacientes, a IgM é detectável oito dias após o início dos sintomas de infecção por um vírus do grupo em estudo. IgM persiste por pelo menos 45 dias, e muitas vezes por até 90 dias.

O valor de corte de 2,0 é empírico, baseado na experiência e na convenção. Os valores de P/N que se encontram entre 2,0 e 3,0 podem ser considerados suspeitos de falso-positivos. Outros testes devem ser realizados para determinar o estado desses espécimes.

Ressalta-se que o valor de P/N para uma amostra na diluição de 1:400 de triagem não é uma indicação da concentração de anticorpos absoluta, ou seja, o valor de P/N não é quantitativo.

Recomenda-se ainda que, para soros, todos os resultados positivos devem ser confirmados por titulação com 6, duas vezes diluições das amostras de soro, em comparação a uma titulação similar do soro de controle negativo. As curvas indicam soropositividade linear verdadeira. Curva de titulação plana e ondulante indicam resultados falso-positivos.

## Protocolo de captura de anticorpos IgG em ensaio de ELISA

### Introdução

Imunoglobulina G (IgG) é menos específica para vírus que a IgM, aparecendo no soro um pouco mais tarde no curso da infecção e permanecendo detectável até muito tempo depois da IgM desaparecer do soro de pacientes infectados. Usando o IgG-ELISA em paralelo com o anticorpo IgM “Capture ELISA Assay” (MAC-ELISA), pode-se observar aumento relativo e quedas nos níveis de anticorpos em amostras de soro. O teste é simples e sensível. É aplicável a amostras de soro, mas geralmente não é aplicável a líquido cérebro-espinhal (LCE). As reações falso-positivas devido ao fator reumatoide são minimizadas.

### Princípio

IgG-ELISA fornece uma alternativa útil para imunofluorescência na identificação de um isolado viral ou documentação de uma resposta sorológica. IgG-ELISA é menos subjetivo que a imunofluorescência, e um grande número de amostras podem ser processadas ao mesmo tempo. Em nosso laboratório, um grupo de anticorpos monoclonais virais reativos é revestido em uma placa de 96 poços, seguido sequencialmente por antígenos virais conhecidos, o soro do paciente, IgG humana conjugada por enzimas e, por último, um substrato utilizado para o conjugado. Essa é a constituição da técnica de IgG-ELISA.

### Segurança

O procedimento deve ser realizado sob condições de laboratório de segurança que levam em consideração o potencial de infecção das amostras de soro envolvidas. O uso de jaleco, luvas e uma capela de fluxo laminar são recomendados.

## **Materiais e reagentes**

**Tampão de revestimento:** tampão carbonato / bicarbonato pH 9,6 –  $\text{NaHCO}_3$   $\text{Na}_2\text{CO}_3$  + 1.59 g 2.93 g diluídos em 1 L de água.

**Tampão de lavagem:** tampão fosfato (PBS), 0,05% de Tween 20, pH 7.2. PBS está disponível em forma de pó a partir de várias fontes comerciais.

**Tampão de bloqueio:** soro de cabra a 3%, 1% Tween-20, em PBS.

**Anticorpo de revestimento:** grupo de anticorpos monoclonais específicos, previamente titulados.

**Antígeno viral:** sacarose-acetona, antígenos virais extraídos via sucção do cérebro do rato, não infecciosas, previamente titulados.

**Antígeno normal:** sacarose-acetona, antígenos extraídos do cérebro de camundongos lactantes, de animais não infectados.

**Detecção de conjugação de anticorpos:** alcalina conjugada por fosfatase de IgG de cabra anti-humano parte Fcy, previamente titulada (Jackson gato Immunoresearch # 109-055-098).

**Substrato:** 3 mg/ml de fosfato de p-nitrofenil, dissódico (Sigma 104, Sigma gato diagnósticos # 104-105) em 1M Tris (base) pH 8.0 (nota: o reagente tris requer considerável concentração de HCL para o ajuste do pH).

**Solução STOP:** 3M NaOH.

**Placas:** Immulon II HB de fundo chato de 96 poços.

Dynatech Technologies # 3455.

Máquina de lavar a microplaca.

Leitor de microplacas.

Incubadora.

Pipetas simples e multicanal.

Reservatórios de reagentes.

Sacos “Ziploc”, toalhas de papel.

## Espécimes clínicas

Soro humano das fases aguda e convalescente.

**NOTA:** guarde todas as amostras de diagnóstico a 4°C antes do ensaio, e a -20°C após todos os testes concluídos. Evite ciclos repetidos de congelamento e descongelamento.

## Procedimento

**NOTA:** o procedimento a seguir inclui informações sobre o controle de qualidade e a interpretação. Cada amostra do soro é testada em triplicata em ambos os antígenos virais e normal. Oito espécimes de testes podem ser analisadas por placa.

1. Usando um marcador permanente de ponta fina, numere e rotule as placas (use a Figura 1 como um guia). Identificar a localização de cada amostra clínica (S1-S8), utilizando o código apropriado de laboratório. *Para manter o calendário de adição de reagentes consistente, processe as placas na ordem em que elas são numeradas em todas as fases do processo.* As placas devem ser mantidas em um ambiente fechado umidificado durante todos os períodos de incubação, com exceção da etapa de revestimento. Um grande saco “Ziploc” contendo uma toalha de papel úmida funciona bem para essa finalidade.

2. Cubra o interior de 60 dos 96 poços com 75 µl/poço de anticorpos monoclonais, adequados reativos de grupos diluídos em tampão de revestimento, de acordo com a titulação prévia. **Incubar a 40°C durante a noite.**

3. Despejar o anticorpo de revestimento e de placas em papel absorvente.

Bloquear as placas com 200 ml de tampão de bloqueio por poço. **Incubar a temperatura ambiente por 30 minutos.**

4. Lavar os poços cinco vezes, com tampão de lavagem, utilizando lavadora automática. Os poços devem ser preenchidos até o topo em cada ciclo de lavagem.

5. Diluir o antígeno viral em tampão de lavagem de acordo com a titulação anterior. Pipetar 50 ml por poço à esquerda dos três poços de cada bloco do soro (ver Figura 1). Nos três poços à direita de cada bloco, adicionar 50 ml por poço de antígeno normal, diluído em tampão de lavagem para a mesma concentração de antígeno viral. Incubar durante uma noite a -40°C em câmara umidificada.

6. Lavar cinco vezes.

7. Pipetar 50 ml por poço de soro do paciente (S) diluído 1:400 em tampão de lavagem, para um bloco de seis poços (ver Figura 1). Adicionar soro de controle positivo humano (Ref), diluído em tampão de lavagem de acordo com a titulação anterior, e um controle de soro humano negativo (N) diluído 1:400 em tampão de lavagem para um bloco de seis poços cada. Incubar as placas durante **1 hora a 37°C** em câmara umidificada.

8. Lavar cinco vezes.

9. Pipetar 50 ml por poço de IgG de cada conjugado com fosfatase alcalina anti-humana, diluído em tampão de bloqueio, de acordo com a titulação prévia. **Incubar por 1 hora a 37°C** em câmara úmida.

10. Ligue o leitor de placas para aquecer e dissolver tabletes de substrato em tampão tris, por 15 minutos antes de adicioná-lo às placas.

11. Lavar as placas cinco vezes, **por duas vezes**. Virar as placas 180°C na máquina de lavar, após a primeira série de cinco ciclos. Resultados consistentes são obtidos se esse procedimento for seguido.

12. Enquanto a chapa está na temperatura ambiente, adicionar 75 µl por poço de substrato Sigma 104 para todos os poços. Cobrir imediatamente as placas para bloquear a luz. Incubar a temperatura ambiente por 30 minutos. A cor amarela aparece em poços de anticorpos positivos.

13. Adicionar 35 µl por poço de solução “STOP” em todos os poços, incluindo as linhas exteriores dos poços da placa (o leitor da placa deve ser ajustado para zero). Os poços com reatividade continuarão a apresentar uma cor amarela. Coloque as placas à temperatura ambiente por 1 minuto. Leia as placas em leitor de microplacas usando um filtro de 405 nm.

## Considerações práticas

1. As placas podem ser revestidas e mantidas a 4°C por até uma semana.
2. Soros controle não diluídos podem ser armazenados a 4°C por até duas semanas.
3. Antígenos virais reconstituídos não diluído e normal podem ser armazenados a -20°C, por um período indefinido de tempo.
4. Soros de teste e de controle podem ser diluídos para as diluições de trabalho e refrigerados um dia antes de usar. Antígenos e conjugado devem ser diluídos para as diluições de trabalho imediatamente antes da utilização.

O IgG-ELISA deve ser padronizado periodicamente. Isso deve ocorrer quando um novo lote de reagentes for introduzido, e pelo menos uma vez por ano. Recomenda-se que a média de densidade óptica do soro de controle positivo que reagiu com o antígeno viral seja fixada em aproximadamente 1.0. O soro controle normal que reagiu com o antígeno viral deve ser padronizado em torno de 0,2 (isso poderá variar). A padronização dos reagentes é normalmente obtida por meio de titulação, sempre comparando as densidades ópticas dos reagentes quando reagem ou não com o antígeno viral e normal.

## Resultados

Antes dos resultados serem calculados para cada amostra clínica, o teste deve ser correto para ser válido. Para um teste válido, o seguinte deve ser verdadeiro:

$$\frac{\text{A DO média do soro de controle positivo que reagiu em antígeno viral (P)}}{\text{A DO média do soro de controle negativo que reagiu em antígeno viral (N)}}$$

deve ser maior ou igual a 2,0. **Este é o P/N do controle positivo.**

A validade do teste deve ser determinada para cada placa. Resultados para as amostras clínicas só podem ser determinados se o teste for válido. Se o teste não for válido, a leitura da placa deve ser repetida. Se o teste ainda falhar após uma repetição, então um ou mais dos parâmetros ou reagentes provavelmente causou um erro, e a uma solução para o problema deve ser buscada.



Para determinar se os espécimes clínicos (S1-S8) contêm IgG ao antígeno viral (que indicam infecção recente com o vírus) o seguinte deve ser calculado:

$$\frac{\text{A DO média da amostra do teste que reagem com antígeno viral (P)}}{\text{A DO média do soro de controle negativo que reagiu em antígeno viral (N)}}$$

**Este é o P/N da amostra teste.** Para um modelo ser considerado IgG positivo para o vírus de teste, o P/N deve ser igual ou superior a 2,0.

**Além disso**, o valor de P para o corpo de prova deve ser maior ou igual ao dobro da média da DO da amostra do teste que reagiu com o antígeno normal. Se este requisito não for cumprido, um conhecimento não específico está sendo gerado e o resultado **deve ser** relatado como não interpretável.

### Interpretação

Todos os pacientes com valores P/N iguais ou superiores a 2,0 devem ser relatados como possíveis IgG positivos (ver o parágrafo explicativo na página seguinte), contanto que preencham os requisitos listados acima. **Interpretações de IgG-ELISA devem ser feitas no contexto do respectivo MAC-ELISA, e a data da coleta em relação ao início dos sintomas.** Um resultado positivo no teste IgG-ELISA por si só não consegue distinguir uma infecção recente de uma passada, devido à persistência de IgG de infecções passadas. IgG é também mais passível de reação cruzada do que anticorpos IgM, o que significa que um resultado positivo pelo ELISA-IgG pode de fato indicar a presença de anticorpos para o vírus relacionado. Na maioria dos casos, IgG é detectável 12 dias após o início dos sintomas de uma infecção por vírus do grupo em estudo, e pode persistir por longos períodos de tempo, possivelmente por anos.

Alguns exemplos de situações comuns estão listados a seguir:

1. Um resultado positivo do IgG-ELISA com um resultado positivo do MAC-ELISA poderia indicar a presença de uma infecção recente.
2. Um resultado negativo do IgG-ELISA com um resultado positivo do MAC-ELISA em um espécime de fase aguda indicaria uma infecção recente em que os anticorpos IgG ainda não subiram para níveis detectáveis.

3. Um resultado positivo do IgG-ELISA e um resultado negativo do MAC-ELISA a partir de um espécime cronometrado entre aproximadamente 8 e 45 dias, após o início dos sintomas, sugerem a ocorrência de uma infecção passada (IgG tem uma reatividade muitas vezes maior com outros vírus do mesmo gênero).

4. Para um único espécime tardio (obtido mais de 45 dias após o início dos sintomas), tendo um resultado positivo do IgG-ELISA e um resultado negativo do MAC-ELISA, a distinção entre infecção atual e infecções passadas não pode ser feita.

5. Um resultado negativo do IgG-ELISA com um resultado negativo do MAC-ELISA negativo indica a ausência de infecção recente ou passada com o vírus de teste.

O valor de corte de 2,0 é empírico, baseado na experiência e na convenção. Os valores de P/N que se encontram entre 2,0 e 3,0 podem ser considerados suspeitos de falso-positivos. Outros testes devem ser realizados para determinar o estudo desses espécimes.

Ressalte-se que o valor de P/N para uma amostra na diluição de 1:400 de triagem não é uma indicação da concentração de anticorpos absoluta, ou seja, o valor de P/N não é quantitativo.

Recomenda-se ainda que, para soros, todos os resultados positivos devem ser confirmados por titulação com 6, duas vezes diluições das amostras de soro, em comparação a uma titulação similar do soro controle negativo. As curvas indicam soropositividade linear verdadeira. Curva de titulação plana e ondulante indicam resultados falso-positivos.

## Apêndice D – Exemplo de um formulário de notificação de casos

**Dados básicos**  
 Sobrenome: \_\_\_\_\_ Nome: \_\_\_\_\_  
 Sexo: ( ) masculino ( ) feminino  
 Data de nascimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ idade: [\_\_][\_\_] anos [\_\_][\_\_] meses [\_\_][\_\_] dias  
 Ocupação: \_\_\_\_\_  
 Endereço: \_\_\_\_\_  
 CEP: [\_\_][\_\_][\_\_][\_\_][\_\_][\_\_][\_\_][\_\_] Número de telefone: [\_\_][\_\_][\_\_][\_\_][\_\_][\_\_][\_\_][\_\_]

**Informação clínica**  
 Número do histórico clínico: \_\_\_\_\_  
 Data do início dos sintomas: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Semana epidemiológica: [\_\_][\_\_]  
 Número de dias com sintomas: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Data da primeira consulta médica: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
 Data da hospitalização: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
 Óbito: Sim ( ) Não ( ) Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**Sintomas**

	Sim	Não		Sim	Não
Febre	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Mialgia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Artrite	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Dor nas costas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Se sim, aonde:			Cefaleia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Mãos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Náusea	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Pés	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Sangramento de mucosa	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Calcanhares	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Vômitos	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Outros	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Astenia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Artralgia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	Meningoencefalite	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Edema periarticular	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			
Manifestações cutâneas	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>			

    Se sim, descreva: \_\_\_\_\_  
 Outros \_\_\_\_\_  
**Diagnóstico clínico:** \_\_\_\_\_

**Informação laboratorial**  
**Amostra de sangue para teste de infecção por CHIKV:**  
 Data da coleta: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
 Sorologia - IgM Sim  Não   
 Resultado: Positivo  Negativo  Data do resultado \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
 Sorologia - IgG Sim  Não   
 Resultado: Positivo  Negativo  Data do resultado \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
 RT-PCR Sim  Não   
 Resultado: Positivo  Negativo  Data do resultado \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_  
 Isolamento viral Sim  Não   
 Resultado: Positivo  Negativo  Data do resultado \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**Informação epidemiológica**

Histórico de viagem nos 30 dias anteriores ao início dos sintomas: Sim  Não

Se sim, aonde: País: \_\_\_\_\_ Cidade: \_\_\_\_\_

Local de residência:

Comunidade: \_\_\_\_\_ Localidade: \_\_\_\_\_

Você recebeu sangue ou produtos do sangue nos 30 dias anteriores ao início dos sintomas?

Sim  Não

**Classificação final:**

Descartado:

Confirmado:

Suspeito:

Data da notificação: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**Nome do provedor da notificação:** \_\_\_\_\_

## Apêndice E – Relatório de evento/surto de importância para saúde pública

NOTIFICAÇÃO \_\_\_\_\_ Região \_\_\_\_\_

Um caso ou surto de [EVENTO DE SAÚDE] ocorreu na cidade [LOCAL], estado [NOME municípios e estados] na data [MÊS e ANO ou intervalo de tempo].

Até [Data do Relatório], [NÚMERO DE CASOS] de [EVENTO DE SAÚDE] apresentando com [SINAIS PRINCIPAIS E SINTOMAS] foram vistos no [INSTITUIÇÃO OU SETOR OU OUTRA COMUNIDADE]. Estes casos estão ocorrendo em áreas com uma população aproximada de [NÚMERO DE HABITANTES da população exposta].

Os casos ocorreram entre [DATA DE INÍCIO, SEMANA EPIDEMIOLÓGICA] e [DATA FINAL ou HOJE]. A área afetada é principalmente [urbana ou rural] e apresentou previamente surtos ocasionais de [SURTOS PRÉVIOS].

As características mais marcantes destes casos são [CARACTERÍSTICA PESSOA: SEXO, IDADE, OU OUTRAS DEFINIR CARACTERÍSTICAS de pessoas afetadas].

De todos os casos, [# ÓBITOS] faleceram e [# HOSPITALIZADOS] necessitaram de hospitalização. Casos de óbito ou que necessitaram de hospitalização tiveram [TIPO: ÓBITO, ALTO SEM COMPLICAÇÕES, RESULTADO ETC.].

[# amostras] amostras de [TIPO DE ESPÉCIME] foram coletadas e enviadas ao [LABORATÓRIO] para processamento onde exames estão sendo processados ou confirmaram [Agente Etiológico].

Pesquisa epidemiológica indica que o surto foi produzido por [PROVÁVEL MECANISMO, FONTE, fator de exposição].

As ações de controle que foram tomadas são as seguintes: [AÇÃO]

**NOTA: A notificação imediata deve incluir tudo o que for possível para completar o conhecimento do surto. Uma vez investigado, o formato completo é enviado de volta ao escritório regional da Organização Mundial da Saúde.**

## Apêndice F – Procedimentos de controle de vetores

Há uma série de procedimentos de controle de vetores que devem ser considerados para diminuir o risco de transmissão autóctone e de expansão do CHIKV em uma área.

### Controle químico de criadouros

Se os recipientes de água potável não podem ser cobertos de maneira adequada, devem ser limpos regularmente ou tratados para interromper a produção de larvas de acordo com as práticas recomendadas pelo Programa Nacional de Controle da Dengue (PNCD) para água potável. Criadouros potenciais que não contêm água destinada ao consumo humano devem ser eliminados. Caso haja impedimento para a sua eliminação, devem ser tratados com os larvicidas recomendados pelo PNCD.

### Aplicação espacial para o controle do mosquito adulto

A aplicação espacial para controle de *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* é mais eficaz quando o interior de casas e quintais associados são tratados com equipamentos portáteis. Aplicações repetidas são necessárias para matar os adultos recém-emergidos dos criadouros e, principalmente, as fêmeas infectadas, no caso do *Aedes aegypti*. Em relação ao *Aedes albopictus*, a aplicação espacial será mais eficiente nos domicílios e nos peridomicílios dos casos suspeitos ou confirmados, já que o vírus atinge as glândulas salivares do mosquito dois dias após a ingestão de sangue infectado.

Em resposta à epidemia, a aplicação espacial deve utilizar equipamentos portáteis, sempre que possível, ou com equipamentos acoplados a veículos para aumentar a velocidade de cobertura, a cada 2-3 dias. Especial atenção deve ser dada ao monitoramento da resistência a inseticidas, a calibração dos equipamentos, tamanho de gotas e épocas de aplicação são críticos para o uso efetivo destas ferramentas. A aplicação de pesticidas em grande escala e com equipamentos acoplados a veículos geralmente não são eficazes no controle do *Ae. aegypti*, quando utilizados isoladamente. Aplicação espacial em larga escala deve ser usada como um componente de um programa de MIV para ser eficaz.

## Monitoramento da resistência a inseticidas

O uso frequente do mesmo inseticida ou da mesma classe de inseticida pode selecionar indivíduos que são capazes de sobreviver às aplicações de pesticidas. A resistência é uma alteração hereditária na sensibilidade de uma população de um inseticida que pode levar à ineficácia do pesticida para produzir o esperado grau de controle.

O número de inseticidas disponíveis para uso como adulticidas é limitado e se divide em três classes químicas: organofosforados, carbamatos e piretroides. Alguns produtos larvicidas têm diferentes modos de ações, tais como reguladores de crescimento de insetos e ferramentas microbianas. No entanto, o produto mais comumente usado para controlar larvas de *Ae. aegypti* em recipientes é o organofosforado *temephos*. Resistência ao *temephos* tem sido detectada em múltiplas populações de *Ae. aegypti* nas Américas e constitui uma séria ameaça ao seu controle. Há poucas informações disponíveis sobre a resistência de populações de *Ae. albopictus* na região, entretanto, de acordo com estudos realizados na Argentina, o *Ae. albopictus* mostrou-se mais tolerante do que o *Ae. aegypti* a inseticidas neurotóxicos (Gómez, A et al; 2011).

Os programas de controle devem incluir um programa de monitoramento da resistência (referências adicionais estão disponíveis em <<http://www.who.int/whopes/resistance/en/>>) para avaliar a eficácia e estabelecer um plano de rotação de pesticidas para atenuar o desenvolvimento de resistência.

## Supervisão de segurança e garantia da qualidade

O monitoramento contínuo e a supervisão são necessários para assegurar que os funcionários estejam devidamente treinados e seguindo corretamente as orientações técnicas de aplicação de pesticidas e de segurança pessoal. Os programas MIV devem incluir um programa de garantia de qualidade concebido para monitorar a eficácia das atividades de controle. Um programa de garantia de qualidade deve monitorar o desempenho do aplicador e os resultados de controle. Falhas de controle podem ser devidas ao mau uso, cobertura incompleta ou de resistência a inseticidas, e devem ser corrigidas imediatamente. Os esforços de garantia de qualidade devem ser contínuos, sistemáticos e independentes.

## Apêndice G – Controle de vetores de contenção do CHIKV

Esforços de contenção do vírus devem ser iniciados após a descoberta de um caso ou surto de CHIKV (introduzido ou de transmissão autóctone), em simultâneo com a ativação da capacidade de resposta de emergência local. O objetivo do confinamento é eliminar CHIKV recentemente introduzido e evitar a sua propagação por intermédio de medidas intensas de controle vetorial. Este conceito tem sido aplicado para conter a invasão e a disseminação de vírus dengue em áreas não endêmicas. Mesmo que o CHIKV se espalhe para uma área urbana do País, a contenção deve ser considerada uma estratégia fundamental para evitar a sua disseminação em outras partes do País e em países vizinhos. A aplicação de medidas de controle do vetor deve começar nas residências dos casos de CHIKV detectados (ou no local suspeito de infecção) e deve ser aplicada em todo o bairro. Atrasos na detecção e na notificação dos casos podem concorrer para que CHIKV se espalhe para outras partes do bairro. Deve-se solicitar a participação das autoridades locais para ter acesso a imóveis fechados ou abandonados. Toda a operação de contenção de emergência deve ser realizada rapidamente, para tanto os recursos dedicados a este esforço, tanto humanos quanto outros devem ser compatíveis com o tamanho da área de contenção. Pessoal de controle da malária e outros com formação adequada podem ser utilizados para atingir os objetivos do esforço de contenção.

As seguintes ações são recomendadas para conter uma introdução de CHIKV:

- Além de participar de um esforço nacional de comunicação, informar a comunidade (moradores, escolas, igrejas, empresas etc.) imediatamente acerca da introdução do CHIKV. Os tópicos devem incluir o modo de disseminação, sintomas principais, aconselhar a consultar um médico se os sintomas aparecerem e envolvimento da comunidade para eliminar a água parada de recipientes e para permitir acesso dos agentes de saúde nos domicílios para aplicação de medidas antivetoriais. Preparar a comunidade para que as operações de contenção do CHIKV possam ser conduzidas de forma mais eficiente e rápida em imóveis residenciais e comerciais, bem como espaços públicos e parques.
- Conduzir aplicações de inseticidas nos interiores dos imóveis e no exterior para eliminar os mosquitos adultos.
- Simultaneamente, conduzir a eliminação/proteção de recipientes e aplicação de larvicidas para eliminar a produção de novos mosquitos. Especial atenção deve ser



dada aos criadouros críticos ou subterrâneos que podem produzir mosquitos *Aedes*, como calhas, ralos, poços, reservatórios de água elevados, medidores de água, fossas sépticas e até mesmo<sup>87</sup> recipientes de armazenamento de água potável e bebedouros de animais, que devem ser limpos (lavagem e enxágue) e protegidos com tampas hermeticamente fechadas. Alguns recipientes, tais como instrumentos úteis (bandejas de tinta, baldes) e as garrafas devem ser guardados de cabeça para baixo sob uma área coberta. Os objetos grandes que acumulam água da chuva (barcos, carros) devem ser devidamente cobertos. Os recipientes que não podem ser manejados por qualquer motivo devem ser tratados com um larvicida. Por exemplo, recipientes de água para consumo animal ou humano requerem a aplicação de larvicidas que foram licenciados no país para esse fim específico. Além desses, deve-se atenção aos criadouros naturais, preferenciais do *Ae. albopictus*, como bambus, buracos em árvores, cascas de frutas e, especialmente, criadouros artificiais esquecidos em quintais, margem de florestas ou plantações. Todos os pesticidas devem ser sempre utilizados seguindo as especificações de seus rótulos.

- Em alternativa ou concomitantemente com a eliminação de criadouros, inseticidas residuais podem ser aplicados em pontos estratégicos como, por exemplo, borracharias, ferros-velhos e nas proximidades de superfícies exteriores para matar os mosquitos adultos pousados ou em repouso. Este tipo de aplicação do inseticida é feita com pulverizadores de compressão manual. Um especial cuidado tem que ser tomado para evitar a pulverização perto de recipientes de armazenamento de água desprotegidos ou animais domésticos.
- Monitorar casas e prédios nos bairros que estão sendo tratados e utilizar equipes de controle especiais, depois do trabalho, fins de semana e feriados para garantir que quase 100% dos lares e das empresas sejam tratados.

## Intervenção em um surto

Para controlar uma epidemia de CHIKV ou uma série de surtos em uma escala geográfica maior é necessário:

- Ativar um centro de comando (Centro de Operações de Emergência) seja físico ou virtual, onde os epidemiologistas, entomologistas e especialistas em controle de vetores, educadores, comunicadores de mídia etc., podem conjuntamente planejar, trabalhar e avaliar o progresso ao longo da epidemia. Os serviços epidemiológicos precisam ser organizados de forma que, diariamente, relatórios detalhados sejam

enviados para todo o pessoal autorizado nas áreas afetadas (estados, municípios). Para serem bem-sucedidos será necessário estabelecer um sistema eficiente de comunicação, permitindo relatórios de *feedback* e o reconhecimento de recepção (*e-mail*, fax, telefones etc.)

- Orientar a população em geral por meio da mídia sobre a possibilidade de infecção com CHIKV e sobre como as famílias e as comunidades podem contribuir para a redução da epidemia. Material educativo sobre ações específicas para prevenir ou controlar a transmissão CHIKV deverá ser elaborado e distribuído por vários meios de comunicação (TV, rádio, jornais, organizações locais, escolas, clínicas etc.). Seria importante um relatório diário (imprensa) sobre quais comunidades ou bairros estão sendo afetados pelo CHIKV, para que os moradores e as autoridades locais estejam conscientes do risco iminente de infecção e possam tomar as medidas adequadas (por exemplo, uso adequado de repelentes, a eliminação de todas as águas paradas, a organização de campanhas de limpeza etc.). A divulgação destas informações tem de ser feita de forma que nenhuma informação inadequada seja liberada ao público a qualquer momento.
- Assegurar que as pessoas infectadas e febris sejam protegidas de picadas de mosquito.
- Orientação das operações de controle de vetor em tempo real, avaliações epidemiológica e entomológica da transmissão do CHIKV, indicando as áreas específicas que precisam ser tratadas.
- Aplicação de medidas eficazes de controle do vetor. Uma epidemia é geralmente uma série de pequenos surtos que ocorrem simultaneamente em vários lugares diferentes dentro de um país (bairros, cidades, municípios, estados), onde o número de casos da doença é excepcionalmente grande. Isso significa que as medidas de controle da epidemia podem precisar ser aplicadas simultaneamente em vários locais. Ampla área de controle de populações de mosquitos em períodos curtos de tempo, a aplicação espacial de inseticidas por equipamentos acoplados a veículos não se mostrou eficaz na redução da transmissão da dengue quando usada isoladamente. Aplicação de pesticidas ao ar livre em larga escala pode fornecer um benefício quando usado com outras medidas de controle como parte de um programa integrado de controle do mosquito. Portanto, medidas eficazes de controle do vetor a ser aplicadas durante uma epidemia são semelhantes aos recomendados para área ampla de contenção CHIKV (acima) e surtos de vírus DEN. A principal diferença é que elas devem ser aplicadas simultaneamente em muitas áreas para diminuir focos individuais.

- » Georreferenciar cada caso do CHIKV para orientar as áreas de controle operacional. No caso de áreas endêmicas, realizar o estudo epidemiológico retrospectivo, neste nível, de modo que a estratificação sirva a fins operacionais. Uso do Sistema de Informação Geográfica (SIG) para as unidades do mapa operacional, fazer e distribuir mapas de incidência da doença e monitorar espacialmente a epidemia.
- » Dividir a área-alvo (por exemplo, município, estado) em áreas relativamente uniformes (áreas de controle operacional) que vão ser tratadas utilizando uma abordagem de área ampla (bairros com 2.000-5.000 pessoas; setores censitários, CEP etc.) Todas as lojas, empresas e outras áreas (parques, cemitérios, terrenos abandonados, áreas ao longo de córregos, aterros ilegais etc.) serão tratadas simultaneamente dentro de poucos dias. Essa divisão operacional do espaço deve ser realizada com antecedência a uma eventual introdução de CHIKV.
- » Medidas de controle do vetor em área ampla implicam ter número suficiente de pessoal treinado, equipamentos e suprimentos para tratar o ambiente onde os mosquitos *Aedes* estão sendo produzidos. Reduzindo significativamente o mosquito adulto (usando adulticidas) e a produção de novos mosquitos adultos (redução na fonte e na eliminação, larvicidas) em uma área particular, o ciclo de transmissão pode ser interrompido e CHIKV levado à extinção. Esse cenário só é possível se o número de mosquitos picando for drasticamente reduzido durante o período de tempo que leva para o homem e os vetores se tornarem livres do CHIKV. Por essa razão, as medidas de controle de vetores necessitam alcançar uma eficiência muito elevada, medida por meio da eliminação de uma proporção muito grande de mosquitos vetores.

## Limitações do controle de vetores

A redução da população de vetores e aquela associada ao contato com humanos devem ser correlacionados com a transmissão do vírus e a redução da doença. No entanto, a fim de interromper um surto, a redução da população do vetor deve ser imediata, substancial e sustentada. Os mosquitos adultos continuarão a surgir e substituir os mosquitos adultos mortos por adulticidas. Portanto, é essencial manter programas de MIV com uma cobertura completa e tratamentos repetidos. Além da presença de profissionais de controle de mosquitos e um programa de MIV ativo, é importante manter o apoio e a cooperação de todos os membros da sociedade.

## Apêndice H – Modelo de risco e plano de comunicação em caso de surto

Público-alvo	Fase de preparação	Fase de resposta	Fase de recuperação
<b>Autoridades governamentais</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Preparar informativos sobre o risco de introdução do CHIKV para as autoridades em coordenação com especialistas no assunto.</li> <li>• Treinar porta-vozes sobre este assunto.</li> <li>• Desenvolver um plano de comunicação de riscos e crises.</li> <li>• Coordenar com a mídia e outros investidores sociais.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ativação do plano de comunicação.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Avaliação e adaptação do plano de comunicação.</li> </ul>
<b>Autoridades de saúde pública e serviços de emergência</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Estabelecer protocolo para gerenciamento de incidentes / abordagem de operações de emergência, se não estabelecido.</li> <li>• Realizar exercícios para permitir que aqueles que respondem à comunicação conheçam a estrutura de resposta a emergências e suas funções.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Estabelecer Centro de Informação Conjunto no Centro de Operações de Emergência.</li> <li>• Estabelecer reuniões periódicas de agentes de informação pública (AIP) e agentes de comunicação estratégica para todos os órgãos envolvidos, e cronograma de reuniões regulares com outros elementos-chave da resposta operacional.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Conduzir avaliação das "lições aprendidas" na resposta de comunicações e uso da estrutura de resposta a emergências.</li> </ul>

continua

continuação

Público-alvo	Fase de preparação	Fase de resposta	Fase de recuperação
<b>Pessoal médico</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Desenvolver e fornecer informações por meio de sites, brochuras, folhetos, guias de bolso.</li> <li>Participar de conferências abordando fatores de risco, definição de caso, diagnóstico e fatores de risco.</li> <li>Desenvolver guia de resposta à PF sobre as diferenças entre CHIKV e dengue.</li> <li>Estabelecer infraestrutura para a <i>hotline</i> de suporte clínico.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Implementar um plano(s) de resposta.</li> <li>Fornecer informação atualizada e facilmente acessível sobre a epidemiologia do surto, os fatores de risco, definição de casos, diagnósticos etc.</li> <li>Atualizar o fluxo de informação, conforme necessário.</li> <li>Ativar e formar funcionários para uma linha especial (<i>hotline</i>) de informação para suporte clínico.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Continuar a fornecer atualizações.</li> <li>Continuar a apoiar o <i>hotline</i> de suporte clínico.</li> <li>Fornecer informações sobre as sequelas.</li> <li>Avaliar a comunicação com a comunidade clínica, reunir as "lições aprendidas".</li> <li>Fornecer relatório de resposta final.</li> </ul>
<b>Hospitais</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Desenvolver e fornecer informações para o planejamento da resposta, gestão dos pacientes.</li> <li>Desenvolver um guia de bolso ou manual abordando o tipo de informação que deve ser compartilhada com os pacientes do CHIKV, as famílias dos pacientes e o pessoal hospitalar e pessoal associado ao hospital (o pessoal de emergência médica).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Implementar planos de emergência com os hospitais.</li> <li>Recolher informação dos hospitais para apoio na informação e no aconselhamento de pacientes do CHIKV, das famílias dos pacientes e do pessoal hospitalar e associado (emergência médica, Cruz Vermelha, paramédicos, bombeiros, segurança pública etc.).</li> <li>Usar informações reunidas para facilitar as comunicações a outros setores da população em geral, sobre o status das operações médicas e cuidados hospitalares nos locais de apoio.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Avaliar o plano de comunicações.</li> <li>Recolher informação para as lições aprendidas.</li> <li>Fornecer relatório final à comunidade hospitalar.</li> </ul>

continua

continuação

Público-alvo	Fase de preparação	Fase de resposta	Fase de recuperação
<b>Associações de profissionais de saúde e das ciências médicas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Colaborar com as associações para educar os membros por meio de palestras, boletins informativos, sites de redes sociais e abordando fatores de risco, definição de caso e diagnóstico, tratamento e sequelas.</li> <li>• Fornecer as associações folhas de PF.</li> <li>• Trabalhar com as associações para transmitir mensagens de prevenção para a população em geral.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Intensificar a comunicação com as ciências médicas e associações de profissionais de saúde no que diz respeito aos serviços de saúde, e buscar padrões e tendências da doença.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Avaliar a atualidade das informações prestadas às associações, bem como a oportunidade da transferência das informações para os membros da associação.</li> </ul>
<b>Laboratórios – públicos e privados</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Desenvolver e fornecer informações sobre a gestão de amostras, exames, procedimentos e materiais tanto em formatos eletrônicos como impressos, por meio de videoconferências, <i>workshops</i> etc.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ativar os canais de informação reunindo informação de apoio dos ciclos de decisão a nível operacional, para incluir os serviços de saúde.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Avaliar as comunicações com o sistema de laboratório</li> <li>• Continuar a recolher informações nos laboratórios.</li> <li>• Reunir as lições aprendidas.</li> </ul>

continua

continuação

Público-alvo	Fase de preparação	Fase de resposta	Fase de recuperação
<p><b>Vetor de controle pessoal</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Vetores pessoal de controle e comunicadores trabalham juntos para desenvolver e fornecer informações sobre possíveis vetores CHIKV e manejo integrado de vetores tanto em formatos eletrônicos e impressos como por meio de videoconferências, workshops etc., para o pessoal do vetor de controle e à população em geral.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ativar o plano de comunicação com os profissionais de saúde e outros atores</li> <li>Reunir informações sobre a eficácia das atividades em curso de vetores integrado de gestão, se necessário</li> <li>Fornecer informações atualizadas aos profissionais de saúde em matéria de proteção e prevenção</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Avaliar as ações de comunicação para controle de vetores e recolher "lições aprendidas".</li> <li>Recolher informação sobre as melhores práticas de gestão de vetores.</li> </ul>
<p><b>Pessoal dos departamentos de saúde local e regional, epidemiologistas</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>O pessoal do Ministério da Saúde, os epidemiologistas e os comunicadores trabalham em conjunto para desenvolver e fornecer informações a serem utilizadas pelos parceiros da saúde pública e os meios de comunicação, para abordar os métodos de vigilância, análise de dados e desenvolvimento de mensagens para a população em geral.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ativar os canais de informação reunindo informação de apoio dos ciclos de decisão a nível operacional, para incluir os serviços de saúde</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Avaliar as comunicações com os serviços de saúde e os epidemiologistas.</li> <li>Reunir as "lições aprendidas".</li> </ul>

continua

continuação

Público-alvo	Fase de preparação	Fase de resposta	Fase de recuperação
<b>Bancos de sangue</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Fornecer informações aos gestores do banco de sangue sobre os riscos associados com o CHIKV.</li> <li>• Desenvolver e fornecer informações relativas à gestão de sangue e os riscos do produto, bem como preparação para a escassez de doadores.</li> <li>• Desenvolver diretrizes e procedimentos de triagem de doadores.</li> <li>• Desenvolver fichas de doadores e potenciais doadores para a distribuição nos bancos de sangue.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Estabelecer comunicação ativa com os bancos de sangue para vencer a escassez de suprimentos e doadores dentro de áreas restritas para informar a população em geral, bem como os meios de comunicação.</li> <li>• Coordenar com a implementação de diretrizes e procedimentos de triagem de doadores em áreas impactadas pelo surgimento do CHIKV.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Avaliar a eficácia das recomendações que os bancos de sangue fornecem aos doadores para apoiar o levantamento de restrições para doações dentro da área antes restrita.</li> </ul>
<b>Associações, empresas e organizações de viagens</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sensibilização de viajantes para regiões de risco do CHIKV, descrevendo os sintomas e a prevenção da doença, usando sites oficiais e de negócios e fichas de fatos, bem como outros meios (CCTV, quadros de mensagens e anúncios de serviço público).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Solicitar aos agentes de viagens e operadores da indústria turística a intensificação das atividades de comunicação, incluídos no plano de informação viajantes.</li> <li>• Fornecer atualizações sobre o status da doença e das ações preventivas e de proteção.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Avaliar a prontidão de resposta da indústria de viagens.</li> <li>• Reunir as "lições aprendidas".</li> </ul>

continua



continuação

	Fase de preparação	Fase de resposta	Fase de recuperação
<b>Público-alvo</b>			
<b>Autoridades (portos) e indústria de transporte marítimo, terrestre e aéreo</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Desenvolver Alertas Saúde aos viajantes, avisos pré-evento para utilização pelas autoridades portuárias, aduaneiras e pelas agências de segurança no transporte.</li> <li>Proporcionar à indústria e às autoridades informações sobre os requisitos do RSI.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Solicitar aos representantes dos portos e das indústrias terrestres, marítimas e aéreas a intensificação das suas atividades de comunicação, conforme apropriado para a resposta.</li> <li>Fornecer atualizações sobre o status da doença e das ações preventivas e de proteção.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Avaliar a prontidão de resposta da indústria de viagens.</li> <li>Reunir as "lições aprendidas".</li> </ul>
<b>Autoridades civis, funcionários do governo</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Envolver-se em advogar para obter o apoio necessário para preparação e resposta eficaz.</li> <li>Manter os canais abertos com os níveis local, regional e nacional do governo.</li> <li>Designar e treinar porta-vozes, proporcionando informações específicas para a função e adequadas para o nível de responsabilidade.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Implementar o plano de comunicações com as autoridades do governo e atualização das informações aos porta-vozes.</li> <li>Incluir representantes adequadas JIC.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Avaliar a eficácia das comunicações das atividades de preparação e resposta realizadas com autoridades e funcionários.</li> <li>Reunir as "lições aprendidas".</li> </ul>

continua

continuação

**Público-alvo****População em geral**

- Realizar avaliação inicial dos conhecimentos, atitudes e comportamentos, com especial atenção às questões potencialmente sensíveis, tais como o uso de pesticidas.
- Desenvolver mensagens de resposta às necessidades identificadas.
- Usar múltiplos canais para informar o público, em geral, do potencial de risco do CHIKV e quais os meios de prevenção e proteção.
- Planejar o uso de linhas especiais e apoio a linhas especiais locais, quando apropriado.
- Desenvolver materiais de educação em saúde, tais como as páginas de internet, cartazes, panfletos, folhetos, *outdoors*, mensagens de texto SMS e meios de comunicação social, e criação de redes sociais *on-line*.
- Considerar o uso da comunicação interpessoal por meio de reuniões de grupos, de escolas e otimização da utilização dos meios de comunicação tradicionais/populares.

**Fase de resposta**

- Divulgar e/ou intensificar a informação dentro dos diversos canais de comunicação, incluindo meios de comunicação, eletrônico, canais não convencionais e interpessoais, (públicos e privados).
- Campanhas especiais poderão ser levadas a cabo por via dos meios de comunicação, incluindo jornais/revistas, rádio e televisão, bem como a publicidade exterior, como *outdoors*.
- Monitorar canais de comunicação. Avaliar a entrega das mensagens.
- Aumentar os esforços para angariar apoio do uso de inseticida e outras medidas de controle, conforme necessário.
- Desenvolver mensagens específicas para o local e atualizar, conforme apropriado.
- Abrir linhas especiais (*hotlines*) e apoiar linhas locais, quando apropriado.

**Fase de recuperação**

- Avaliar a eficácia do plano de comunicação.
- Continuar a oferecer atualizações.
- Reunir as "lições aprendidas" e incluir no relatório final.

continua

continuação

Público-alvo	Fase de preparação	Fase de resposta	Fase de recuperação
<p><b>Mídia</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Desenvolver e manter relações com a mídia que vai apoiar as atividades de comunicação.</li> <li>Proporcionar formação, participando de entrevistas, e desenvolver Anúncios de Serviço Público para aconselhar e preparar parceiros de mídia para a potencial atividade do CHIKV.</li> <li>Preparar porta-vozes. Porta-vozes devem ser tecnicamente e politicamente credíveis, e dispostos a interagir com a imprensa em curto prazo.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Estabelecer um canal permanente de informações com os meios de comunicação regulares, incluindo palestras e entrevistas.</li> <li>Divulgar os relatórios periódicos da JIC sobre o estado do surto para fornecer uma mensagem consistente.</li> <li>Monitorar a cobertura da imprensa. Realizar análise dos relatórios de pertinência e relevância, e ajuste de mensagens e estratégias em conformidade.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Continuar a fornecer atualizações para os meios de comunicação, incluindo mensagens adequadas, pois o risco de transmissão é reduzido.</li> <li>Avaliar a implementação do plano de comunicação para introduzir os ajustes necessários para o plano.</li> <li>Reunir as "lições aprendidas".</li> </ul>

continua

continuação

Público-alvo	Fase de preparação	Fase de recuperação
<p><b>Comunidades baseadas na fé</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Desenvolver e fornecer informações para uso em redes de meios de comunicação religiosas, durante os serviços, e entre os grupos de apoio.</li> </ul>	
<p><b>Organizações Não Governamentais (ONGs), grupos humanitários, as organizações de saúde baseadas na comunidade e outras organizações da sociedade civil</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Colaborar com essas organizações de apoio para organizar, sensibilizar e educar as suas comunidades.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Colaborar com a liderança dessas organizações para proteção adicional e esforços de prevenção e gestão de vetores.</li> <li>Avaliar o envolvimento dessas organizações no plano de comunicações para a preparação e resposta ao CHIKV.</li> </ul>
<p><b>Sistema educativo</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Colaborar com o sistema de ensino para desenvolver aulas, materiais didáticos e conteúdos que vão sensibilizar para o CHIKV, bem como de saneamento e outras medidas preventivas.</li> <li>Procurar ter aulas sobre os riscos do CHIKV e resposta no currículo escolar para promover e ampliar a consciência, pois os alunos se tornam multiplicadores das comunicações.</li> </ul>	

continua



Biblioteca Virtual em Saúde  
do Ministério da Saúde  
[www.saude.gov.br/bvs](http://www.saude.gov.br/bvs)



Ministério da  
Saúde

continuação

Público-alvo	Fase de preparação	Fase de resposta	Fase de recuperação
<p><b>Setor privado: negócios</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Colaborar com o setor privado na elaboração de seus planos para organizar, sensibilizar e educar as suas organizações, empregados e clientes.</li> <li>• Buscar a participação do setor privado no esforço do governo para comunicação de atividades de prevenção e preparação.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Colaborar com o setor privado para intensificar as suas atividades de comunicação e dar continuidade as iniciativas de comunicação do governo dirigidas aos esforços de proteção e prevenção e gestão de vetores.</li> <li>• Fornecer atualizações para o setor privado com respeito à resposta.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Avaliar o envolvimento do setor privado no plano de comunicação para a preparação e a resposta ao CHIKV.</li> <li>• Reunir as "lições aprendidas".</li> </ul>