

RESEARCH ARTICLE

Open Access

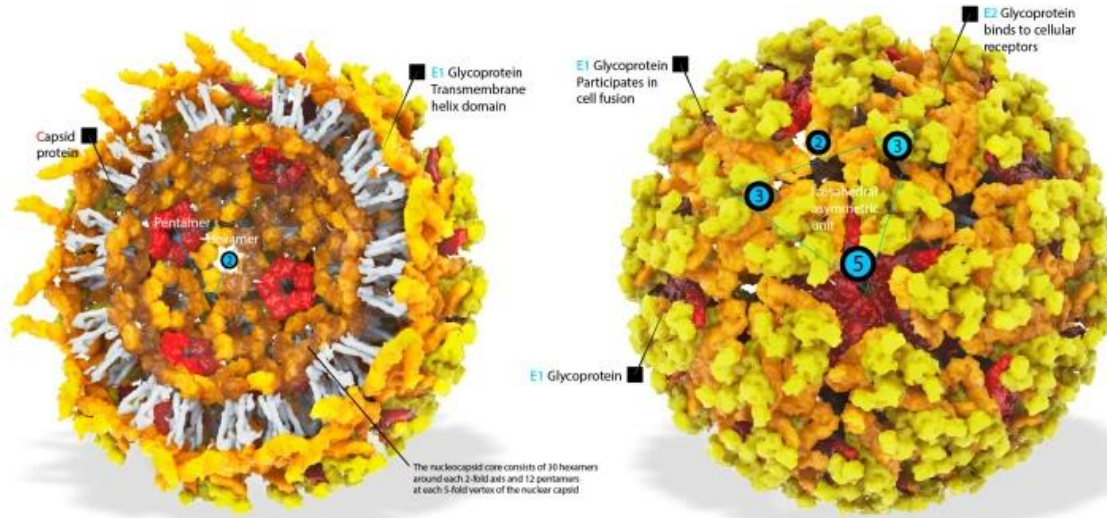
Emergence and potential for spread of Chikungunya virus in Brazil

Marcio Roberto Teixeira Nunes^{1*†}, Nuno Rodrigues Faria^{2†}, Janaina Mota de Vasconcelos^{1†}, Nick Golding³, Moritz UG Kraemer³, Layanna Freitas de Oliveira¹, Raimunda do Socorro da Silva Azevedo⁴, Daisy Elaine Andrade da Silva¹, Eliana Vieira Pinto da Silva⁴, Sandro Patroca da Silva¹, Valéria Lima Carvalho⁴, Giovanini Evelim Coelho⁵, Ana Cecília Ribeiro Cruz⁴, Sueli Guerreiro Rodrigues⁴, Joao Lídio da Silva Gonçalves Vianez Jr¹, Bruno Tardelli Diniz Nunes⁴, Jedson Ferreira Cardoso¹, Robert B Tesh⁶, Simon I Hay^{3,7}, Oliver G Pybus^{2†} and Pedro Fernando da Costa Vasconcelos^{4,8†}

Introdução

Chikungunya Virus

symmetry transmitted to people by mosquitoes.



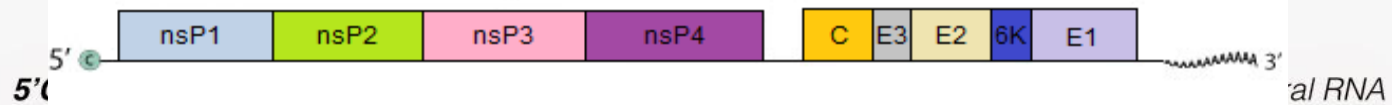
Ø = 60 nm
Genome = 11,800 nucleotides
Single stranded RNA (+) encodes up to 9 genes that code for 2 polypeptides which are split into 9 proteins.
The non-structural proteins are required for virus replication, protein modifications, and immune antagonism.
ORF6 invasion of susceptible cells is mediated by two viral glycoproteins. E1 glycoprotein participates in cell fusion whereas the E2 glycoprotein binds to cellular receptors.



E1/E2 (trimer)/
6K

Capsid

Genomic
+ RNA



early

late

nsP123 nsP4 (RdRP)

nsP2 protease
Capsid

Furin
Signal Peptidase

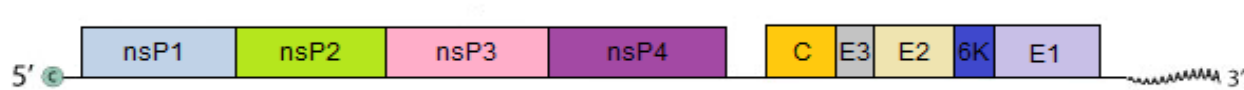
late

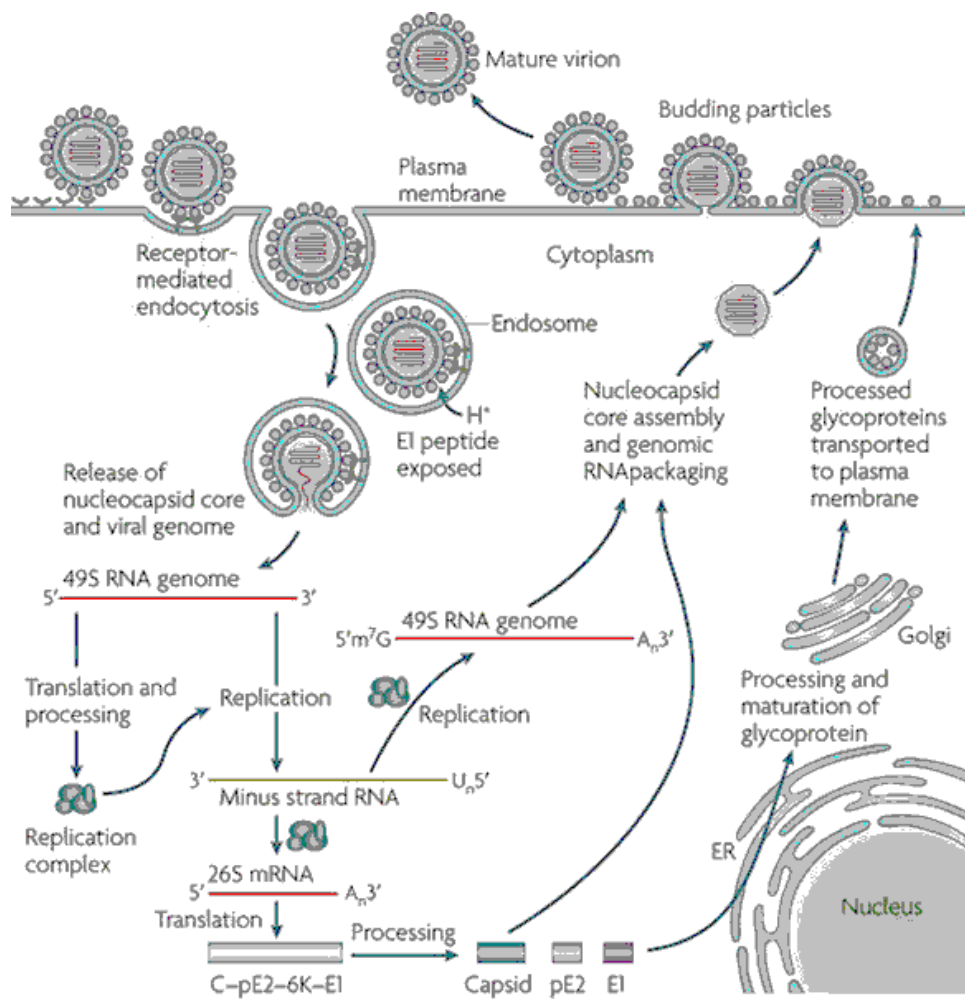
1 2 3

5'Cap—CP E3 E2 6K E1— 3'-PolyAAA sgRNA

CP E3 E2 6K E1

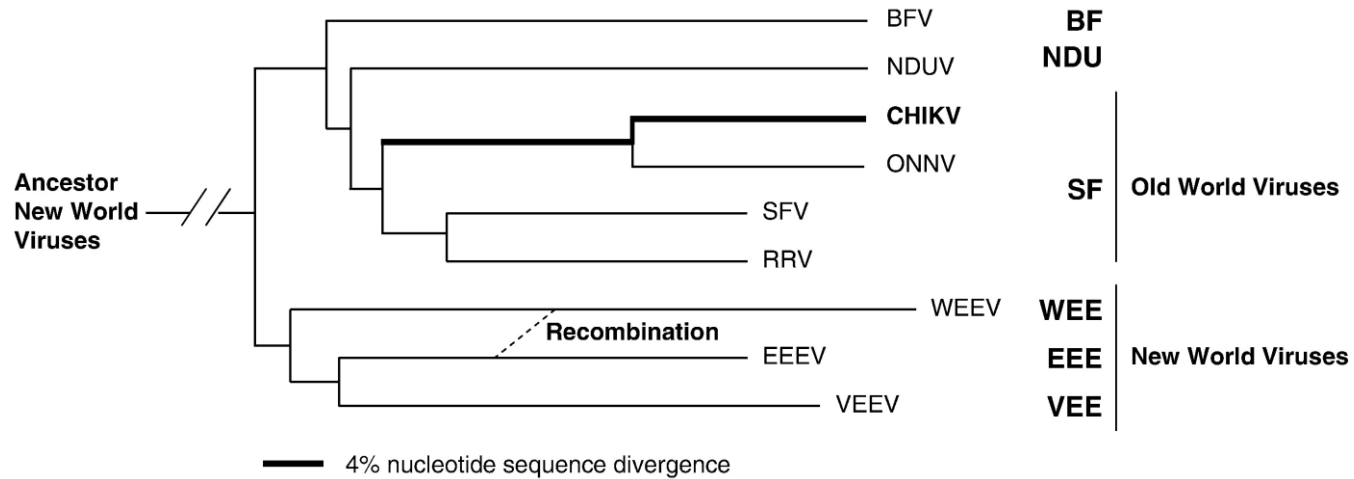
+ssRNA, 12 Kb, duas RLAs

[illegible]

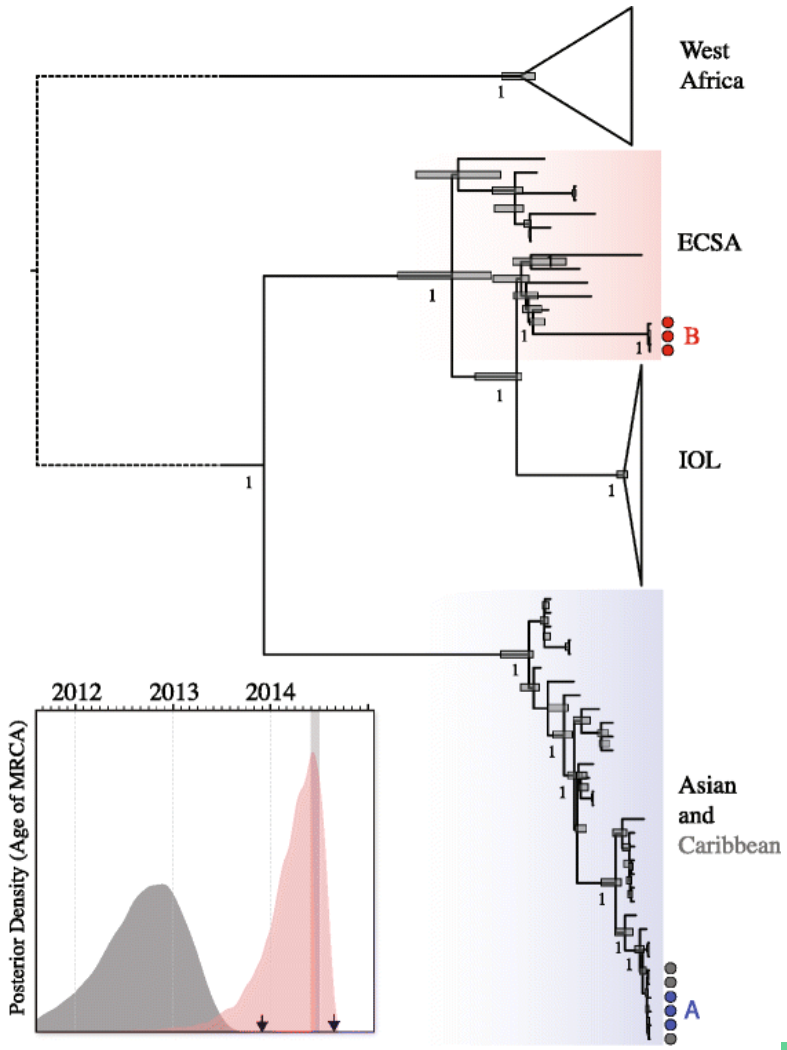
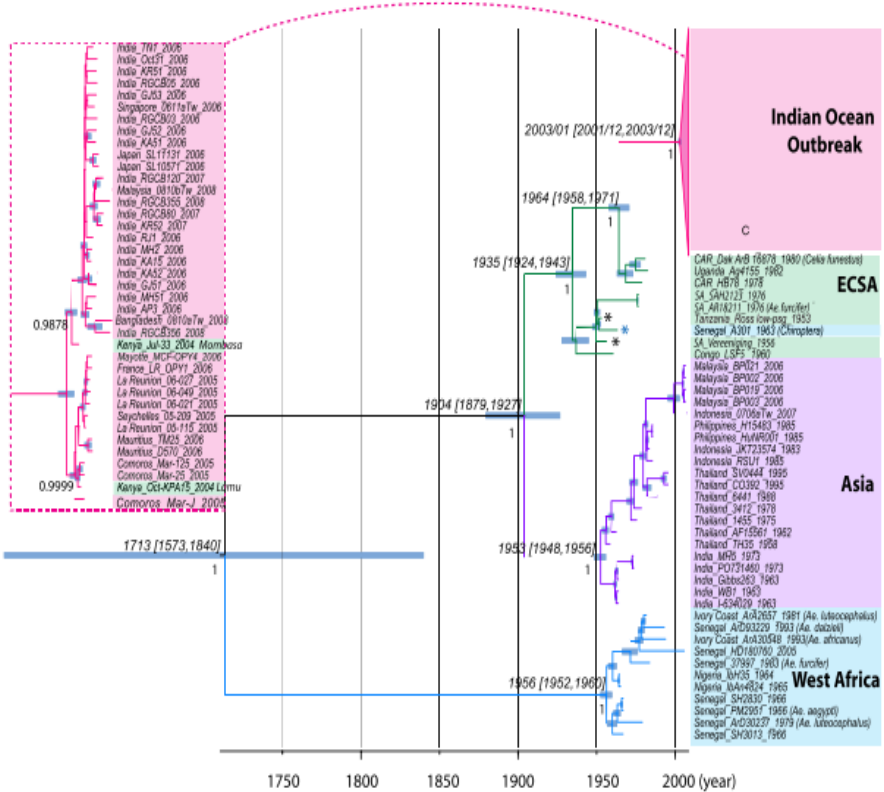


Classificação & Sistemática

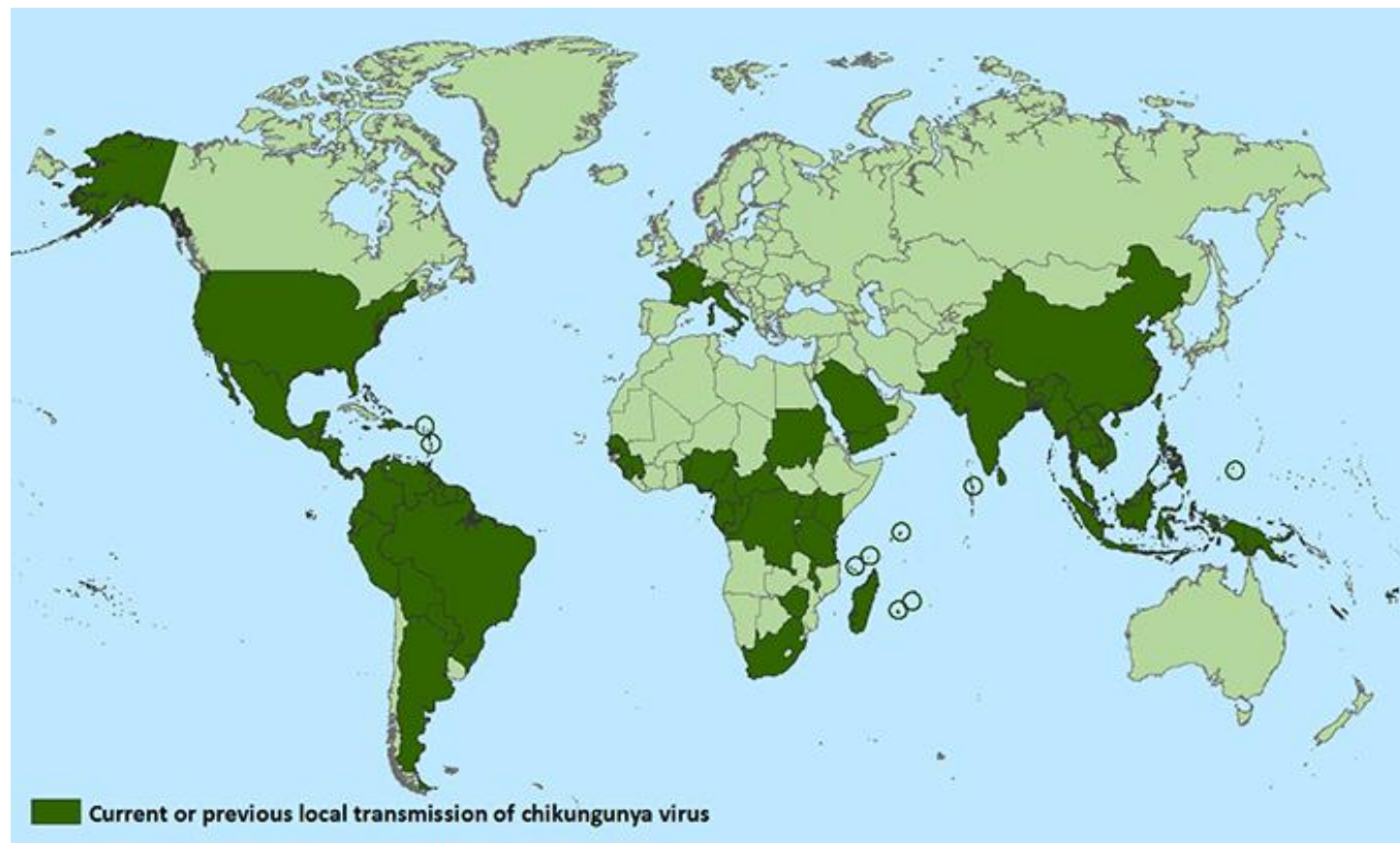
Família: <i>Togaviridae</i>		(2 Generos)		
	Gênero: <i>Alphavirus</i>	(31 Espécies)		
	Espécie: <i>Chikungunya virus</i>			



CHIKV Phylogeny



CHIKV



**Countries/territories with autochthonous transmission
or imported cases of Chikungunya
in the Americas, EW 49, 2013 - EW 42, 2016**

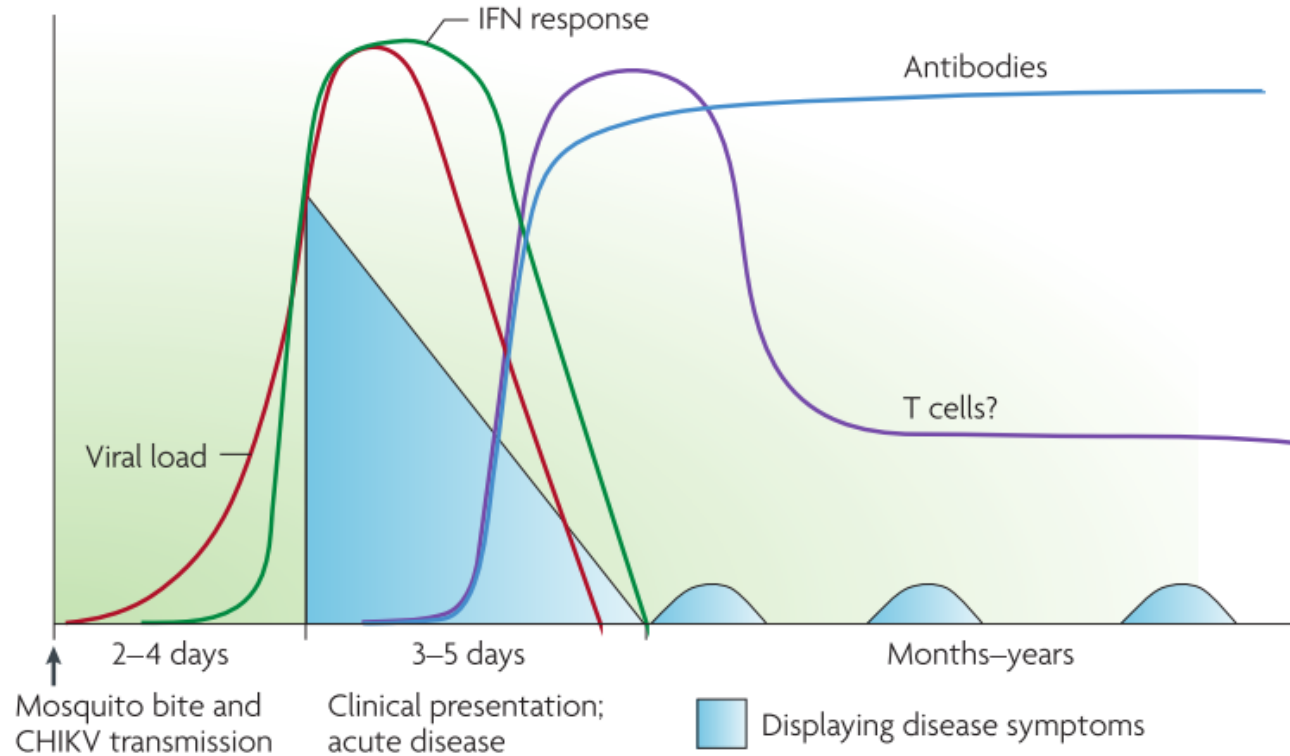


Data source:
PAHO/WHO. Number of reported cases of Chikungunya Fever in the Americas

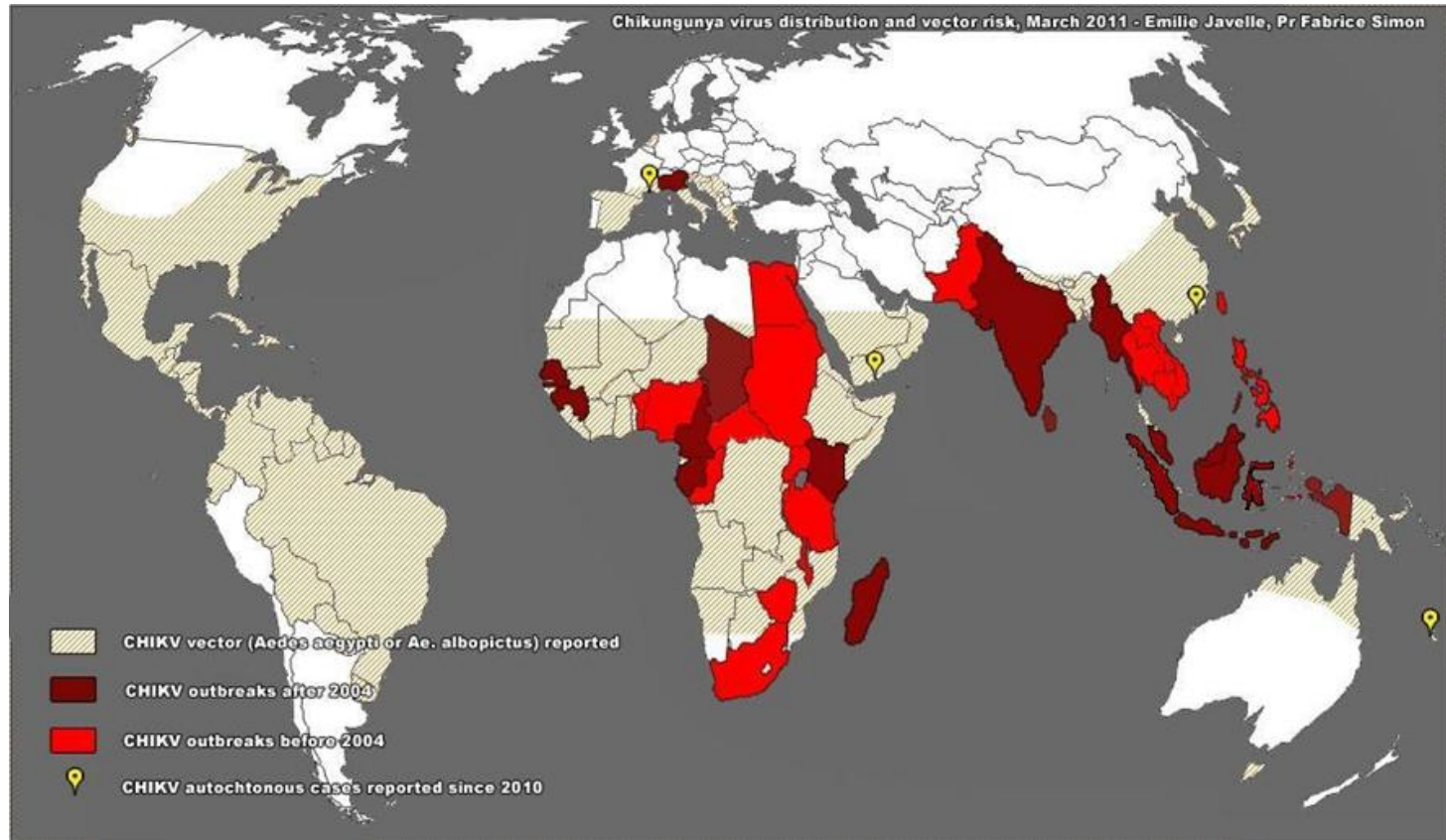
<http://www.paho.org/chikungunya>

Map production:
PAHO-WHO Health Emergencies Department (PHE)

Introdução

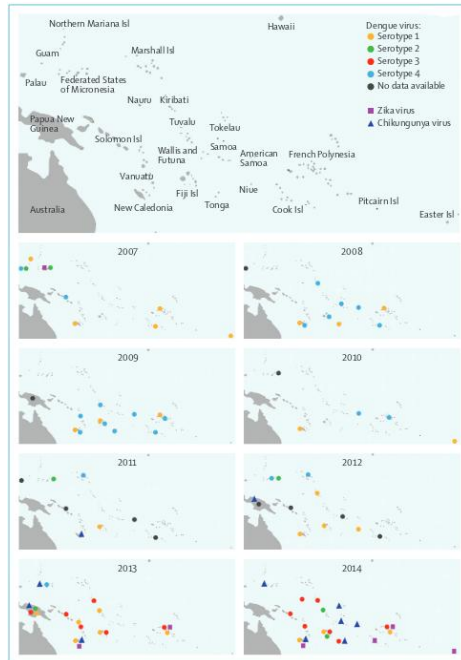


Introdução



Introdução

Emerging arboviruses in the Pacific

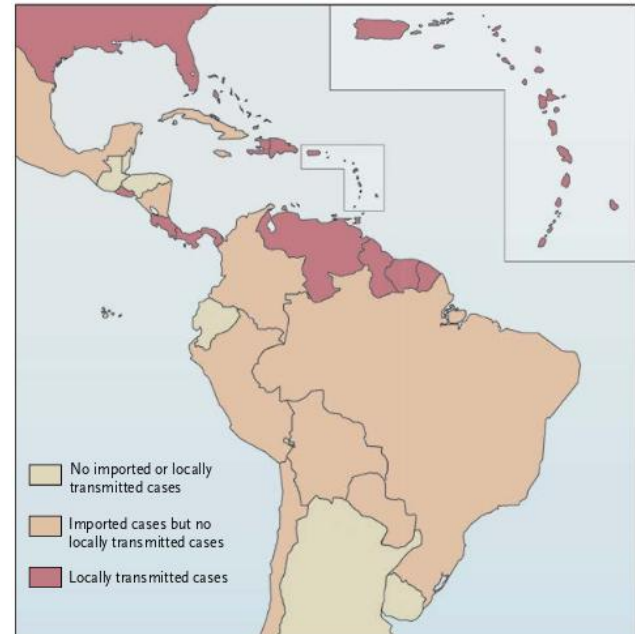


Chikungunya in the Americas

Isabelle Leparc-Goffart,
Antoine Nougaiere, Sylvie Cassadou,
Christine Prat, *Xavier de Lamballerie
xavier.de-lamballerie@univ-amu.fr

Chikungunya Virus in the Americas — What a Vectorborne Pathogen Can Do

J. Erin Staples, M.D., Ph.D., and Marc Fischer, M.D., M.P.H.



Agosto de 2014

Introdução

- ❖ Primeiro caso autóctone de CHIKV no Brasil - Oiapoque - AP (13-09-2014)
 - 7 dias após foram identificados casos autóctones em Feira de Santana - BA
- ❖ 18 - Outubro - 2014
 - 682 casos autóctones de CHIKV notificados pelo MS/Brasil
- ❖ Origem e potencial de espalhamento viral desconhecidos
 - Análise sorológica e virológica de 68 amostras coletadas de jun - set / 2014
 - Sequenciamento viral das amostras positivas
- ❖ Objetivo
 - Descrevemos as características epidemiológicas e genéticas dos CHIKV isolados no Brasil e fornecer uma previsão do risco de importação e estabelecimento do CHIKV em cada município brasileiro para o próximo ano, com dados sobre a mobilidade humana, distribuição de vetores e incidência retrospectiva de DENV.

Métodos

Métodos

❖ Pacientes e diagnóstico

➤ 68 amostras de pacientes sintomáticos

- Incluído: Informações demográficas (sexo, idade, localização, data de início dos sintomas, data de coleta das amostras, histórico de viagem e sorologia para CHIKV e DENV)
- Encaminhadas para o IEC-PA

➤ Confirmação laboratorial dos sintomas

- IgM ELISA
- qRT-PCR
- Cultura em células C6/36

➤ Consentimento oral e não assinado

Métodos

❖ Isolamento viral e Extração do ssRNA

➤ Isolamento

■ 6 amostras

- Inoculadas em células C6/36 e coletadas após efeito citopático evidente (6-10 dias)
- As suspensões de culturas foram centrifugadas e tratadas com polietilenoglicol NaCl, para a precipitação do vírus
- Após centrifugação, o *pellet* foi resuspenso em H₂O livre de nuclease

➤ Extração do ssRNA: Qiaamp Viral RNA Minikit (Qiagen)

❖ Sequenciamento do genoma viral

Métodos

❖ Análise Filogenética

- 155 genomas completos (> 10000 pb) disponíveis no GenBank + 6 genomas gerados
 - Alinhamento = MAFFT
- MV = PhyML (554 Sequencias E1)
- IB = BEAST ($155 - 85 = 70 + 6 \text{ BR} = 76$ sequencias)

Métodos

❖ Predição do risco de importação e estabelecimento viral

- *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* apresentam baixa capacidade de dispersão
- Dispersão do CHIKV impulsionada principalmente por movimentação humana
- O risco de importação em cada município foi predito usando um modelo de radiação paramétrico de mobilidade humana
- Dados de movimentação humana não estão disponíveis para o Brasil ou países vizinhos
 - Os parâmetros foram estimados usando dados prévios publicados anteriormente obtidos na França, obtidos a partir de 5,695,974 registros de telefone celulares anônimos que compreendem movimentos direcionais entre 329 distritos
- Tamanho populacional = GADM database
- ML = R software v3.1.1

$$M_{ij} = p \frac{\left(\frac{1-\lambda(n_i + s_{ij}+1)}{n_i + s_{ij}+1} - \frac{1-\lambda(n_i + n_j + s_{ij}+1)}{n_i + n_j + s_{ij}+1} \right)}{\frac{1-\lambda(n_i+1)}{n_i+1}}$$

- 5494 municípios

Resultados e Discussão

Resultados e Discussão

❖ Caracterização dos casos de CHIKV no Brasil

➤ 08 de Abril - 15 de Setembro

Table 1 Demographic characteristics of CHIKV confirmed cases in Brazil 2014

	Number of cases (%)
Age (years)	
0–19	8 (11.8%)
20–39	39 (57.4%)
40–59	15 (22.1%)
60–70	5 (7.4%)
Unknown	1 (1.5%)
Sex	
Female	30 (60%)
Male	20 (40%)
Unknown	18 (27%)

State of notification

Amapa
Bahia
Ceara
Brasilia
Goiânia
Maranhao
Para
Paraná
Rio de Janeiro
Rio Grande do Sul
Roraima
Sao Paulo

Country of origin

Brazil
Outside Brazil

16 (23.5%)

14 (20.6%)

5 (7.4%)

2 (2.9%)

2 (2.9%)

1 (1.5%)

1 (1.5%)

2 (2.9%)

3 (4.4%)

2 (2.9%)

5 (7.4%)

15 (22.1%)

65 (95.6%)

3 (4.4%)

Transmission cases

Imported

Autochthonous

Place of infection (Autochthonous)

Amapa state

Bahia state

Place of infection (Imported)

Haiti^a

French Guiana

British Guiana

Dominican Republic^b

Guadalupe^c

Venezuela

Unknown^d

41 (60.3%)

27 (39.7%)

13 (48.2%)

14 (51.8%)

21 (51.2%)

1 (2.4%)

2 (4.9%)

10 (24.4%)

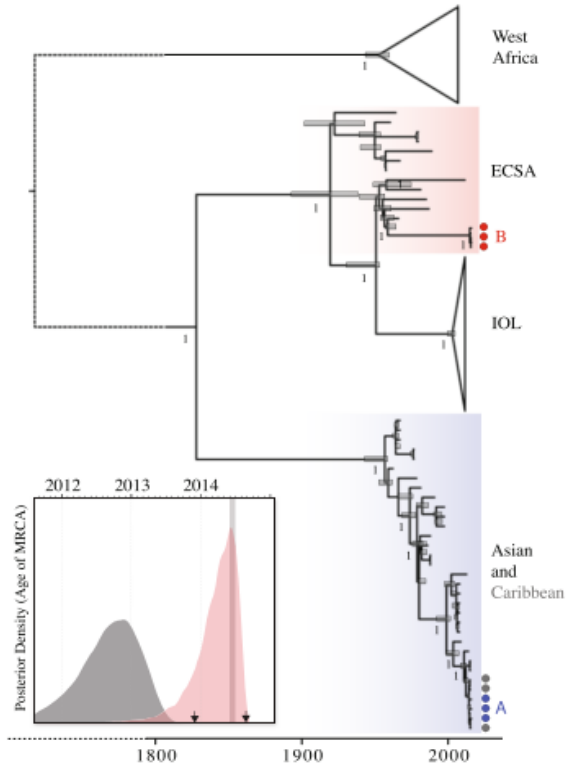
2 (4.9%)

3 (7.3%)

2 (4.9%)

Resultados e Discussão

❖ Genótipos Asiático e ECSA no Brasil



■ Genótipo ECSA

- Todos os casos são autóctones
 - ◆ Feira de Santana - BA
 - ◆ Próximos em escala espacial / temporal = Transmissão local
 - ◆ TMRCA = 6 de Março de 2014

■ Genótipo Asiático

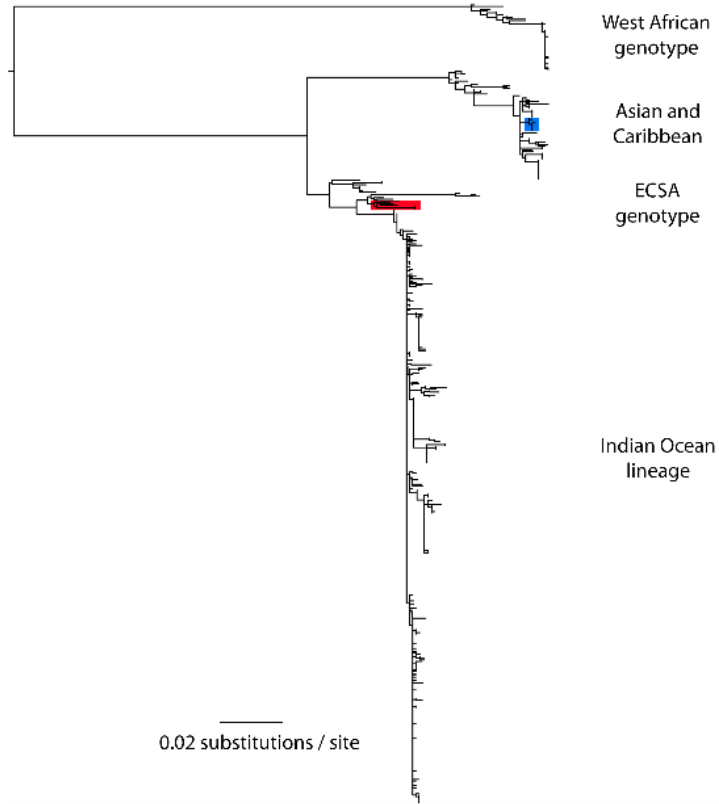
- 2 casos importados
 - ◆ Recife - República dominicana
 - ◆ Belém - Guadalupe
- 1 caso autóctone
 - ◆ Oiapoque - AP

Resultados e Discussão

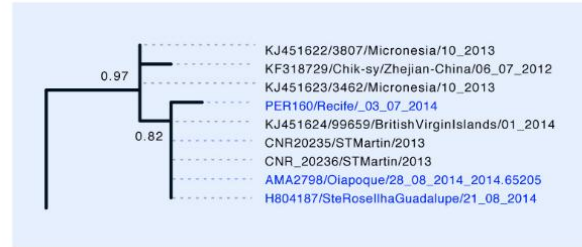


- ❖ Reconstrução filogenética usando MV de 76 genomas completos de CHIKV, incluindo os isolados brasileiros

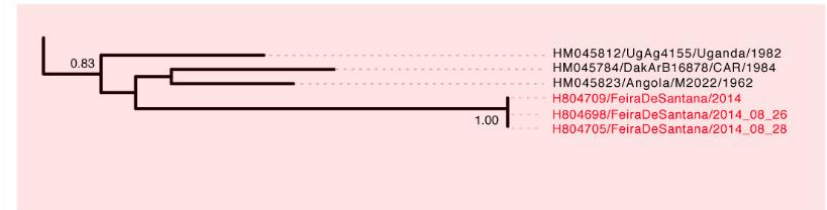
Resultados e Discussão



Asian-Caribbean genotype



ECSA-Brazil genotype



Resultados e Discussão

ECSEA

Bull. Org. mond. Santé } 1973, 49, 37-40
Bull. Wld Hlth Org.

Arbovirus studies in Luanda, Angola

2. Virological and serological studies during an outbreak of dengue-like disease caused by the Chikungunya virus

ARMINDO R. FILIPE¹ & MANUEL R. PINTO¹

SCIENTIFIC REPORTS

OPEN

Independent Emergence of the Cosmopolitan Asian Chikungunya Virus, Philippines 2012

Received: 13 April 2015
Accepted: 23 June 2015
Published: 23 July 2015

Kim-Kee Tan^{1,2}, Ava Kristy D. Syl¹, Amado O. Tandoc¹, Jing-Jing Khoo^{1,2},
Syuhaida Sulaiman¹, Li-Yen Chang^{1,2} & Szazly AbuBakar^{1,2}

JIDC | THE JOURNAL OF INFECTION
IN DEVELOPING COUNTRIES

Original Article

**Outbreak of Chikungunya virus in the north Caribbean area of Colombia:
clinical presentation and phylogenetic analysis**

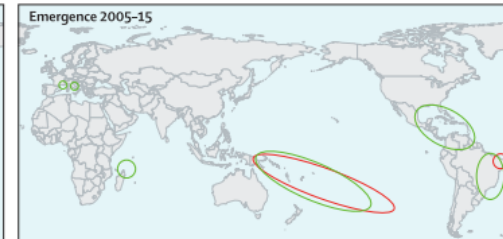
Salim Mattar¹, Jorge Miranda¹, Hernando Pinzon², Vanesa Tique¹, Amada Bolaños¹, Jose Aporte¹,
German Arrieta^{1,2}, Marco Gonzalez², Katherine Barrios², Hector Contreras¹, Jaime Alvarez¹, Ader Aleman¹

¹Universidad de Córdoba, Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico, Montería, Colombia

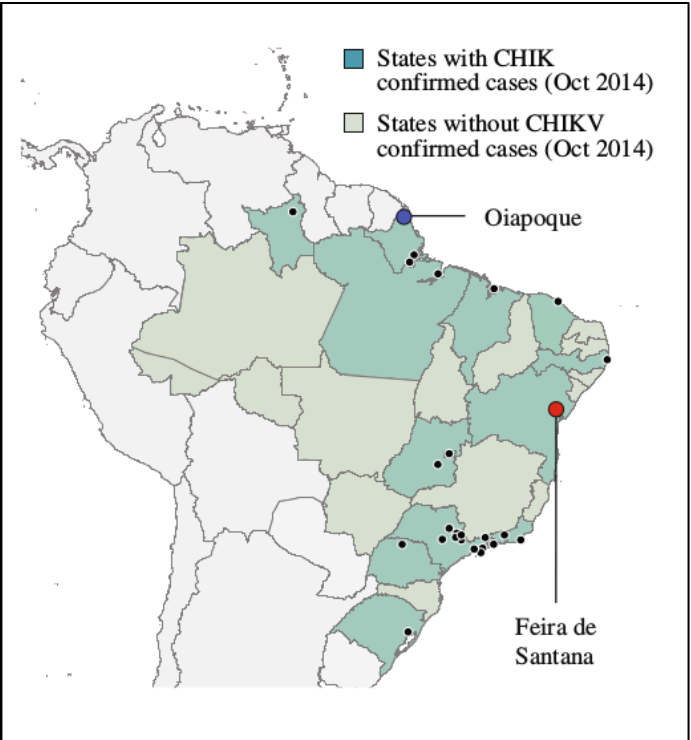
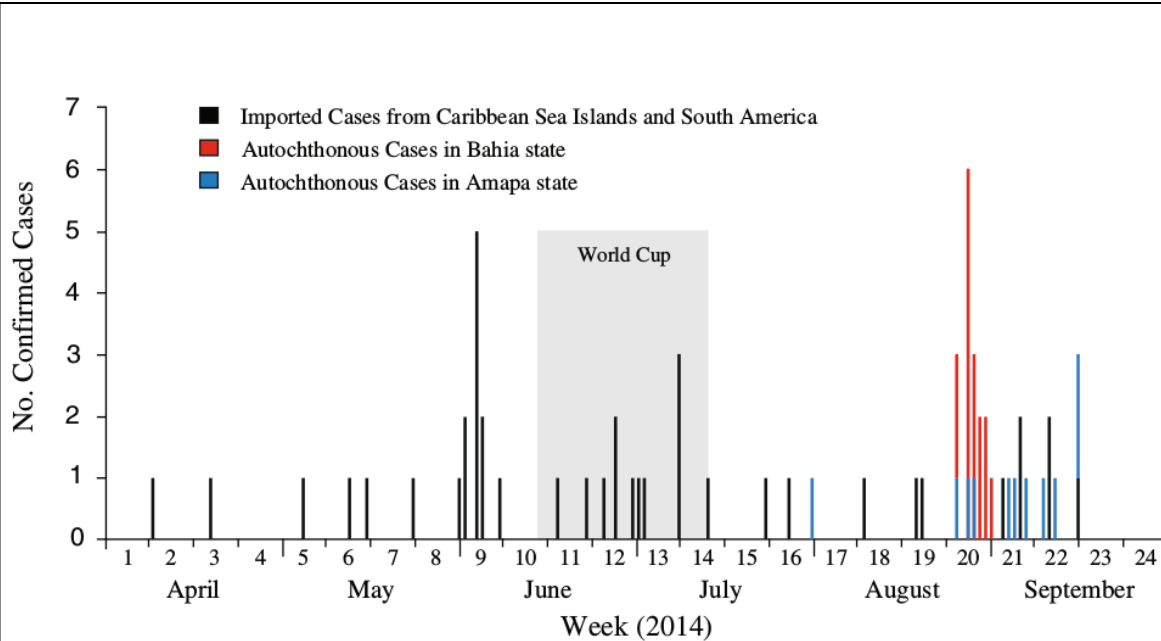
²Clinica del Niño, Cartagena, Universidad de Cartagena, Colombia

³Corporación Universitaria del Caribe (Cecar), Grupo de Salud Pública, Sincelejo, Colombia

Zika virus: following the path of dengue and chikungunya?

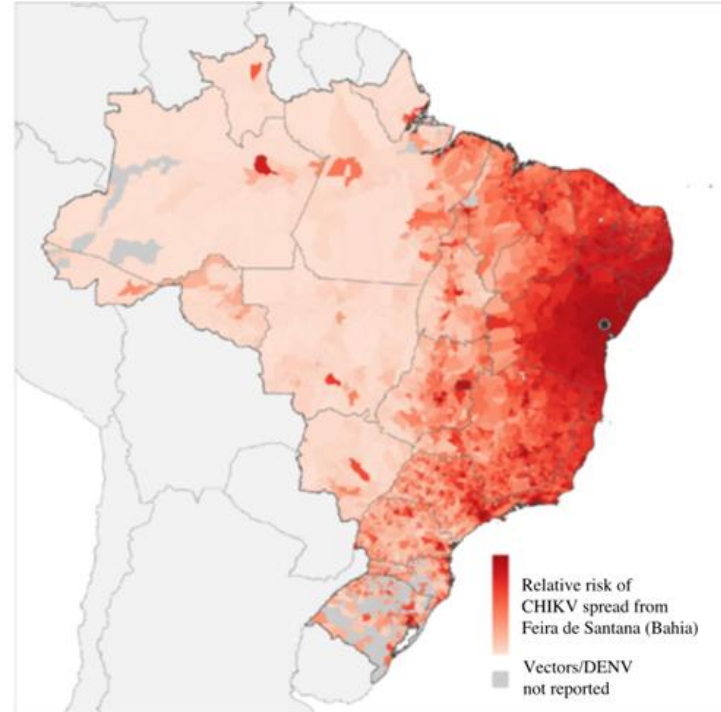
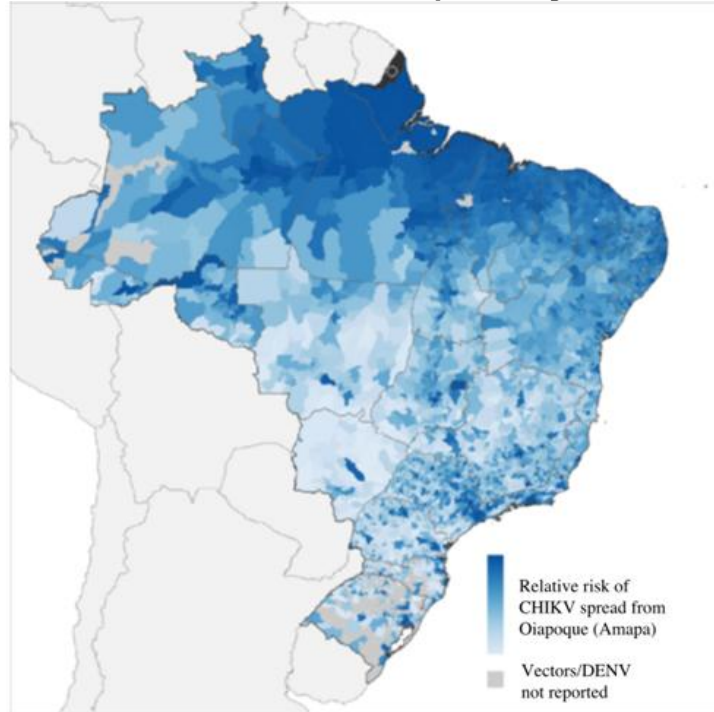


Resultados e Discussão



Resultados e Discussão

❖ Risco estimado de importação e estabelecimento viral

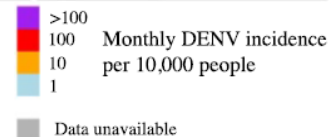
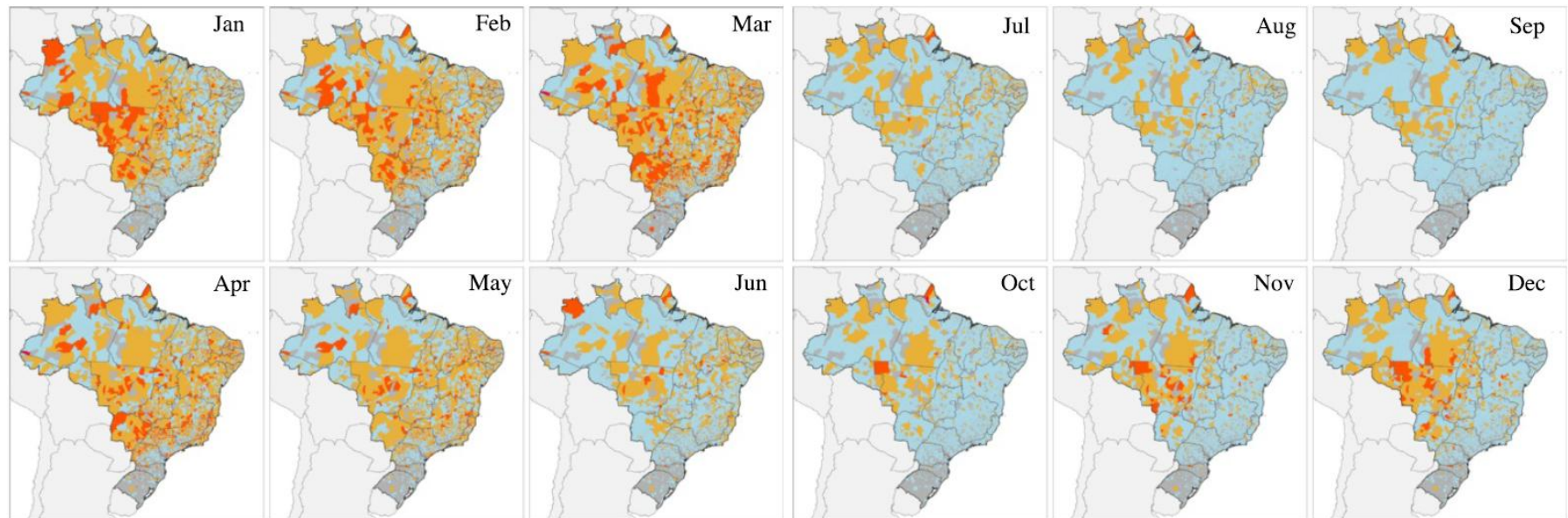


Resultados e Discussão

❖ O que esperar?

- 99% da população brasileira possuem indicadores de risco para a infecção causada pelo CHIKV
- Não existe imunidade prévia na população
 - Incidência pode aumentar
 - Uma pequena percentagem da população possui imunidade prévia via MAYV - ZR
- “A imunidade após uma infecção primária pode fornecer uma imunidade parcial em uma infecção causada por um segundo genótipo”
- CHIKV será endêmico em vários municípios, com picos de transmissão entre janeiro e abril
 - Abundância de vetores
 - Variáveis ambientais como temperatura e umidade
 - Fatores socioeconômicos

Resultados e Discussão



Resultados e Discussão

❖ O que esperar?

➤ An  ACCESS Freely available online

 PLOS | NEGLECTED TROPICAL DISEASES

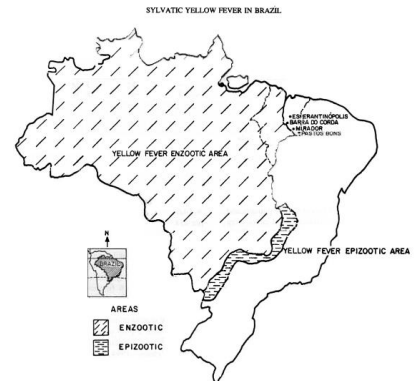
Air Travel Is Associated with Intracontinental Spread of Dengue Virus Serotypes 1–3 in Brazil

Marcio R. T. Nunes^{1*}, Gustavo Palacios^{2,3*}, Nuno Rodrigues Faria^{4*}, Edivaldo Costa Sousa Jr¹, Jamilla A. Pantoja¹, Sueli G. Rodrigues⁵, Valéria L. Carvalho⁵, Daniele B. A. Medeiros⁵, Nazir Savji^{3**}, Guy Baele⁴, Marc A. Suchard^{6,7,8}, Philippe Lemey⁴, Pedro F. C. Vasconcelos^{5,9}, W. Ian Lipkin³

➤ *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 57(2), 1997, pp. 132–137
Copyright © 1997 by The American Society of Tropical Medicine and Hygiene

AN EPIDEMIC OF SYLVATIC YELLOW FEVER IN THE SOUTHEAST REGION OF MARANHÃO STATE, BRAZIL, 1993–1994: EPIDEMIOLOGIC AND ENTOMOLOGIC FINDINGS

PEDRO F. C. VASCONCELOS, SUELI G. RODRIGUES, NICOLAS DEGALLIER, MARIO A. P. MORAES,
JORGE F. S. TRAVASSOS DA ROSA, ELIZABETH S. TRAVASSOS DA ROSA, BERNARD MONDET,
VERA L. R. S. BARROS, AND AMELIA P. A. TRAVASSOS DA ROSA



Universidade de São Paulo
Instituto de Ciências Biomédicas
Laboratório de Evolução Molecular e Bioinformática

Marielton dos Passos Cunha

Diversidade genética e filodinâmica dos arbovírus emergentes e reemergentes (DENV, ZIKV e CHIKV) nas regiões Nordeste e Sudeste do Brasil, 2014-2016

São Paulo, 12 de Agosto de 2016

Objetivo

Compreender as características genéticas, a dinâmica evolutiva, as origens e distribuições de diferentes isolados virais durante a epidemia de DENV, CHIKV e ZIKV nas regiões Nordeste e Sudeste do Brasil, entre 2014-2016.

Amostras de Sergipe 2014-2015

	TOTAL	PROCESSADAS	POSITIVAS	NEGATIVAS
CHIKV	~ 200	71	0	71
ZIKV	~ 200	71	2	69
DENV	~ 200	71	0	71

Amostras de Sergipe 2015-2016 “Represadas”

	TOTAL	PROCESSADAS	POSITIVAS	NEGATIVAS
CHIKV	290	290	167	123
ZIKV	290	290	19	271
DENV	290	-	-	-

Amostras de Sergipe 2016

	TOTAL	PROCESSADAS	POSITIVAS	NEGATIVAS
CHIKV	142	142	91	51
ZIKV	142	142	0	142
DENV	142	142	0	142

TOTAL CHIKV +

❖ 258 amostras

- Sequenciamento ($CT < 30$) = 158 amostras
- 2 Mosquitos
- 160 amostras

Obrigado!!!