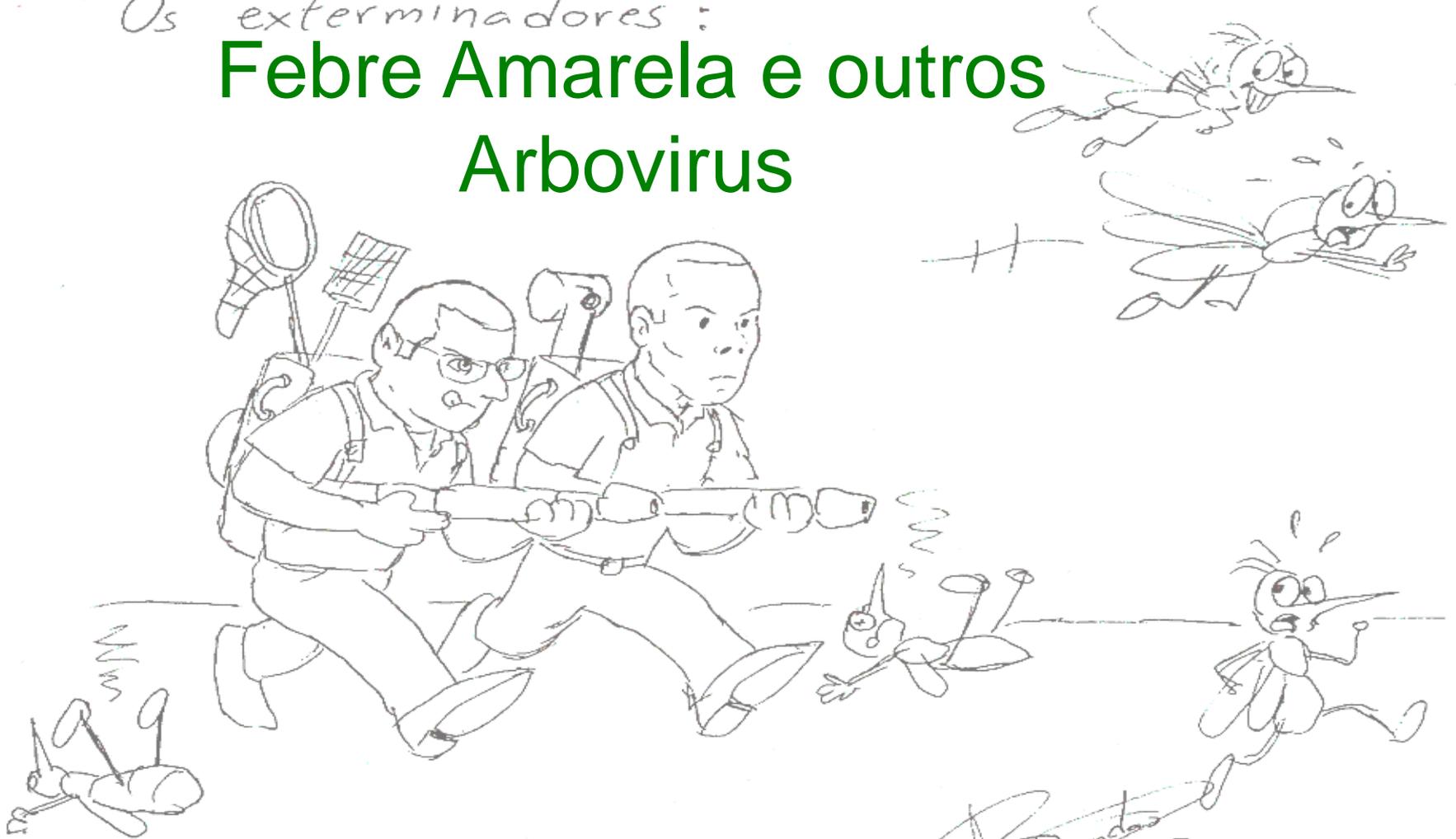


Os exterminadores:

Febre Amarela e outros Arbovirus



Prof. Dr. Edison Luiz Durigon
Professor Titular
Departamento de Microbiologia
ICB / USP

More than two thirds of emerging human diseases have animal origins. Modern societal and environmental change has increased the risk for the introduction and spread of diseases such as West Nile Virus. Learn how USGS science can provide critical information needed to detect, monitor, and manage these risks to human health.

A word cloud of emerging diseases on a light blue background. The words are in various sizes and orientations. The largest words are **West Nile Virus**, **Anthrax**, and **Lyme Disease**. Other visible words include **Influenza**, **Plague**, **Hantavirus**, **Salmonella**, **Tuberculosis**, **Rocky Mountain spotted fever**, **Eastern equine encephalitis**, **Monkeypox**, **Rabies**, and **SARS**. In the background, there are faint silhouettes of people and a family. At the bottom, there is an oval image of a lemur sitting on a tree branch. Below the oval, the text **What's Next?** is written in a large, bold, black font.



ARBOVÍRUS

Introdução

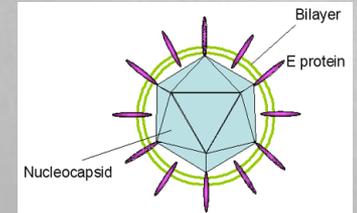
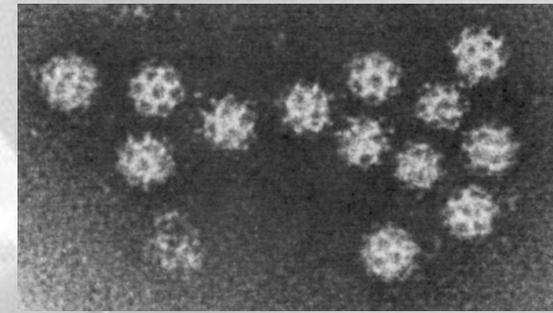
Arbovírus:

- Existem 450 arbovírus, 100 são patógenos humanos.
- Transmissão: artrópodes sugadores de sangue, e de forma transovariana em artrópodes.
- Principais famílias de Arbovírus de transmissão por culicídeos: Flaviviridae, Togaviridae, Bunyaviridae, Rhabdoviridae, Reoviridae, e Filoviridae.



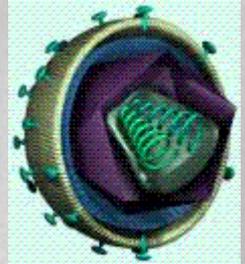
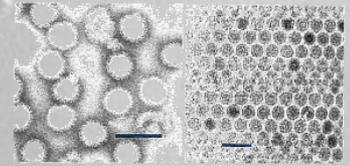
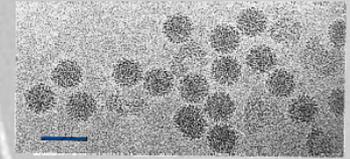
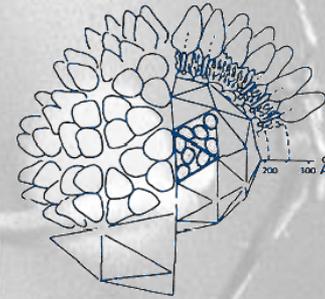
Flaviviridae

- Família: *Flaviviridae*
- Gênero: *Flavivirus*
- RNA fita simples de polaridade positiva, morfologia isométrica, capsídeo icosaédrico.
- Tamanho do genoma: 10 Kbp a 12 Kb.
- Envelopado.
- Principais vírus: Dengue, Encefalite de São Luis (SLE), Febre amarela, Ilhéus, Rocio, Virus do Oeste do Nilo e Zika virus.



Togaviridae

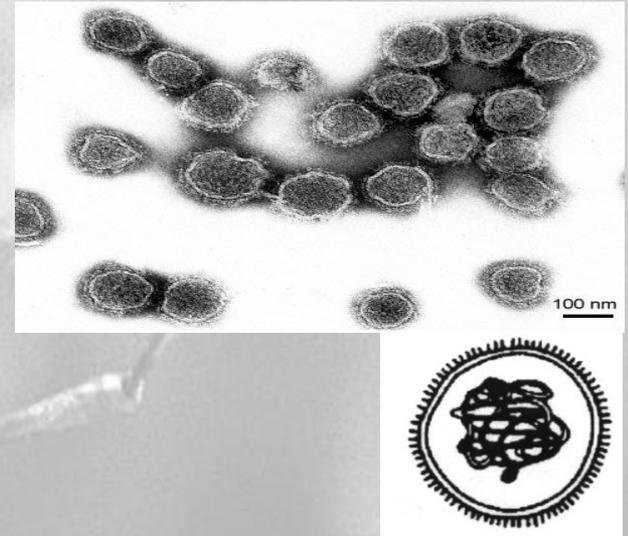
- Família: *Togaviridae*
- Gênero: *Alphavirus*
- RNA fita simples de polaridade positiva, morfologia isométrica, capsídeo icosaédrico
- Tamanho do genoma: 10 Kbp a 12 Kb.
- Envelopado.
- Principais vírus: Encefalite eqüina do leste, Encefalite eqüina do oeste, Encefalite Eqüina Venezuelana, Mayaro e Chikungunia.



Bunyaviridae

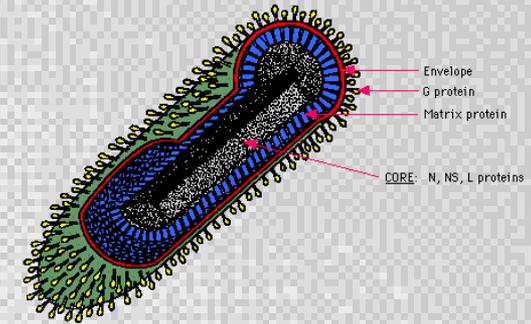
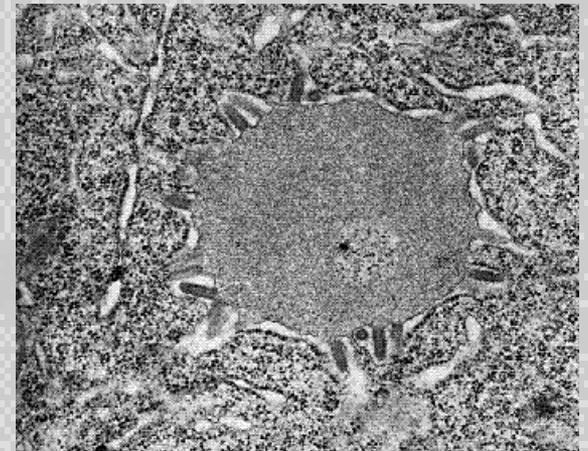
- Família: *Bunyaviridae*
- Gênero: *Bunyavirus*
- Gênero: *Phlebovirus*
- RNA fita simples de polaridade negativa, morfologia esférica, capsídeo helicoidal.
- Tamanho do genoma: 11 Kbp a 19 Kb.
- Envelopado.
- Principais vírus: Oropouche, Apéu, Caraparu, Marituba, Guaroa, Tacaiuma, Guamá, Maguari, Candiru.

OBS: Gênero Hantavirus é transmitido por roedores.



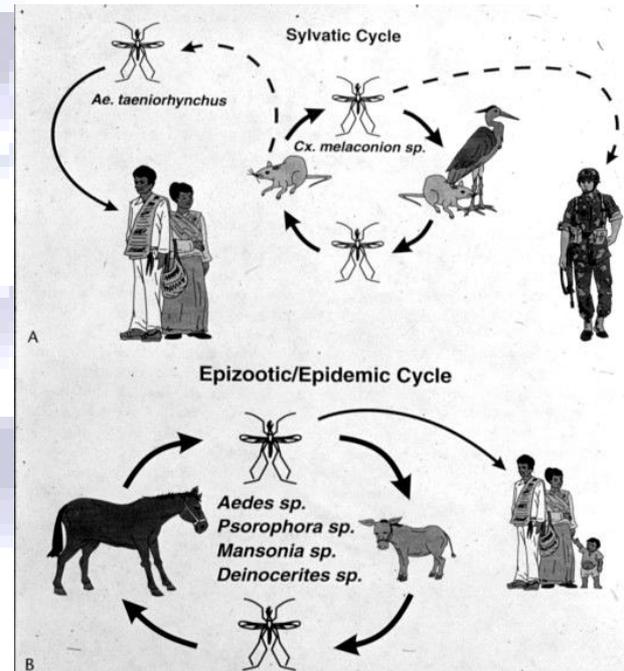
Rhabdoviridae

- Família: *Rhabdoviridae*
- Gênero: *Vesiculovírus*
- Gênero: *Lyssavírus*
- Gênero: *Ephemerovírus*
- Gênero: *Nonirhabdovirus*
- Gênero: *Cytorhabdovirus*
- Gênero: *Nucleorhabdovirus*
- RNA fita simples de polaridade negativa, morfologia bala de revólver, capsídeo helicoidal.
- Tamanho do genoma: 11 Kbp a 15 Kb.
- Envelopado.
- Principais vírus: Piry, e Estomatite Vesicular.

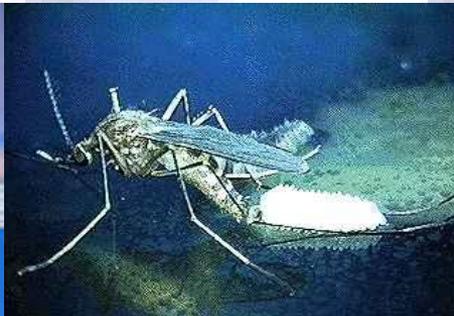


Vetor

- vetores artrópodos que se infectam ao sugarem o vertebrado virêmico, passando a transmitir o microorganismo ao sugarem outros animais .
- Formam ciclos complexos de virêmia envolvendo um ou mais vertebrados-reservatório.



Tsai T & Monath T. *Alphaviruses*. In: Richman DD et al *Clinical Virology*, Churchill-Livingstone, New York, 1997.



© 2003 Stephen L. Doggett

Principais Mosquitos vetores para arbovíroses.

- **Gênero *Culex***: 13 subgêneros, habito noturno, Hematofagia aves, vetor do vírus da Encefalite de São Luis e Virus do Oeste do Nilo.
- **Gênero *Sabethes***: 13 espécies , habito diurno, Hematofagia macacos, vetor do vírus da Febre Amarela .
- **Gênero *Anopheles***: 360 espécies , horas Crepusculares, Hematofagia animais domésticos, e homem, vetor secundario de viroses mas principal vetor de Protozoários como a Malaria.
- **Gênero *Haemagogus***: 2 subgêneros, habito diurno, Hematofagia animais, vetor do vírus da Febre Amarela .
- **Gênero *Aedes***: 900 espécies e 44 subgêneros, habito diurno , crepusculares e noturno, Hematofagia animais e homem, vetor do vírus da Dengue, Zika e Chikungunia .



Estudo de Arbovirus em Mosquito na Amazônia.

ICB 2 – Prof. Edison Luiz Durigon

ICB 5 -- Prof. Luis Marcelo Aranha

- **Conhecer a taxonomia dos culicídeos vetores de vírus.**
- **Detectar arbovírus, por isolamento viral e técnicas de biologia molecular.**
- **Identificar e classificar os vírus e eventuais variações gênicas.**
- **Mapear os locais de ocorrência dos arbovírus por técnicas de geo-localização.**

Material de Campo



Veículos



Material de Laboratório



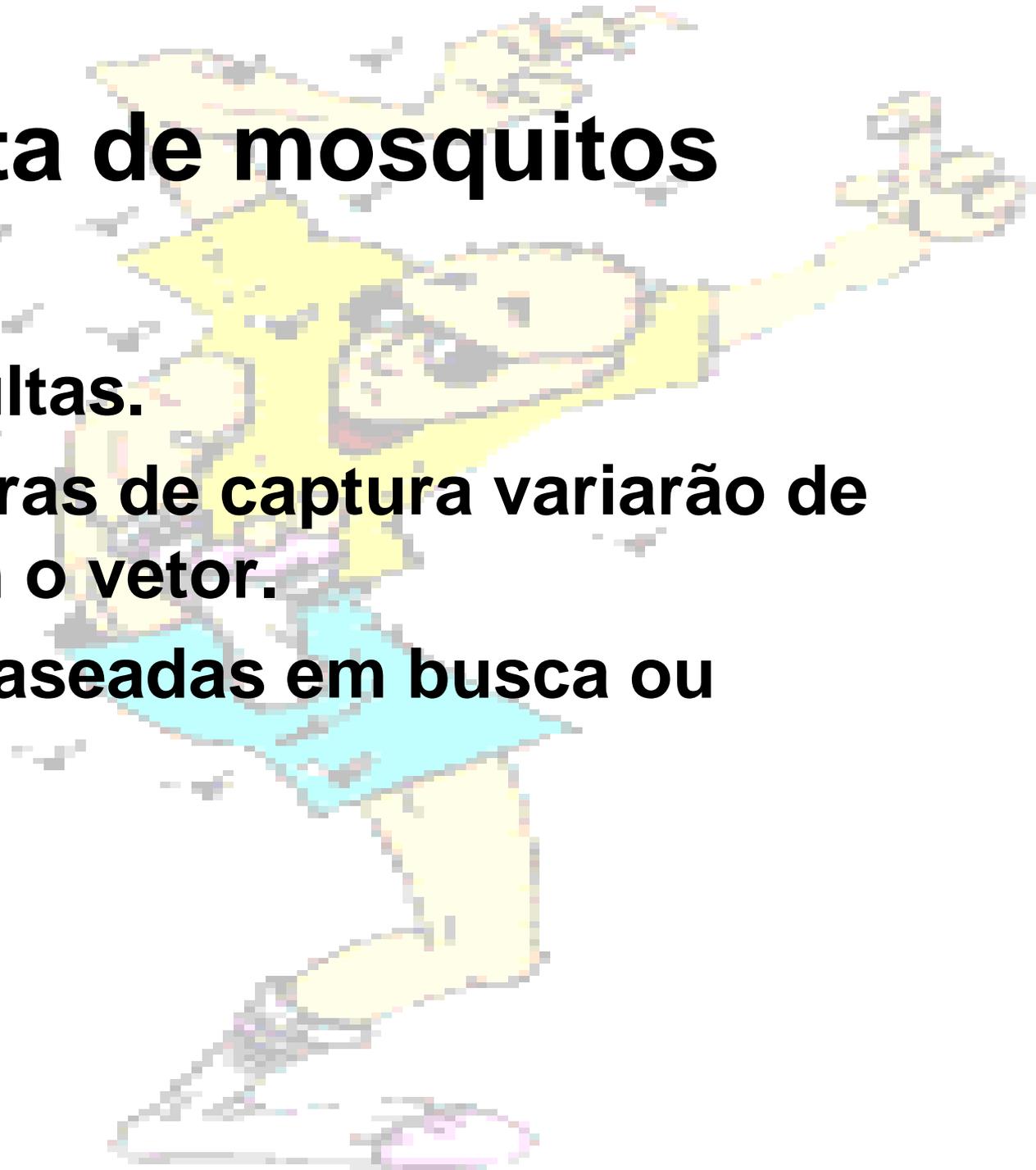
Nitrogênio líquido



Barracas de repouso e Laboratório

Coleta de mosquitos

- **Formas adultas.**
- **Locais e horas de captura variarão de acordo com o vetor.**
- **Técnicas, baseadas em busca ou atração.**



Coleta de mosquitos



Barraca de Shannon



Aspirador de Nasci



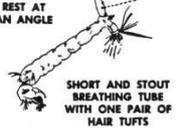
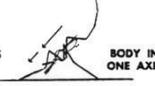
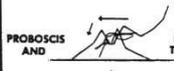
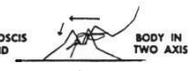
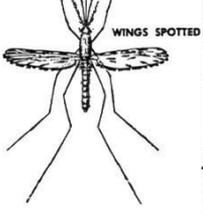
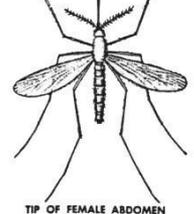
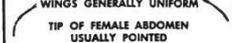
CDC
(Communicable
Disease Center)



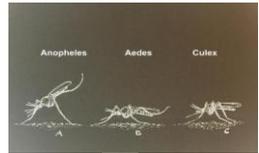
isca-human, e
isca-animal

Técnicas de identificação entomológica

- Os animais coletados serão quantificados e devidamente identificados através das características morfológicas, até gênero e espécie pela equipe de entomologia da USP e por colaboradores externos.

PRINCIPAL CHARACTERS FOR IDENTIFYING THE THREE GENERA OF MEDICAL IMPORTANCE		
ANOPHELES	AEDES	CULEX
EGGS		
 LAID SINGLY HAS FLOATS	 LAID SINGLY NO FLOATS	 LAID IN RAFTS NO FLOATS
LARVAE		
 REST PARALLEL TO WATER SURFACE RUDIMENTARY BREATHING TUBE	 REST AT AN ANGLE SHORT AND STOUT BREATHING TUBE WITH ONE PAIR OF HAIR TUFTS	 LONG AND SLENDER BREATHING TUBE WITH SEVERAL PAIRS OF HAIR TUFTS
PUPAE		
	 PUPAE DIFFER ONLY SLIGHTLY	
ADULTS		
 PROBOSCIS AND BODY IN ONE AXIS	 PROBOSCIS AND BODY IN TWO AXES	 PROBOSCIS AND BODY IN TWO AXES
 MAXILLARY PALPS AS LONG AS PROBOSCIS	 MAXILLARY PALPS SHORTER THAN PROBOSCIS	 MAXILLARY PALPS SHORTER THAN PROBOSCIS
 WINGS SPOTTED	 WINGS GENERALLY UNIFORM	 TIP OF FEMALE ABDOMEN USUALLY BLUNT
	 TIP OF FEMALE ABDOMEN USUALLY POINTED	

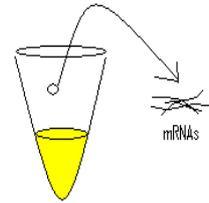
Biologia Molecular



Pools de mosquitos



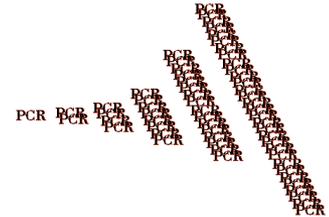
Maceração



Extração do mRNA



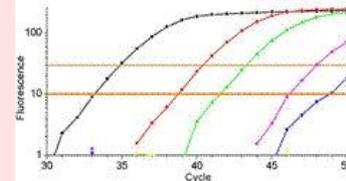
RT-PCR



OU



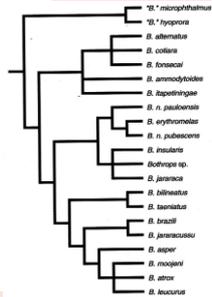
Imunofluorescência



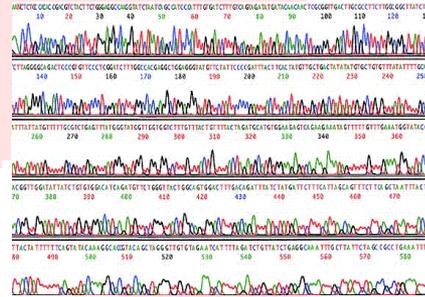
PCR Real Time



PCR



Filogenia



sequenciamento



Eletroforesis

Isolamento e Crescimento viral

Laboratório NB3 Prof Dr Klaus Eberhard Stewien ICB II-USP-SP

Forma de isolamento:

- **Cultura celular com célula C6/36 e VERO.**
- **Camundongos Recém-nascidos**

Forma de crescimento viral:

- **Cultura celular com célula C6/36 e VERO.**
- **Cérebro de Camundongo recém-nascidos.**



FEBRE AMARELA

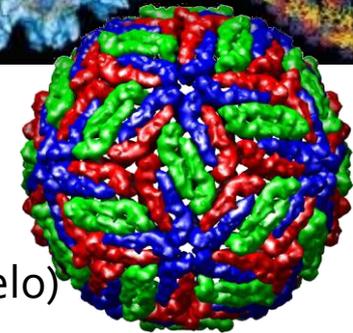
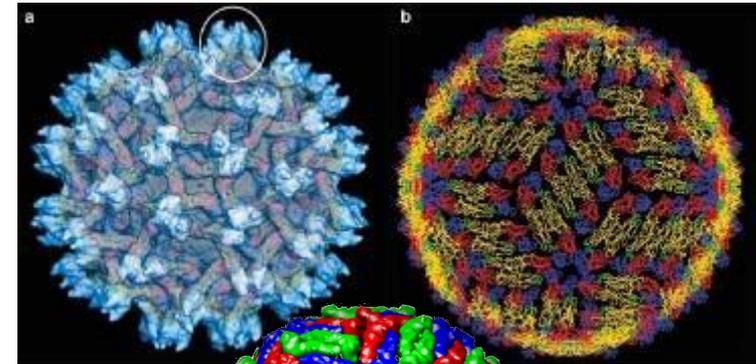


Etiologia

- Vírus de RNA:
 - Gênero Flavivirus
 - Família Flaviviridae
 - Arbovirus do grupo B

Arthropod Borne Virus

(do latim: *flavus* = amarelo)



ARBOVIROSE

EPIDEMIOLOGIA

- Endêmica nas regiões tropicais e subtropicais
- Áreas florestais e rurais da América do Sul e África:
 - Bacias dos rios Amazonas, Paraná e Araguaia-Tocantins
 - Nilo e Congo



HISTÓRICO



Febre amarela no Brasil

- 1685 - 1ª epidemia no Brasil, Recife/PE (África)
- 1691 - 1ª Campanha Sanitária no Brasil
- 1692 a 1848 – (~ 150 anos de Silêncio)
- 1849 - Epidemia da Bahia (navio procedente / EUA)
- 1849/61 - Propagação no país (16 Províncias)
- 1932 – Demonstrado o ciclo silvestre da FA (ES)
- 1937 – Vacina contra febre amarela (Brasil)
- 1942 – Último caso urbano registrado no Brasil (AC)
- 1999 – Início da vigilância de epizootias em primatas

ÁREAS DE RISCO PARA FEBRE AMARELA SILVESTRE BRASIL, 2003



EPIDEMIOLOGIA

- CICLO SILVESTRE

- Mosquitos de gênero *Hemagogus* e *Sabethes* (antropofílicos, diurnos, umbrosos -> macacos *Alouatta*, *Callitrix* ou *Cebidae* (ou roedores e marsupiais) -> dispersão em ondas/períodos -> homem (acidental, invasor)



Ciclo silvestre

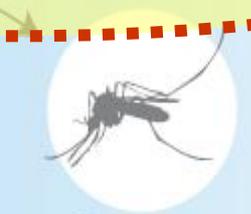


Haemagogus Sabethes

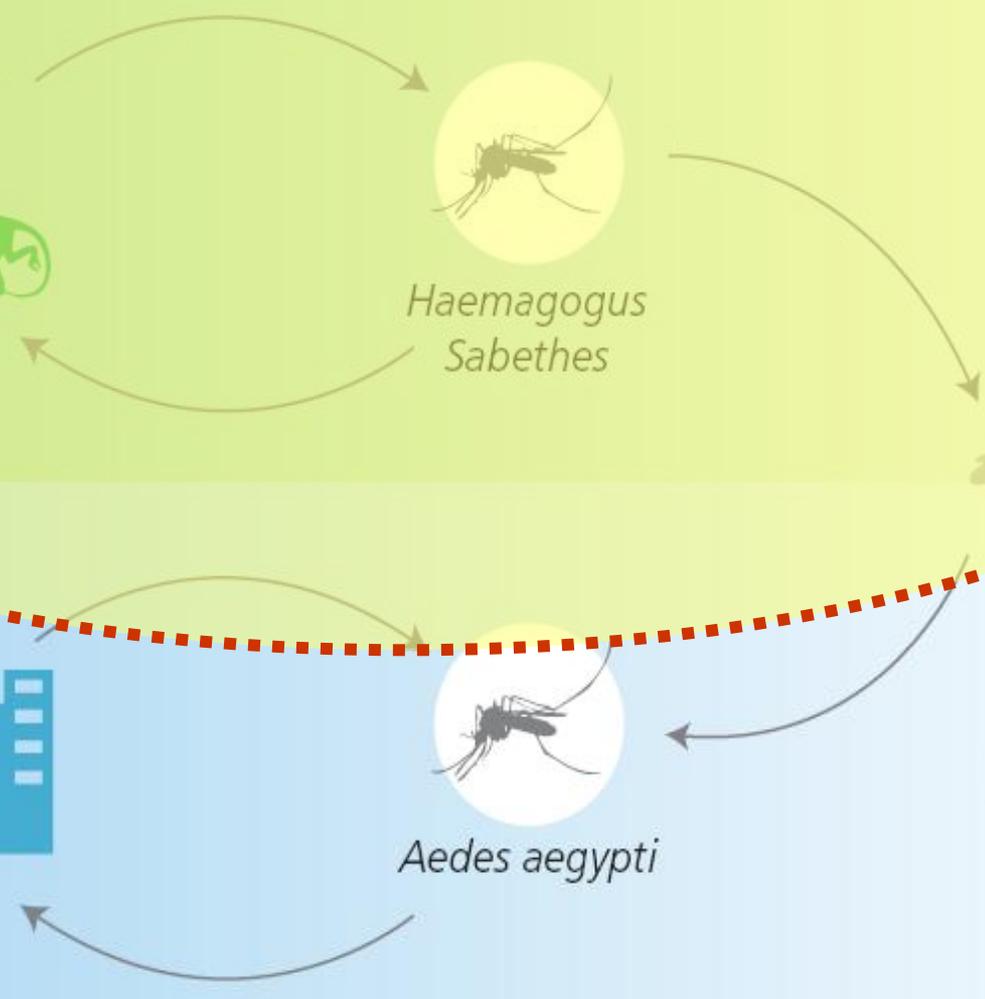
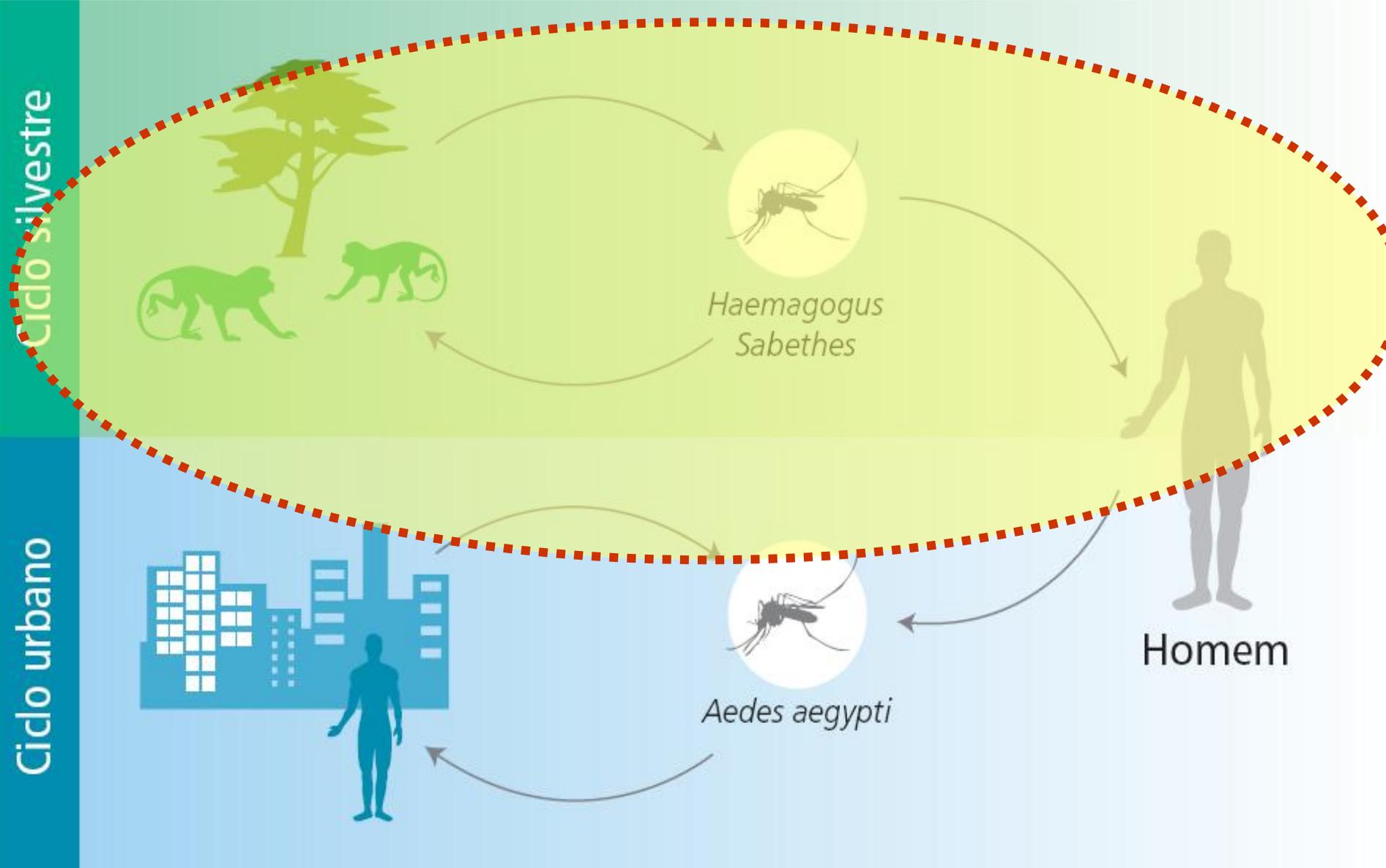


Homem

Ciclo urbano



Aedes aegypti





Cebus sp
(macaco prego)



Callithrix sp
(mico, soim)

Alouatta sp
(guariba, bugio)



Hospedeiros

Amplificadores

Disseminadores



Vetores

Reservatórios

Disseminadores

EPIDEMIOLOGIA

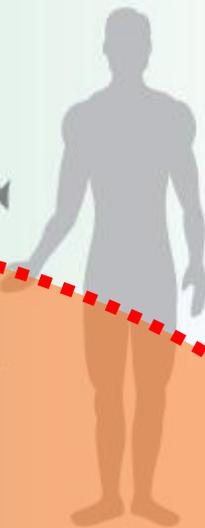
- CICLO URBANO
 - Homem->Aedes aegypti->homem
 - Letalidade: 20-50% casos graves (ictéricos), do 7^o ao 10^o dia



Ciclo silvestre



Haemagogus Sabethes

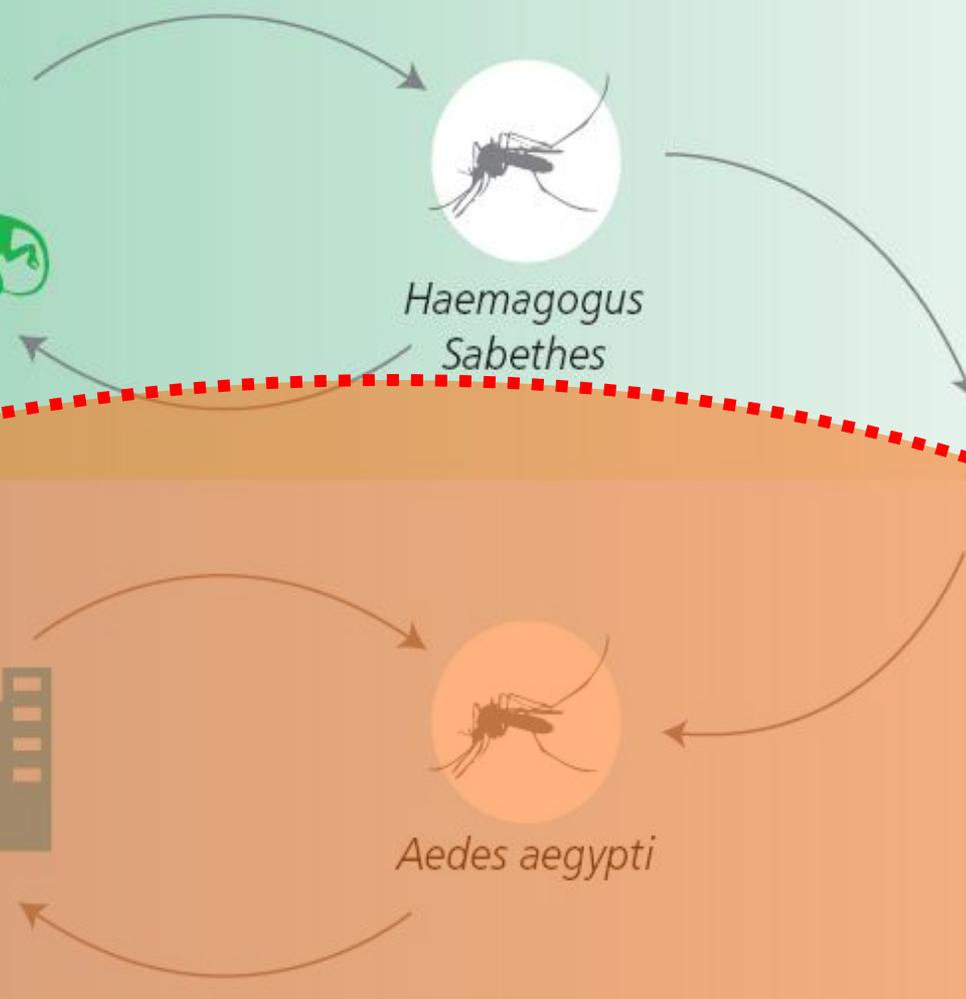
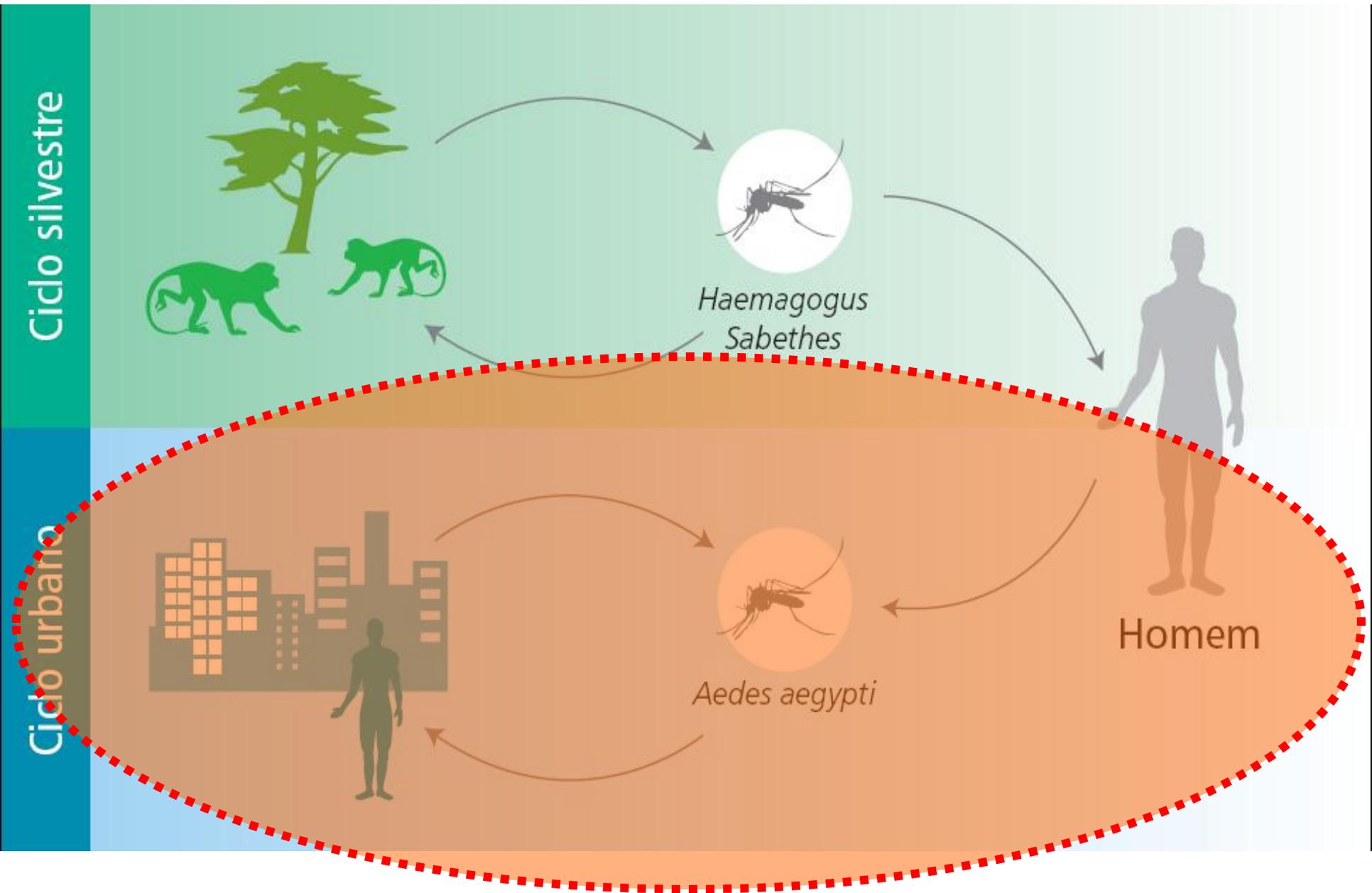


Ciclo urbano



Aedes aegypti

Homem



INCUBAÇÃO, PATOLOGIA e PATOGENIA

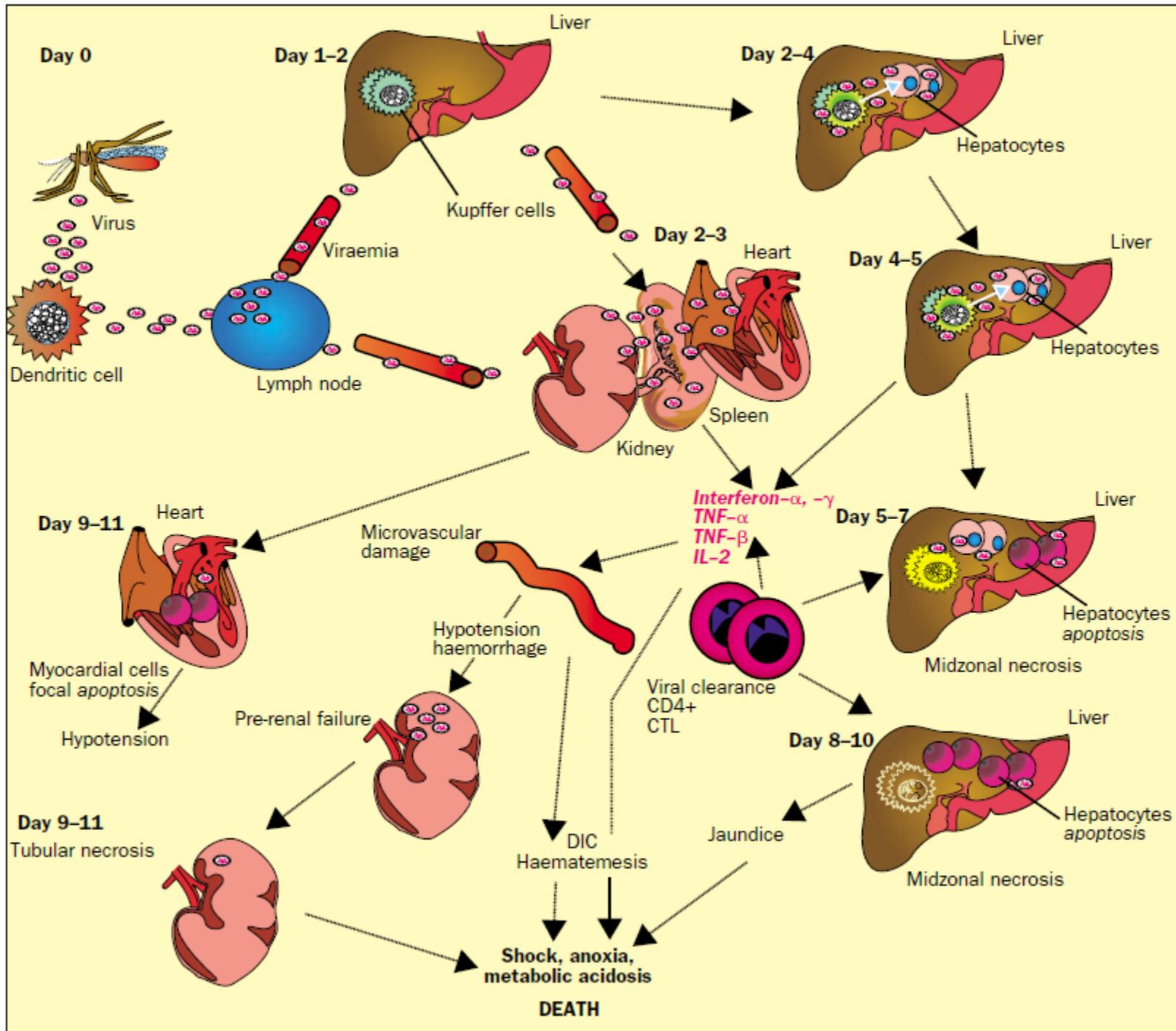
- Incubação no homem:
 - 3 a 6 dias (até 10 dias).
 - Viremia: dura algumas horas ou até 2 dias nas formas leves e de 5 a 7 dias nas formas graves (transmissor para outro mosquito) → coincide com o início da febre e do período prodrômico da doença;
- Incubação no mosquito:
 - 7 a 11 dias (mosquito vive de 30 a 60 dias):
 - Aedes:
 - transmissão do vírus de forma transovariana diretamente para a prole, dispensando o ser humano no ciclo.

INCUBAÇÃO, PATOLOGIA e PATOGENIA

- PATOLOGIA:
 - Picada → Cel dendrítica → vírus no Linfonodo → “desaparecem” por 24h → sistema linfático e sanguíneo → viremia
- Principal alvo: Fígado
 - Focos hemorrágicos subcapsulares e parenquimatosos
 - Necrose médio-zonal dos hepatócitos (áreas centrais entre o espaço porta e a veia centrolobular), são mais atingidas pela necrose.
 - Corpúsculo de Councilman (degeneração eosinofílica dos hepatócitos)
 - Corpúsculo de Torres (inclusões granulares eosinofílicas)

INCUBAÇÃO, PATOLOGIA e PATOGENIA

- Rins: oligúria por mudança do fluxo sanguíneo intra-renal secundária  do débito cardíaco.
- Diátese hemorrágica:  Síntese do fatores de coagulação dependentes de Vitamina K  plaquetas; CIVD.



INCUBAÇÃO, PATOLOGIA e PATOGENIA

- **IMUNIDADE:**
 - Ativa natural: Permanente
 - Ativa artificial: Vacina (reforço a cada 10 anos)
 - Passiva Natural: até o 6^o mês de vida

QUADRO CLÍNICO

- Forma Leve
- Forma moderada
- Forma grave
- Forma maligna



QUADRO CLÍNICO

- Geralmente início súbito
- Indisposição geral → febre → prostração → hiperemia conjuntival - vômitos - mialgia - artralguas - dor epigástrica - calafrios.
VIREMIA (infectante ao mosquito)
- 2º dia: temperatura elevada, Faget, prostração
- 3º. ao 4º. dias: melhora geral e febre cai: alívio
- 4º - 5º (+/- 2-5.dias): exacerbação e toxemia.

QUADRO CLÍNICO BIFÁSICO

- 1ª Fase viremia – formas leves/ moderada (90%):
 - Início do súbito
 - Febre Alta – Calafrios
 - Mialgias
 - Bradicardia relativa (Faget)
 - Cefaléia intensa
 - Náuseas e vômitos
 - Melhora clínica no 3º ao 4º dia de doença

QUADRO CLÍNICO BIFÁSICO

- 2ª Fase:
- Formas Graves:
 - Exacerbação dos sintomas principalmente digestivos;
 - Vômitos, epigastralgias, dor abdominal
 - Manifestações hemorrágicas
 - Sangramento gastrointestinal – hematêmese
 - Epistaxe, púrpura, petéquias
 - Insuficiência hepática(↑TAP; ↓fatores de coagulação)
 - Icterícia progressiva (predomínio de BD)
 - Elevação de transaminases(acima de 1000)
 - Encefalopatia hepática



QUADRO CLÍNICO

- Formas Graves

- Óbito:

- Ocorre em 20 - 50% dos casos graves,
- Em geral do 7º -10º dia de doença
- Precedido por piora da icterícia, hemorragias, taquicardia, hipotensão, oligúria e azotemia.
- Prenunciam o êxito letal: hipotermia, agitação, delírios, hipoglicemia, anúria, suor, coma.



QUADRO CLÍNICO

- Convalescença:
 - Breve nas formas leves
 - Prolongado nas formas graves, cursando com astenia importante por até duas semanas. As transaminases podem permanecer aumentadas por mais de dois meses.

Situação Epidemiológica de Febre Amarela Silvestre

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

26 de janeiro de 2017

ÁFRICA YFV urbana: 2015 - 2016

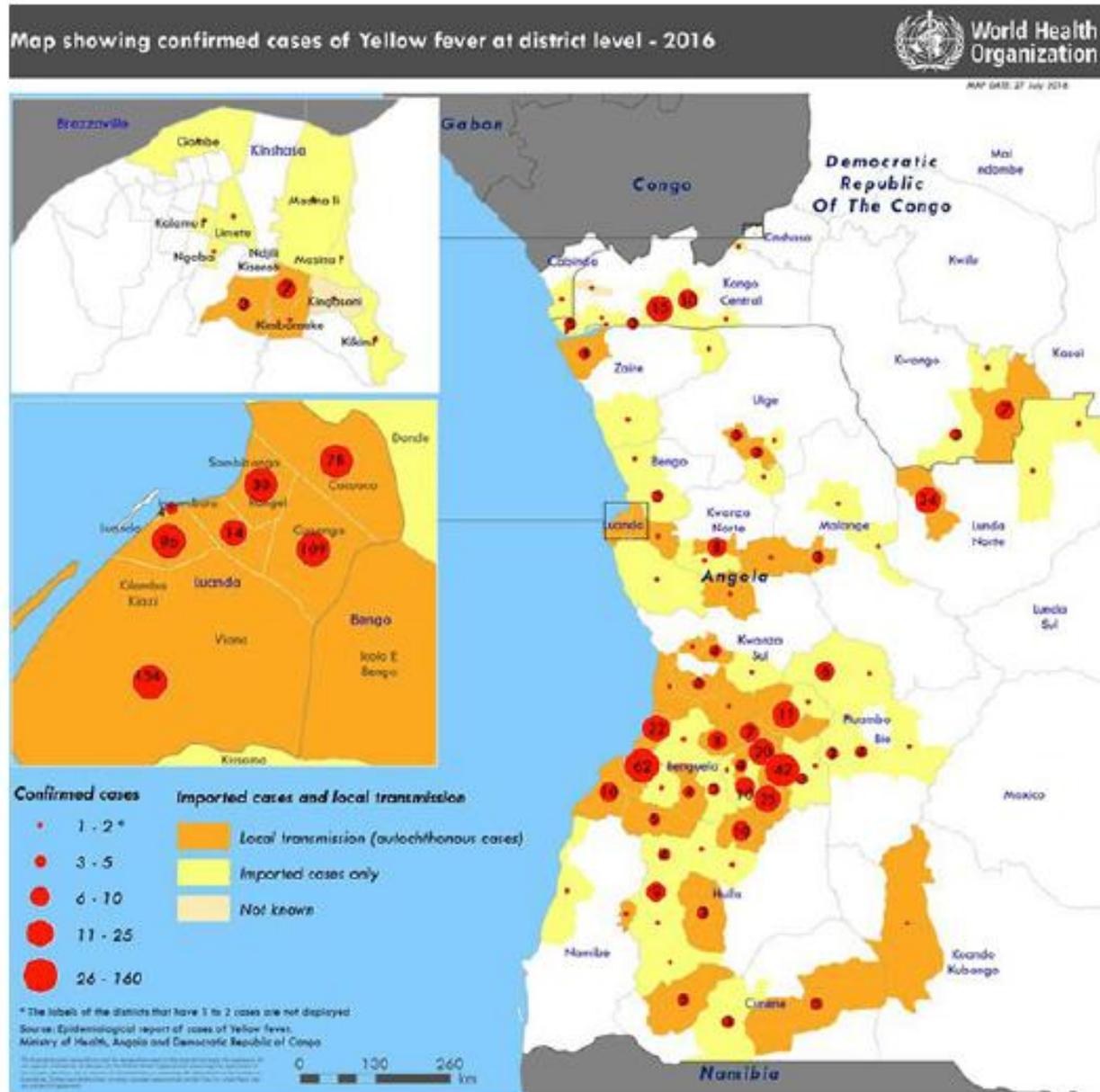


Figura 6. Distribuição geográfica das áreas com registro de casos humanos de febre amarela na África, 2016.

Cenário internacional: América do Sul

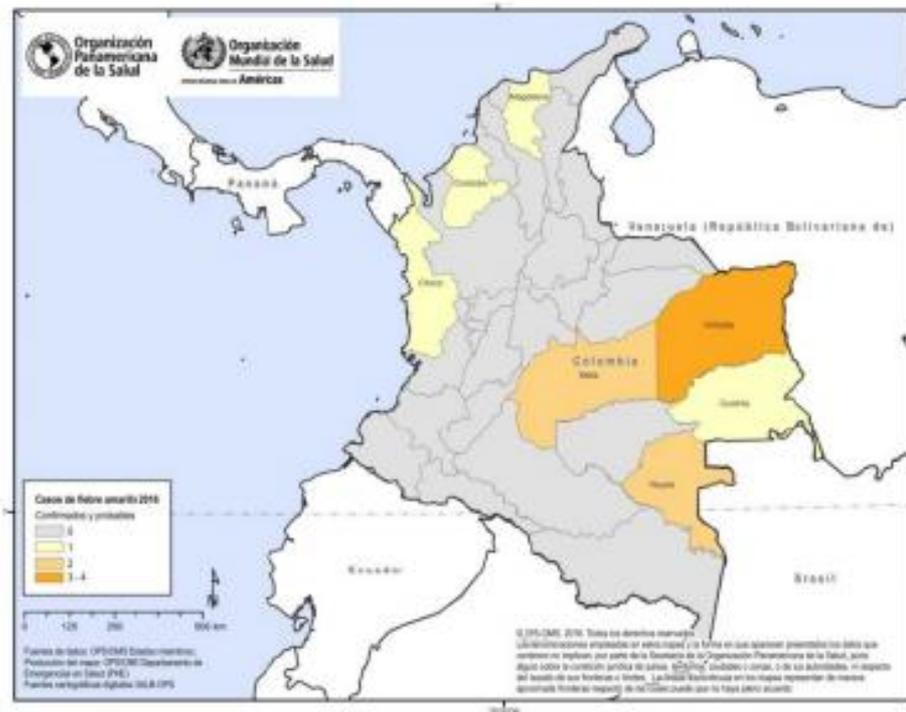


Figura 5. Distribuição geográfica das áreas com registro de casos humanos de febre amarela na Colômbia, 2016.

Casos de YFV confirmados de 1980 a 2016.

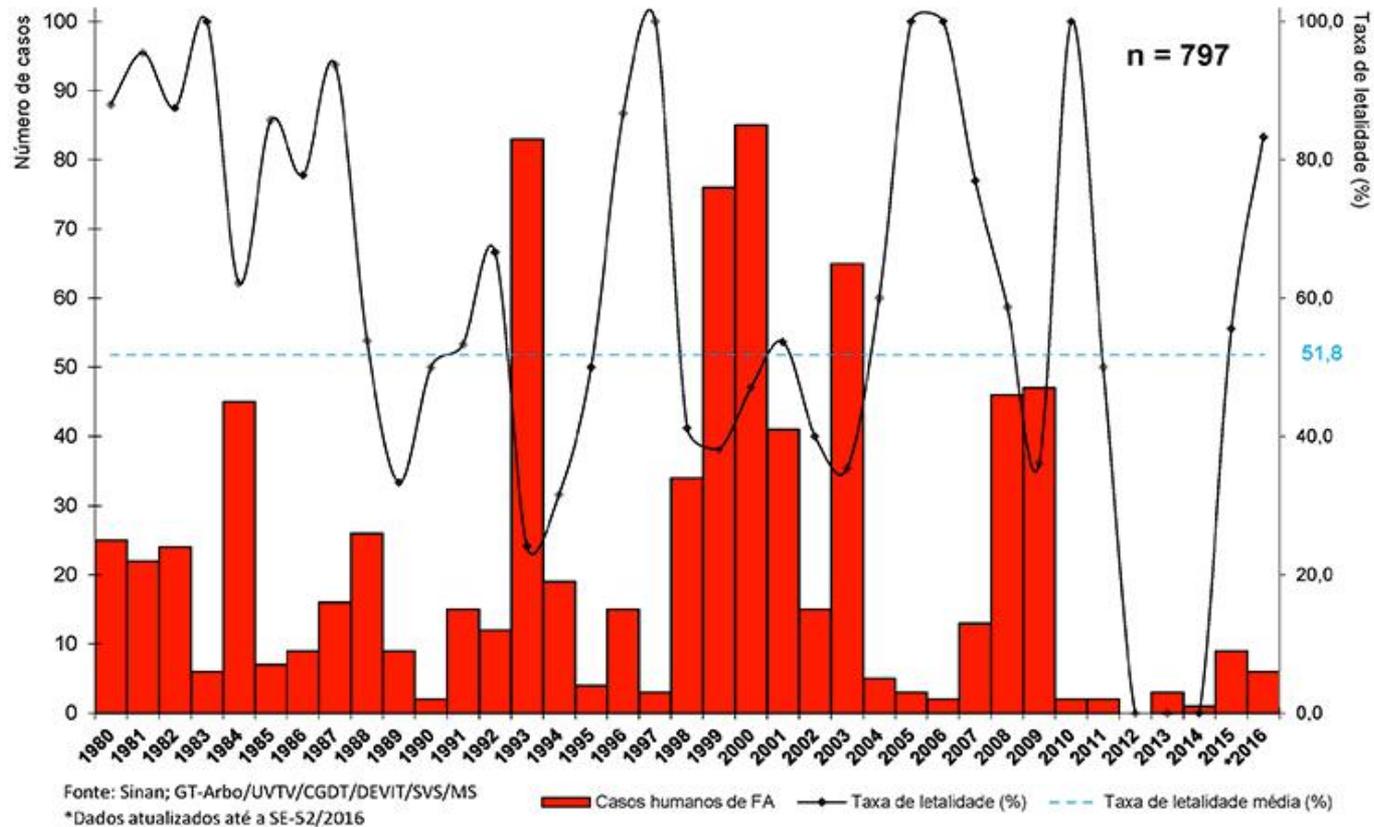


Figura 1. Série histórica do número de casos humanos confirmados de febre amarela silvestre e a letalidade no Brasil, 1980 a 2016.

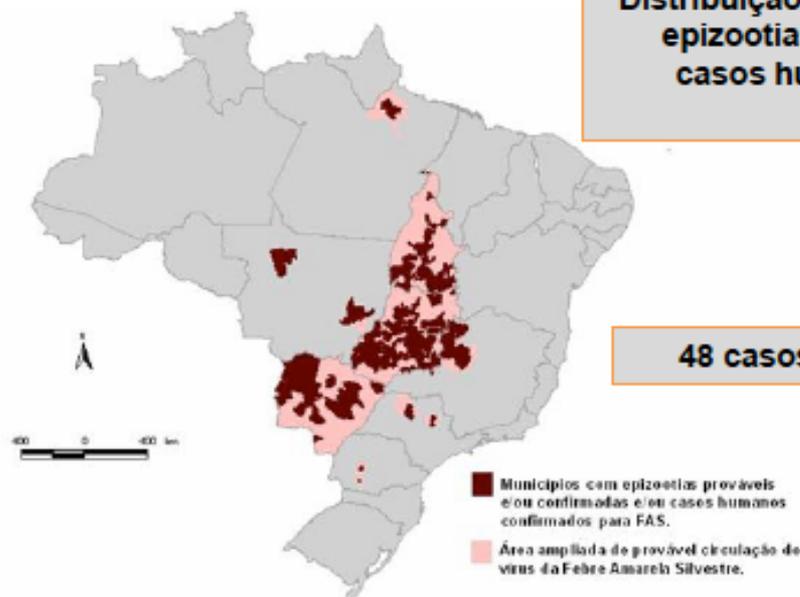
Antecedentes

Investigação Febre Amarela Silvestre, jan/2017

No Brasil há uma ocorrência endêmica, principalmente na **Região Amazônica**

Maiores surtos da doença: GO (2000/2001), MG (2003), 9 estados (2008/2009)

Distribuição de municípios com registros de epizootias prováveis ou confirmadas e casos humanos confirmados de FAS 2007/2008



48 casos, 28 óbitos confirmados

Antecedentes

Investigação Febre Amarela Silvestre, jan/2017

Entre julho de 2014 e dezembro de 2016

Confirmados 16 **casos humanos** de febre amarela no Brasil com LPI em: GO, PA, MS, SP e AM

concomitante

51 **epizootias em PNH** confirmadas para febre amarela, sendo 18 em SP, 12 em GO, 8 no DF, 7 em TO, 5 em MG e 1 no PA.

SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA - CASOS

Distribuição dos casos de febre amarela notificados à SVS/MS de 01 dezembro de 2016 até 24 de janeiro de 2017, às 21h, por UF do local provável de infecção.

UF	Municípios com casos notificados	Classificação dos casos			
		Total de casos notificados	Casos em Investigação	Casos Confirmados	Casos Descartados
Região Centro-Oeste					
Distrito Federal	1	2	0	0	2
Região Nordeste					
Bahia	3	7	6	0	1
Região Sudeste					
Espírito Santo	14	22	21	1	0
Minas Gerais*	40	404	337	66**	1
São Paulo	3	3	0	3	0
Total	61	438	364	70	4

* Includos casos notificados pelas SES da BA, ES, SP e DF com Local Provável de Infecção em Minas Gerais.

** Excluído um caso notificado pela SES DF com Local Provável de Infecção em Minas Gerais que permanece em investigação.

438 casos suspeitos - 70 casos confirmados

Distribuição dos casos de febre amarela notificados até 17 de março:

UF	Notificados	Em investigação	Confirmados	Descartados	Municípios
MG ¹	1.158	667	346	142	93
ES	297	150	93	54	47
SP	25	11	4	10	25
BA ⁴	19	8	0	11	8
RJ	3	1	2	0	2
TO	7	6	0	1	7
RN	1	0	0	1	1
GO	7	3	0	4	5
UF do LPI em investigação ²	15	4	0	11	-
Descartados por outras UF ³	29	0	0	29	-
Total	1.561	850	448	263	188

1 Incluídos casos notificados pelas SES BA, ES, GO, SP, SC, PI, RJ e DF com LPI em MG.

2 Incluídos casos notificados pelas SES PI, SC, AL e DF com LPI em Investigação.

3 Incluídos casos notificados e descartados por outras UF's.

4 Excluída uma duplicidade de casos notificados.

SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA - ÓBITOS

Distribuição dos óbitos por febre amarela notificados (entre o total de casos notificados) à SVS/MS de 01 dezembro de 2016 até 24 de janeiro de 2017, às 21h, por UF do local provável de infecção.

UF	Municípios com óbitos	Classificação dos óbitos			
		Total de óbitos notificados	Óbitos em Investigação	Óbitos Confirmados	Óbitos Descartados
Região Centro-Oeste					
Distrito Federal	0	0	0	0	0
Região Nordeste					
Bahia	0	0	0	0	0
Região Sudeste					
Espírito Santo	1	2	2	0	0
Minas Gerais*	21	84	47	37**	0
São Paulo	3	3	0	3	0
Total	25	89	49	40	0

* Incluídos óbitos notificados pelas SES da BA, ES, SP e DF com Local Provável de Infecção em Minas Gerais.

** Excluído um óbito notificado pela SES DF com Local Provável de Infecção em Minas Gerais que permanece em investigação.

40 óbitos confirmados (letalidade - 57,0%)

Distribuição dos óbitos de febre amarela notificados até 17 de março:

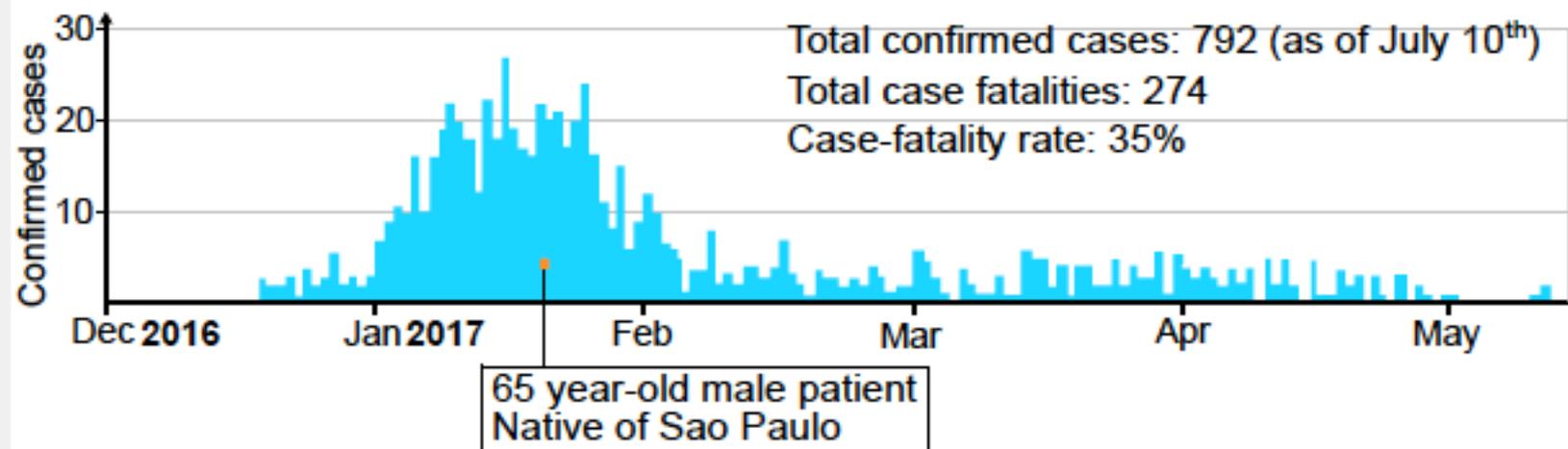
UF	Notificados	Em investigação	Confirmados	Descartados	Municípios
MG ¹	194	76	118	0	49
ES	54	26	22	6	23
SP	4	1	3	0	4
RJ	1	0	1	0	1
BA	1	1	0	0	1
TO	1	1	0	0	1
RN	1	1	0	0	1
UF do LPI em investigação ²	5	4	0	1	-
Descartados por outras UF's ³	3	-	-	3	-
Total	264	110	144	10	80

1 Incluídos óbitos notificados pelas SES da BA, SP, ES e DF com Local Provável de Infecção em Minas Gerais.

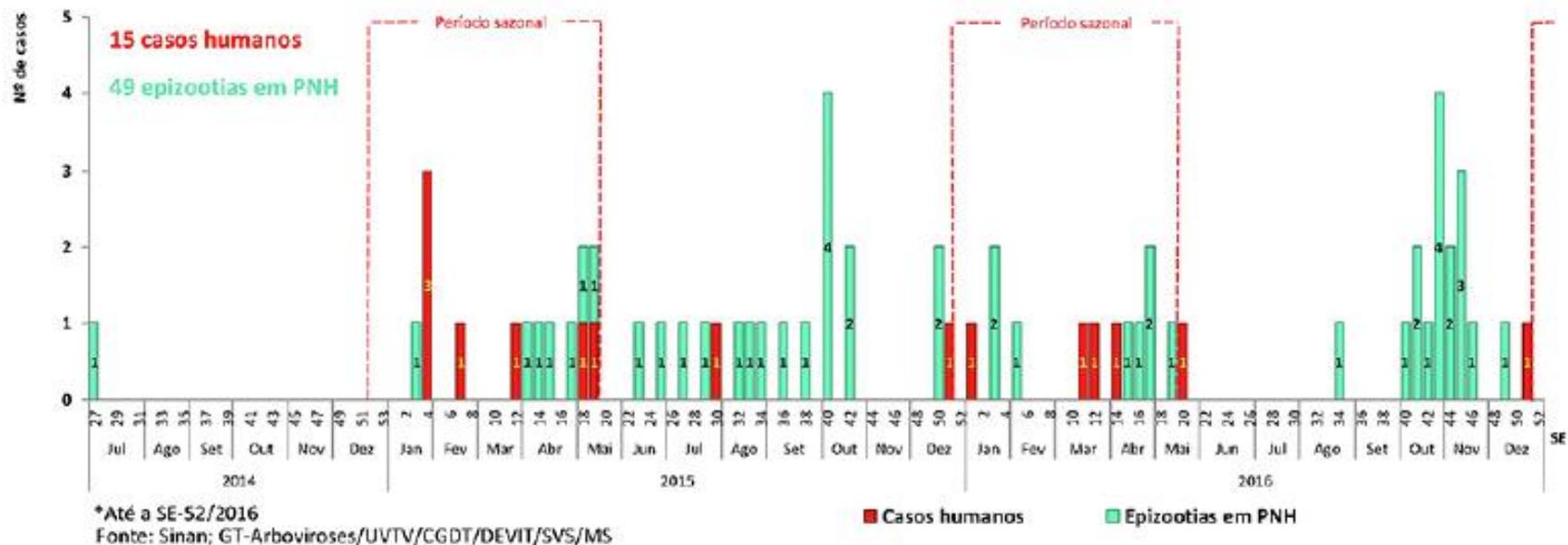
2 Incluídos óbitos descartados pelas SES AL, PI e SP com LPI em investigação.

3 Incluídos casos notificados e descartados por outras UF's.

The 2017 Yellow Fever epidemic in Brazil



The distribution of confirmed cases that were notified to the Brazilian MS/SVS since May 31st, 2017 (9). The patient (orange square) from this study was reported on Jan 19th, 2017.



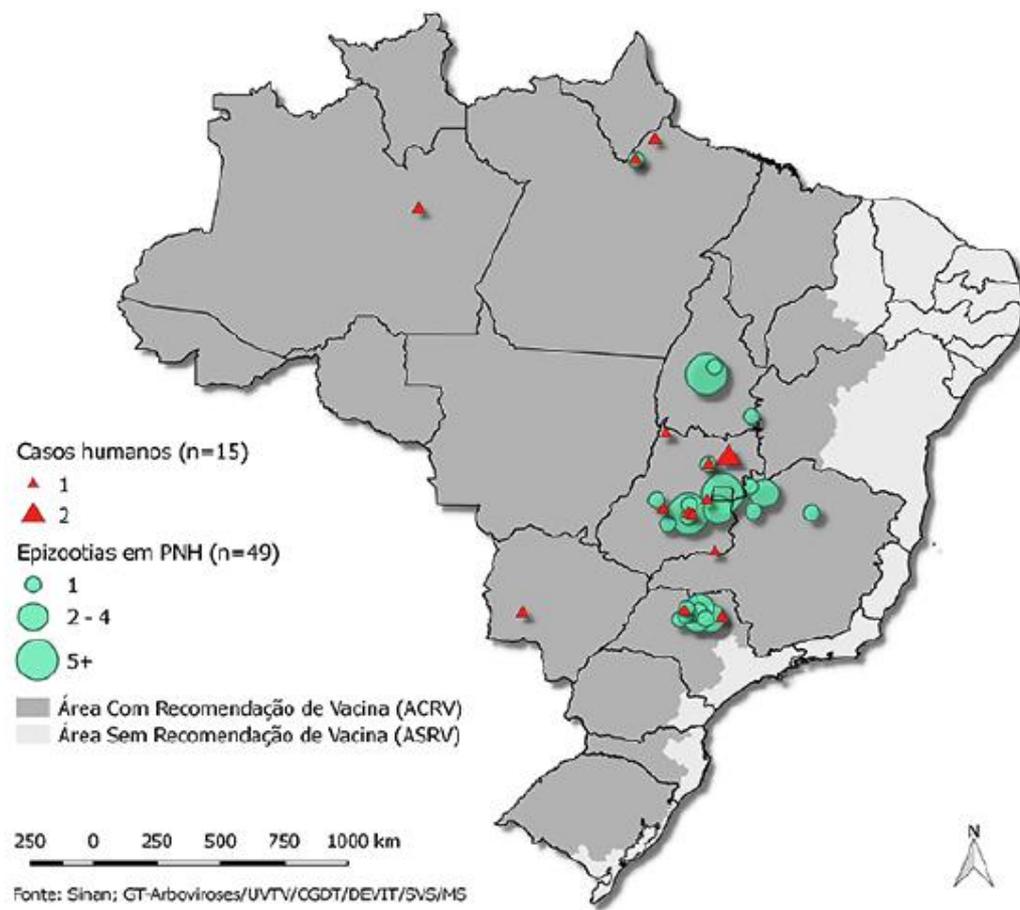


Figura 3. Distribuição geográfica dos casos humanos e epizootias em primatas não humanos (PNH) confirmados para Febre Amarela, por município do local provável de infecção (LPI). Brasil, julho/2014 – dezembro/2016.

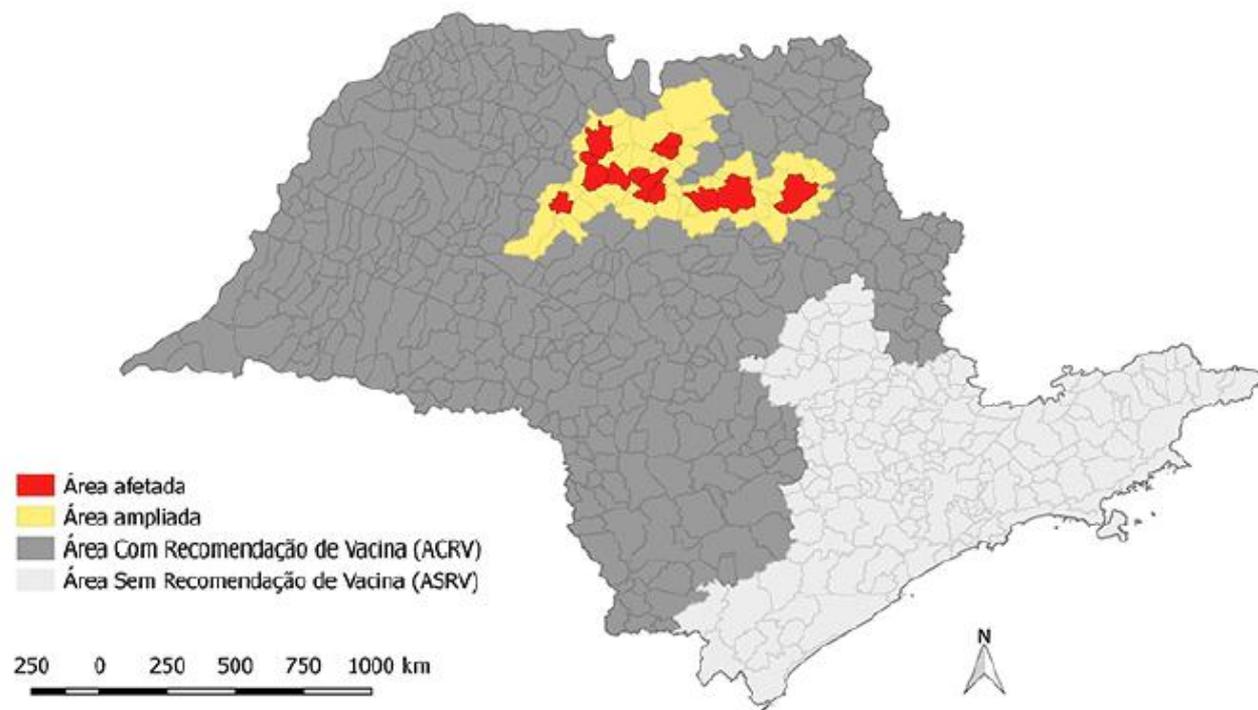


Figura 4. Distribuição geográfica do caso humano e epizootias em primatas não humanos (PNH) confirmados para Febre Amarela, por município do local provável de infecção (LPI). São Paulo, 2016.

Fiocruz está em produção de até 9 milhões de doses da vacina

- ✓ Para atender a capacidade, a **Fiocruz/Biomanguinhos** está utilizando duas unidades
- ✓ O estoque pode ser utilizado a qualquer momento.
- ✓ Em caso de necessidade, a produção poderá ser aumentada
- ✓ Somente vai para o posto de saúde o que será usado no dia para não estragar

Risk of Recrudescence of Yellow Fever in Brazil: How Important is the Clinical Diagnosis

A 65-year-old man who lives in Diadema/SP, traveled to the rural area of Januária city, in Minas Gerais State on January 3rd, 2017. Three days later, on January 6th, 2017, symptoms started with high fever, chills, body pain and nausea. From January 7th to January 9th symptoms got worst with fever, headache, body pain, prostration, vomiting, dizziness, anorexia, dark stools, dark yellow urine and bitterness in the mouth. He visited a public hospital on the city where an anti-NS1 Elisa Dengue test was performed and came negative, while platelet count was 77.000 platelets/mm³.

On January 13th he returned to São Paulo city and visited a public hospital in Diadema, where another anti-NS1 Elisa Dengue test was performed and came negative again, while platelet count dropped to 57.000 platelets/mm³. From January 14th to January 16th with fever, headache, body pain, anorexia, dizziness and bitterness in the mouth persisted, as dark yellow urine. The patient was no longer able to eat solid food. On January 17th he started eating solid food again and urine became pale yellow and from January 19th until now fever and dizziness are still present as headaches and bitterness in the mouth. He describes loss of taste.

Serum and urine samples were tested by Real-time PCR using Johnson BW et al. (2004), specific for Yellow Fever Virus, and conventional PCR for Pan Flavivirus, using Moureau et al. (2007) protocol then confirmed by Sanger sequencing. Although serum was negative on both protocols but urine tested positive with C_t value of 17. On Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), the sample also tested positive for Yellow Fever Virus.

Since usually only serum is used for molecular detection of Yellow Fever Virus, we warn about the importance of urine tests on suspect samples and the possibility of false negative results on the current epidemiological statistics.

Yellow Fever Virus in Urine and Semen of Convalescent Patient, Brazil.

Carla M. Barbosa, Nicholas Di Paola, Marielton P. Cunha, Mônica J. Rodrigues-Jesus, Danielle B. Araujo, Vanessa B. Silveira, Fabyano B. Leal, Flávio S. Mesquita, Viviane F. Botosso, Paolo M.A. Zanotto, Edison L. Durigon, Marcos V. Silva, Danielle B.L. Oliveira.

Publisher: CDC; Journal: **Emerging Infectious Diseases** Article Type: Research Letter; Volume: 24; Issue: 1; Year: 2018; Article ID: 17-1310 DOI: 10.3201/eid2401.171310; TOC Head: Research Letter

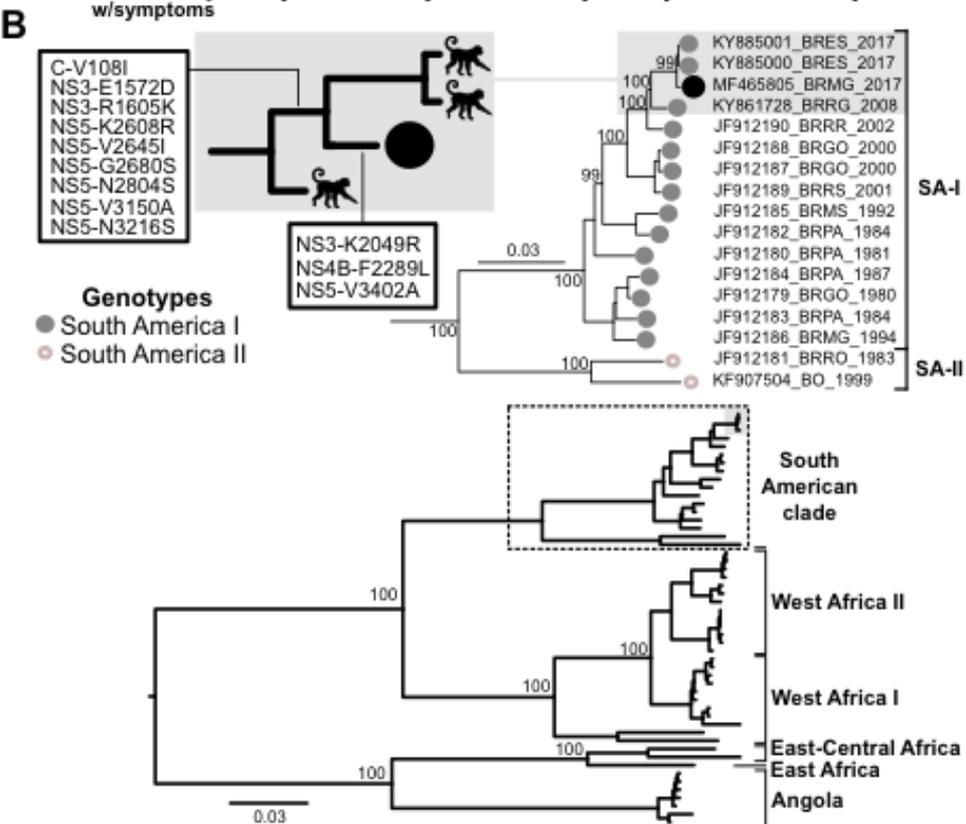
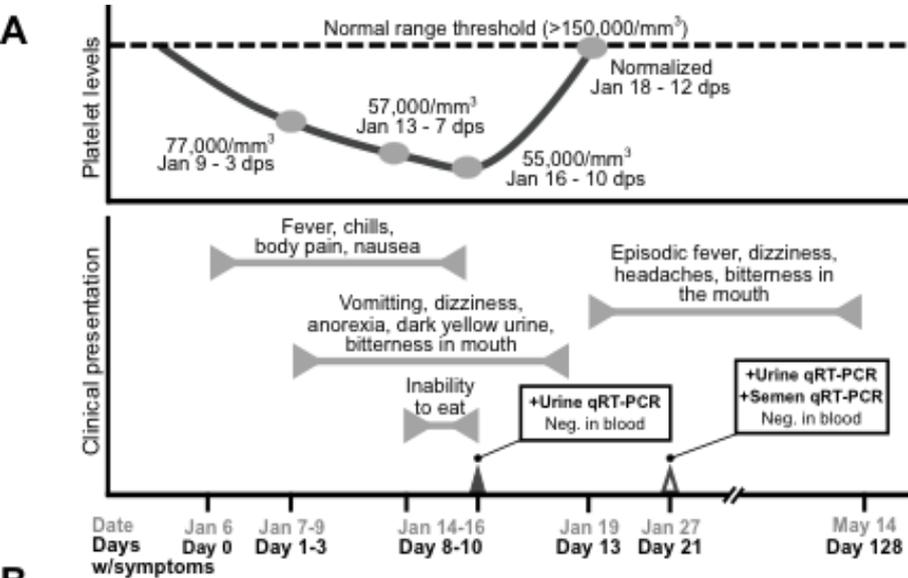


Figure legend –

A) The patient's platelet levels, clinical presentations, and key diagnostic events over a 128 day period after his initial symptoms were summarized. Specific symptoms and time of occurrence relative to the patient's first symptoms were also described.

B) A maximum likelihood tree midpoint rooted was inferred using complete genomes to distinguish major YFV genotypes. Percent bootstrap values after 10,000 replicates for major branches are indicated near nodes. Most parsimonious reconstructions (MPR) of synapomorphic changes detected in the NS3, NS4B and NS5 on our isolate (black circle) and those of the monkey-derived sister taxa, sampled from the same outbreak, are shown in the top left insert. Sequences used were labeled as follows: accession number/geographic code/year of isolation.

Obrigado !

Dr. Edison Luiz Durigon
Prof. Titular da Universidade de São Paulo
ICBII USP – SP
eldurigo@usp.br