



FMUC FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

A Dengue: um (novo) Problema de Saúde Pública em Portugal e na Europa

Dissertação para a obtenção do grau de Mestre em Saúde Pública

Autora

Ana Luísa Costa Domingues

Orientador

Manuel Amaro de Matos Santos Rosa

Coimbra, Junho de 2015

AGRADECIMENTOS

Esta dissertação é o culminar de um percurso educativo e de desenvolvimento pessoal, o qual não seria possível sem o apoio e o incentivo de algumas pessoas.

Assim, começo por agradecer ao Professor Manuel Amaro de Matos Santos Rosa, por ter aceitado acompanhar-me e orientar-me neste projeto, e também pela paciência, compreensão e sabedoria demonstrados no decorrer do trabalho.

Aos meus colegas de turma de Saúde Pública, agradeço pela ajuda e encorajamento.

À minha família, em especial os meus pais, um agradecimento enorme pelo carinho e preocupação constantes desde sempre, e pela liberdade de escolha, confiança e apoio, ao longo destes anos de estudo, mesmo nas decisões que não concordaram.

Aos meus irmãos, obrigada pelo afeto e presença constante. João, puseste-me a questionar e a exigir mais de mim. Sara, ajudaste-me, ouviste-me pacientemente e foram os teus conselhos que permitiram chegar ao fim.

Aos meus amigos, agradeço o apoio e os momentos de repouso. Um abraço em especial à Ana e à Lara, depois da companhia e amizade ao longo deste ano, pois nem a distância me permitiu ficar longe de vocês.

A estes e a todos os outros que de algum modo me encorajaram e ajudaram no desenvolvimento deste trabalho,

o meu mais sincero “obrigada”!

RESUMO

A dengue é uma infeção viral transmitida por mosquitos, causada por quatro diferentes serotipos do vírus da dengue (DENV), que nas últimas décadas se transformou num grande problema de saúde pública a nível global, sendo que nem vacina nem tratamento específico estão disponíveis. Pensa-se que o número de infeções anuais possa chegar aos 390 milhões por ano, causando 500 mil casos de dengue severa e mais de 20 mil mortes. Pensa-se que o número de infeções anuais possa chegar aos 390 milhões por ano, causando 500 mil casos de dengue severa e mais de 20 mil mortes. O vetor primário do DENV é o mosquito *Aedes aegypti*, enquanto o *Aedes albopictus* é o vetor secundário. Segundo a nova classificação da OMS, a dengue divide-se em dengue, com ou sem sinais de alarme, e dengue severa. A ocorrência de dengue severa foi fortemente associada a infeções secundárias com serotipo diferente da primeira infeção, podendo isto ser explicada pela teoria de potenciação dependente de anticorpos e, mais recentemente, pelo papel das células T. Será a produção de citocinas as principais causadoras do vazamento plasmático observado, mas os eventos ao nível do sistema imune decorrentes de uma infeção pelo DENV são complexos e de conhecimento limitado. O ECDC é a entidade central que ajuda a orientar os países europeus ao nível da vigilância de vetores, e a REVIVE a responsável em Portugal. Os métodos de controlo passam por estratégias ambientais, biológicas e químicas, além da participação da comunidade. A dengue já esteve presente em Portugal e na Europa até ao século passado, mas, com a eliminação do *A. aegypti*, não se verificaram casos autóctones até, depois da introdução do *A. albopictus*, a ocorrência de surtos em França e Croácia, em 2010. Em 2012, ocorreu o primeiro surto de dengue na Madeira, provocado pelo *A. aegypti*. Ambas as espécies já estão presentes em território europeu, e, com as alterações climáticas, poderão ocorrer alterações no padrão dispersivo do vetor e aumentar a adequabilidade climática para o seu estabelecimento. A presente dissertação tem como objetivo a revisão do conhecimento mais recente sobre a dengue enquanto problema de saúde pública e desafio ao sistema imunitário, estimar as potencialidades futuras da dengue em Portugal e na Europa e apresentar propostas para uma melhor preparação em caso de surto futuro e de presença de dengue de novo na Europa.

PALAVRAS-CHAVE: VÍRUS DA DENGUE, AEDES ALBOPICTUS, AEDES AEGYPTI, DENGUE SEVERA, PORTUGAL, EUROPA, IMUNOPATOGENESE, VIGILÂNCIA, CONTROLO, FUTURO

ABSTRACT

Dengue is arthropod-borne viral infection caused by four different dengue virus (DENV) serotypes and that in the last decades became a major public health problem globally. Neither vaccine nor specific treatment are presently available. It is thought that the number of infections per year can be as high as 390 million, causing 500,000 cases of severe dengue and more than 20,000 deaths. The primary vector of DENV is *Aedes aegypti* mosquito, while *Aedes albopictus* is the secondary vector. According to the recent WHO classification, dengue is now dengue with or without warning signs and severe dengue. Severe dengue was strongly associated with secondary infections with a different serotype from the first infection. This can be explained by the theory of antibody-dependent enhancement and, more recently, by the possible role of the T-cells. Cytokine production was accused as being the main cause of plasma leakage observed in dengue patients. However, the immune events due to DENV infection are complex and not well known. The ECDC is the central authority that provides the European countries with guidelines for the vector surveillance. REVIVE is the entity responsible for the surveillance in Portugal. The vector control methods go from environmental, biological and chemical strategies to community participation. Dengue was present in Portugal and in Europe until the last century, but, with the elimination of *A. aegypti*, there were no autochthonous dengue cases until the outbreaks in France and Croatia in 2010, after the introduction of *A. albopictus*. In 2012, the first dengue outbreak occurred in Madeira, caused by *A. aegypti*. Both species are already present in the European region and, with the expected climate change, there could be some changes in the vector dispersive pattern and increased climatic suitability to its establishment. The present dissertation aims to review the current knowledge of dengue as a public health problem and a challenge to the immune system, assess the future potentialities of dengue in Portugal and in Europe, and suggest actions to a greater prevention state in case of a future outbreak and the presence of dengue in Europe once again.

KEYWORDS: DENGUE VIRUS, AEDES ALBOPICTUS, AEDES AEGYPTI, SEVERE DENGUE, PORTUGAL, EUROPE, IMMUNOPATHOGENESIS, SURVEILLANCE, CONTROL, FUTURE

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS.....	I
RESUMO	II
ABSTRACT	III
ÍNDICE.....	IV
ÍNDICE DE FIGURAS	V
LISTA DE ACRÓNIMOS	VI
OBJETIVOS	VIII
METODOLOGIA.....	IX
DESENVOLVIMENTO	1
1. Introdução	1
2. Características gerais da dengue	5
Vírus.....	5
Vetor.....	7
Manifestações Clínicas da Dengue	10
Dengue severa	13
Imunopatogénese da dengue	14
Diagnóstico	22
Tratamento	24
3. Estratégias de vigilância e controlo	25
Vigilância do vetor e da doença na Europa	25
Controlo do vector.....	28
4. A dengue no passado.....	29
Surto de dengue na Madeira	31
5. Situação atual da dengue e seus vetores	33
Na Europa	34
6. Perspetivas futuras.....	37
O Clima e a Dengue.....	37
Na Europa	40
Vacinas, antivirais e métodos de controlo de vetor	44
7. Discussão	49
8. Conclusão.....	55
REFERÊNCIAS.....	56

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Países ou áreas no Mundo onde houve reporte de dengue em 2013, com dados recolhidos pela OMS	1
FIGURA 2. Número médio de casos de dengue e dengue severa reportados à OMS anualmente entre 1955 e 2007, e número de casos reportados mais recentemente, entre 2008 e 2010	2
FIGURA 3. Vírus da dengue (DENV): a) representação do aspeto exterior do vírus; b) representação da estrutura do vírus.....	5
FIGURA 4. <i>Aedes aegypti</i>	9
FIGURA 5. <i>Aedes albopictus</i>	10
FIGURA 6. Nova classificação de um caso provável de dengue e níveis de severidade	11
FIGURA 7. Immunopatogénese da dengue severa em infeções secundárias.....	17
FIGURA 8. O mecanismo de neutralização e potencialização despoletado pelos Ac específicos para o vírus da dengue.....	19
FIGURA 9. Esquema simplificado do ciclo de vida do vírus da dengue e fonte dos antigénios..	20
FIGURA 10. O ciclo de vida do vírus da dengue e a fonte dos antigénios	21
FIGURA 11. Procedimentos e assuntos principais na vigilância de mosquitos invasores e doenças transmitidas por mosquitos na Europa	26
FIGURA 12. Dispersão do mosquito <i>Aedes albopictus</i> na Europa, 1995-2011	31
FIGURA 13. Distribuição atualmente conhecida do vetor <i>Aedes albopictus</i> na Europa em janeiro de 2015, com dados recolhidos por VBORNET	35
FIGURA 14. Distribuição atualmente conhecida do vetor <i>Aedes aegypti</i> na Europa em janeiro de 2015, com dados recolhidos por VBORNET	35
FIGURA 15. Distribuição geográfica do vetor <i>Aedes aegypti</i> em Portugal Continental e Ilha da Madeira em 2013, segundo o relatório da REVIVE	36
FIGURA 16. Diagrama das influências biofísicas na ecologia do DENV, com as interações entre as variáveis do clima, vetores, e o vírus.....	38
FIGURA 17. Adequabilidade climática para o <i>Aedes Aegypti</i> no final do século XX (A) e projetada (2011-2040) (B) na Europa, com a localização de portos importantes, segundo Fischer et al.	41
FIGURA 18. Construção da vacina tetravalente da Sanofi Pasteur.....	46
FIGURA 19. A estratégia global da OMS para a prevenção e controlo da dengue 2012-2020...	49

LISTA DE ACRÓNIMOS

Ac	Anticorpo(s)
ADE	<i>Antibody-dependent enhancement</i> / potenciação dependente de anticorpos
ALT	Alanina transaminase
ARS	Administrações Regionais de Saúde
AST	Aspartato aminotransferase
CYD-TDV	Vacina da dengue viva atenuada e tetravalente (<i>ChimeriVax Dengue</i>)
DALY	<i>Disability-adjusted life year</i> / esperança de vida corrigida pela incapacidade
DC-SING	<i>C-type lectin ICAM3-grabbing non-integrin</i>
DDT	Diclorodifeniltricloroetano
DENFREE	<i>Dengue research Framework for Resisting Epidemics in Europe</i>
DengueTools	<i>Innovative Tools and Strategies for the Surveillance and Control of Dengue</i>
DENV	Vírus da dengue
DGS	Direcção-Geral da Saúde
DHF	<i>Dengue hemorrhagic fever</i> / febre hemorrágica da dengue
DSS	<i>Dengue shock syndrome</i> / síndrome do choque da dengue
ECDC	<i>European Centre for Disease Prevention and Control</i> / Centro Europeu de Prevenção e Controlo das Doenças
EEE	Espaço Económico Europeu
E3 Geoportal	European Environment and Epidemiology Network/ Rede Europeia de Ambiente e Epidemiologia
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i> / ensaio de imunoabsorção enzimática
EMCA	<i>European Mosquito Control Association</i> / Associação Europeia para Controlo de Mosquitos
FFCUL	Fundação da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa
GIS	<i>Geographic information system</i> / sistema de informação geográfica
HMGB	<i>High-mobility group box</i>
IA Saúde	Instituto de Administração da Saúde e Assuntos Sociais da Região Autónoma da Madeira
IDAMS	<i>International Research Consortium on Dengue Risk Assessment, Management, and Surveillance</i>
IFN	Interferão
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M

IL	Interleucinas
ILC	<i>Innate lymphoid cells</i> / células linfoides inatas
INSA	Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge
IPATIMUP	Instituto de Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto
IPCC	<i>Intergovernmental Panel on Climate Change</i> / Painel Intergovernamental para as Alterações Climáticas
MDA5	<i>Melanoma-differentiation associated protein 5</i>
MCP	<i>Monocyte chemoattractant protein</i>
MHC	<i>Major histocompatibility complex</i> / complexo principal de histocompatibilidade
NK	<i>Natural killer</i>
NS	<i>Nonstructural</i> / não-estrutural
OMS/WHO	Organização Mundial de Saúde
PDC	<i>Partnership of Dengue Control</i>
Proteína C	Proteína do capsídeo
Proteína E	Proteína do envelope
Proteína M	Proteína da membrana
prM	Proteína precursora de membrana
RE	Retículo endoplasmático
REVIVE	RE de de VI gilância de Ve tores
RIDL	<i>Release of insects with dominant lethality</i> / libertação de insetos com letalidade dominante
RIG-1	<i>Retinoid acid-inducible gene 1</i>
RNA	<i>Ribonucleic acid</i> / ácido ribonucleico
RT-PCR	<i>Reverse transcription polymerase chain reaction</i> / Transcrição reversa seguida de reação em cadeia de polimerase
SIT	<i>Sterile insect technique</i> / técnica de inseto estéril
SNS	Sistema Nacional de Saúde
SRES	<i>Special Reports on Emissions Scenarios</i> / Relatórios Especiais de Cenários de Emissões
TESSy	<i>The European Surveillance System</i>
TLR	<i>Toll-like receptors</i>
TNF	<i>Tumor necrosis factor</i> / fator de necrose tumoral
tPA	<i>Tissue plasminogen activator</i> / ativador do plasminogénio tecidual
TropNetEurop	<i>European Network in Imported Infectious Disease Surveillance</i>
UE	União Europeia
VBORNET	<i>European Network for Arthropod Vector Surveillance for Human Public Health</i>

OBJETIVOS

Com o desenvolvimento desta dissertação pretende-se a compilação apreciativa das informações mais recentes sobre a dengue enquanto problema de saúde pública e desafio ao sistema imunitário. Os seus objetivos são:

- Descrever a dengue e suas características gerais;
- Descrever o papel do sistema imune humano na patogénese e na defesa do organismo contra o vírus da dengue, tendo por base o conhecimento atual;
- Descrever os programas de vigilância e controlo atuais na Europa;
- Rever o passado do vírus da dengue e seus vetores, com ênfase no surto na Madeira em 2012, e descrever a sua situação atual na Europa e no Mundo;
- Rever as potencialidades futuras da dengue em Portugal e na Europa, e propor quais poderão ser os próximos desafios;
- Apresentar novas propostas para uma melhor preparação em caso de um hipotético surto em Portugal Continental e/ou na Madeira.

METODOLOGIA

Foi efetuada uma revisão bibliográfica, no período compreendido entre Setembro de 2014 e Maio de 2015, recorrendo-se às bases de dados de Pubmed, Organização Mundial de Saúde (OMS), Centro Europeu de Prevenção e Controlo de Doenças (ECDC), Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (INSA) e Direcção Geral de Saúde (DGS). Entre as palavras-chave utilizadas para a pesquisa, encontravam-se, em diferentes combinações, as seguintes: *dengue*, *epidemiology*, *Europe*, *Portugal*, *Aedes albopictus*, *Aedes aegypti*, *vaccine*, *vector control*, para artigos de revisão entre 2005 e 2015.

Da pesquisa obtida, retiraram-se os artigos que se entenderam como relevantes para o trabalho em causa. Foram então encontrados 27 artigos de revisão pertinentes, assim como 9 artigos originais, e 6 documentos, orientações e relatórios epidemiológicos e entomológicos. Recorreu-se também aos *sites* oficiais da OMS, ECDC, INSA e DGS. Adicionaram-se ainda dois artigos de interesse, o primeiro obtido a partir da pesquisa “innate lymphoid cells”, e o segundo a partir de “african genetic influences in Portugal”. Foram incluídos trabalhos escritos em Português e Inglês.

DESENVOLVIMENTO

1. Introdução

A dengue é uma infeção sistémica viral transmitida por mosquitos e, nas últimas décadas, passou de uma doença esporádica para um grande problema de saúde pública. Depois de ter sido negligenciada durante muito tempo, é agora considerada a principal doença causada por arbovírus e uma das mais importantes doenças emergentes a nível internacional pela Organização Mundial de Saúde (OMS), uma vez que é uma das principais causas de hospitalização e morte no mundo, principalmente de crianças em países endémicos.^[1-3]

A dengue é atualmente endémica em mais de 100 países no Sudoeste Asiático, Américas, Pacífico Oeste, África e regiões do Este Mediterrânico (FIGURA 1). Neste momento, as zonas de maior risco para a transmissão da dengue são a Ásia e as Américas, com 70% e 14% dos casos, respetivamente. Em África, sabe-se que a atividade da dengue aumentou substancialmente nas últimas décadas. Não se conhece o seu verdadeiro peso em países como Índia, Indonésia, Brasil e China, mas sabe-se que tem um elevado custo económico tanto para os seus governos como para a população.^[1, 4, 5]

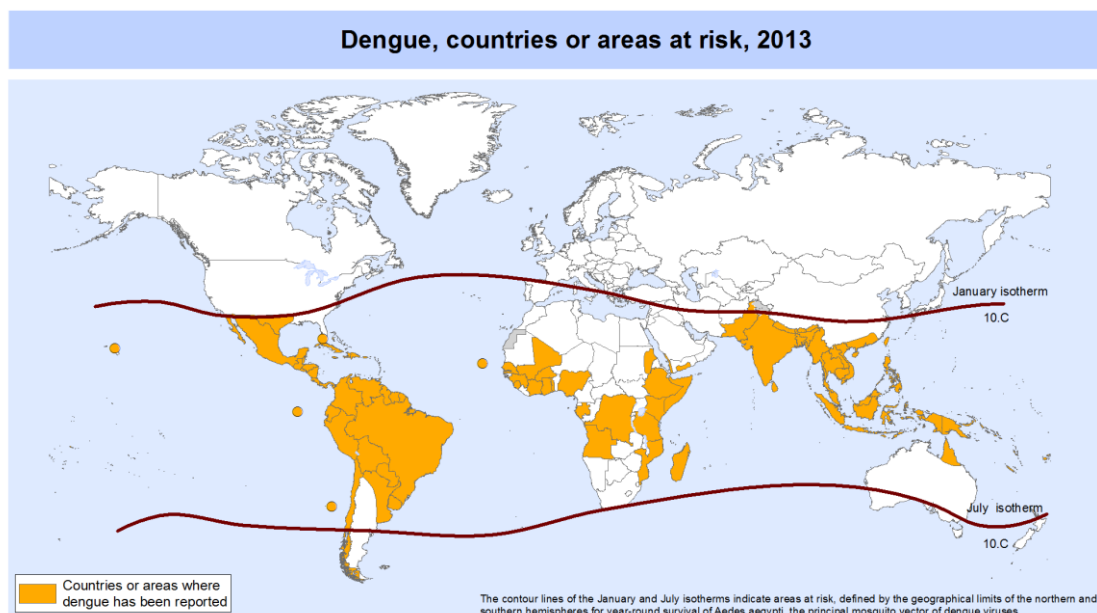


FIGURA 1. Países ou áreas no Mundo onde houve reporte de dengue em 2013, com dados recolhidos pela OMS (retirado de: http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/Global_DengueTransmission_ITHRiskMap.png, em Abril de 2015) (informação na imagem em inglês)

Apesar da combinação de métodos de controlo tanto químicos como biológicos, os mosquitos *Aedes*, transmissores da dengue, conseguiram expandir-se geograficamente, causando um aumento drástico da incidência da dengue. O valor oficial fornecido pela OMS é de 50 a 100 milhões de infeções sintomáticas por ano. Estes valores foram calculados por métodos informais e, por isso, pensa-se que a estimativa da OMS possa estar muito abaixo do real, e que o número total anual de infeções da dengue, aparentes e inaparentes, possa chegar aos 390 milhões. As razões para a disparidade entre os números reais e os reportados podem ser a baixa proporção de indivíduos infetados e com sintomatologia aparente que procuram atendimento em centros de saúde oficiais, o erro no diagnóstico, e o fracasso dos sistemas de informação em saúde em identificar e reportar os casos de dengue.^[1, 2, 4] Anualmente, o vírus da dengue (DENV) causa 500 mil episódios de dengue severa e mais de 20 mil mortes, números que também têm vindo a aumentar nas últimas décadas (FIGURA 2).^[2, 4, 6] O facto de as infeções pelo DENV serem frequentemente inaparentes tem diversas consequências negativas. Além de ocorrerem inúmeros casos de dengue não reportados, existe uma maior dificuldade em calcular o impacto económico da dengue, em conhecer melhor a sua transmissão e patogénese, em perceber o mapa atual do vírus no mundo, e na avaliação do efeito de um programa de vacinação na população num futuro possivelmente próximo.^[4]

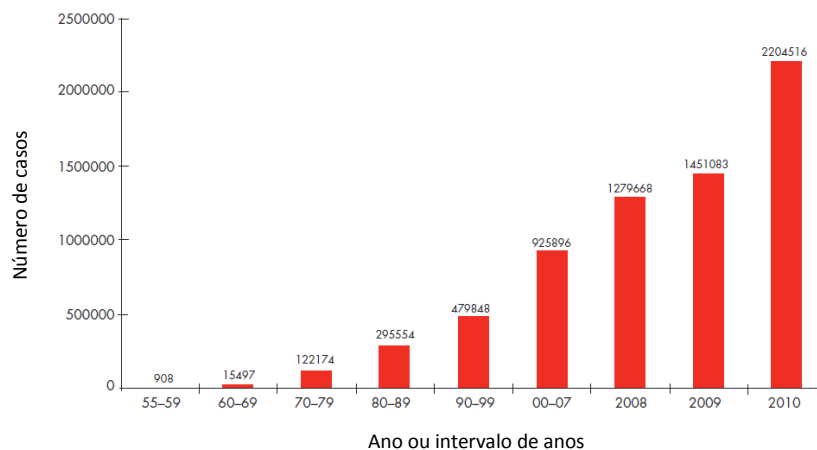


FIGURA 2. Número médio de casos de dengue e dengue severa reportados à OMS anualmente entre 1955 e 2007, e número de casos reportados mais recentemente, entre 2008 e 2010. (retirado e adaptado de: WHO (2012). Global strategy for dengue prevention and control. Geneva, World Health Organization.)

Com o aumento do risco de introdução de novos vetores invasores através de viagens internacionais e trocas comerciais, entre outros, surge também o aumento do risco de transmissão de doenças transmitidas por vetores.^[7, 8] As espécies invasivas de mosquitos são definidas pela sua habilidade de colonizar novos territórios, com possíveis consequências negativas na economia, ambiente e saúde pública.^[9] Ironicamente, a ação humana é o

principal meio de introdução de espécies invasivas, uma vez que estas estão bem adaptadas a ambientes antropogénicos, onde há abundância em alimento e locais de reprodução de larvas.^[10]

Atualmente, são inúmeros os locais onde se juntam o vírus, o vetor e o hospedeiro, requisitos para uma transmissão sustentável da dengue, ajudados por fatores ambientais favoráveis à propagação do vetor.^[4, 7] Estes fatores não se referem só ao ambiente físico, como a elevados níveis de precipitação e temperatura, mas também a alterações demográficas e sociais dos passados 50 a 60 anos, em que se incluem a urbanização não controlada, a falta de saneamento, o aumento do fluxo de pessoas provocado por uma maior facilidade em viajar, medidas de saúde pública ineficientes e evolução do vírus e vetor.^[1, 6, 7]

O crescimento das cidades de forma não planeada e o aparecimento de áreas fortemente conectadas, provocados por um aumento rápido da população, é referido como um dos principais impulsionadores, uma vez que levou à existência de grandes populações humanas em espaços lotados. Também a facilidade atual das viagens aéreas apresenta-se como um fator de peso, uma vez que os mosquitos *Aedes* têm um raio pequeno de voo, o que dificulta a propagação em grandes distâncias. Tem que se ter em conta, porém, que parte do aumento dos números da incidência da dengue se deve ao aumento da capacidade no reporte de infeções.^[1, 4, 6, 7] Assim, os fatores etiológicos com impacto na transmissão da dengue incluem fatores climáticos, sociodemográficos, económicos e de comportamento humano, sendo este último fortemente influenciado pela educação.^[2, 11]

Com o aquecimento global do planeta, os processos de invasão das espécies poderão exibir uma nova dinâmica, apresentando novos desafios para os europeus.^[10, 12] O uso de modelos matemáticos tem ajudado a compreender múltiplos aspetos da transmissão da dengue, como também a prever os estados futuros do vetor e do vírus na Europa e no Mundo.^[1]

Só por meio aéreo viajam anualmente para a Europa mais de 100 milhões de pessoas, ligando o continente a áreas endémicas da dengue e outras doenças infecciosas emergentes. O culpado pela importação dos vetores, no entanto, parece ser o transporte marítimo de mercadorias. Entre as espécies invasivas, estão os dois principais vetores da dengue, *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, do subgénero *Stegomyia*. O primeiro, o vetor primário da doença, voltou recentemente à Europa, estabelecendo-se na Madeira e na costa do mar Negro, enquanto o segundo está agora presente em algumas zonas do sul da Europa, com projeções recentes a apontarem para uma dispersão para o interior do continente. Apesar de sempre terem havido doenças transmitidas por mosquitos autóctones na Europa, tornaram-se recentemente um desafio para as autoridades de saúde pública europeias, principalmente em

relação ao *A. albopictus*. Este causou já diversos surtos de dengue e chikungunya nos últimos anos no sul da Europa, o que demonstra a vulnerabilidade da região para estas doenças quando existe um vetor eficaz.^[10, 12-14]

A dengue compreende um espectro de síndromes clínicas, desde a febre da dengue, uma doença febril não específica, até a dengue severa, caracterizada por vazamento capilar, complicações de sangramento, danos em órgãos e potencialmente a morte. Os governos e organizações para controlo da dengue focam-se mais em programas de controlo do vetor, uma vez que ainda não estão disponíveis nem vacina nem medicamentos antivirais específicos. Ainda assim, com um diagnóstico na fase inicial e com a gestão clínica apropriada, a taxa de mortalidade da dengue pode ser inferior a 1%.^[1-3]

Apesar de a mortalidade ser aparentemente baixa quando comparada com outras doenças transmitidas por vetores, a preocupação surge quando em muitas regiões são as crianças e jovens adultos as principais vítimas da dengue severa e os que apresentam maior taxa de mortalidade. Devido a isto e a outras características da doença, a dengue absorve grandemente os recursos dos sistemas de cuidados de saúde nos países onde é endémica, além de ser a principal causa de doença sistémica febril em viajantes.^[6, 7] Assim, é importante que a dengue seja tida em consideração não só nos países endémicos mas a nível global, uma vez que muitos especialistas defendem que irá haver uma maior expansão geográfica da dengue, assim como a sua incidência e números apresentados à OMS.^[2]

2. Características gerais da dengue

VÍRUS

A dengue é causada por um de quatro serotipos do vírus - DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4-, compostos por uma cadeia única positiva de RNA. Estes vírus fazem parte do género flavivírus, da família Flaviviridae, que inclui também o vírus da febre-amarela e o vírus da encefalite japonesa. O seu genoma codifica três proteínas estruturais, para o capsídeo (C), membrana (M) e envelope (E), e sete proteínas não estruturais (*nonstructural*), NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5. A proteína E tem três domínios (EDI, EDII e EDIII), sendo que a sequência de aminoácidos do domínio III é a que apresenta maior variabilidade entre serotipos. As proteínas estruturais são componentes da partícula viral madura, enquanto as proteínas NS são expressas apenas na célula infetada e não são empacotados em níveis detetáveis nas partículas virais. O virião da DENV é então composto por um envelope lipídico modificado pela inserção de proteínas do envelope e proteínas pré-membranares/membranares (prM/M) (FIGURA 3). A proteína prM é clivada durante a maturação do virião, por uma protéase do tipo furina, dando origem à proteína M. Os quatro serotipos do DENV evoluíram de um ancestral comum (mais provavelmente de origem asiática) em primatas não-humanos, e pensa-se que cada um entrou independentemente uns dos outros no ciclo urbano há cerca de 500-1000 anos atrás.^[2, 15-17]

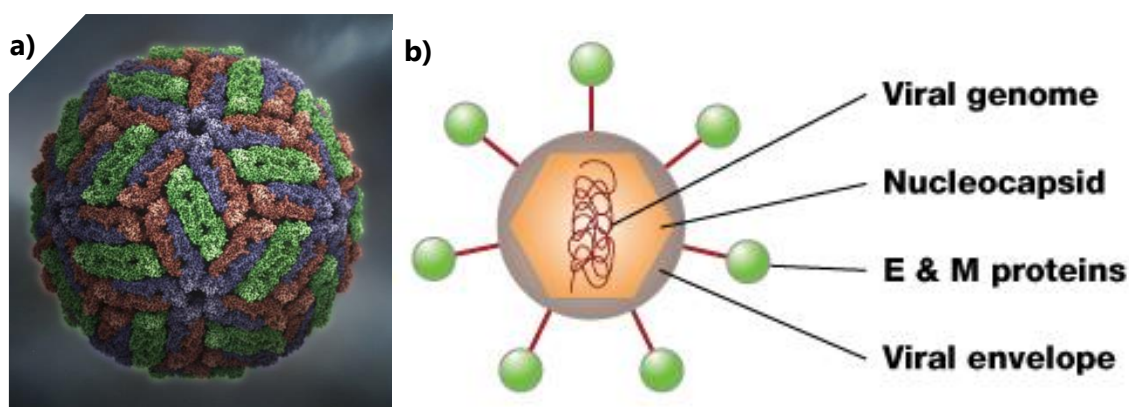


FIGURA 3. Vírus da dengue (DENV): a) representação do aspeto exterior do vírus; b) representação da estrutura do vírus. (figura a) retirada de: <http://www.virology.wisc.edu/>, em Maio de 2015; figura b) retirada de: <http://www.nature.com/scitable/topicpage/dengue-viruses-22400925>, em Maio de 2015) (informação da figura em inglês)

É a reatividade serológica às proteínas do envelope que define os serotipos do DENV. Os quatro serotipos são geneticamente diversos e partilham uma semelhança limitada – entre 60 a 70% - ao nível dos aminoácidos, o que representa aproximadamente o mesmo nível de relação genética que o vírus do *West Nile* partilha com o vírus da encefalite japonesa.^[15, 18] Há

uma variação genética abundante dentro de cada serotipo, sendo que 4 a 5 genótipos foram identificados por serotipo.^[3] As variações genéticas determinam a capacidade viral, a virulência e o potencial epidémico. Foram associados serotipos e genótipos com manifestações clínicas e severidade diferenciadora.^[1, 5] Assim, os DENV podem ter um impacto epidemiológico baixo, médio ou alto, de acordo com a possibilidade de transmissão humana e a severidade clínica das epidemias da dengue. Um caso que demonstrou diferenças nas virulências de diferentes genótipos foi a substituição da DENV2 americana, mais benigna, pela estirpe asiática do mesmo serotipo, associada a mais casos de dengue severa.^[2, 3]

Os DENVs estão presentes em ambiente urbano e em áreas florestais. O primeiro é onde ocorre a maioria da transmissão para o homem, e onde este e o mosquito são os únicos hospedeiros. No segundo, a transmissão ocorre normalmente entre primatas não humanos. Cada serotipo do DENV possui genótipos tanto de origem silvática como de origem urbana, estando neste último grupo as estirpes endémicas. No entanto, observou-se que ambos os tipos de estirpes podem causar infeção e dengue severa.^[5, 19]

Apesar de não aparecer muito referido na literatura, foi anunciado, em Outubro de 2013, um novo serotipo do vírus da dengue, DENV-5.^[19-21] O DENV-5 terá infetado um indivíduo hospitalizado no estado de Sarawak, na Malásia, em 2007. Apesar de se pensar no início que seria um caso causado por um DENV-4 de origem silvática que circula entre primatas nas florestas do Sudeste Asiático, vieram a verificar que o vírus em questão tinha mais similaridade com o DENV-2. Uma das causas prováveis para a ocorrência deste salto do círculo silvático para o urbano será a perturbação do nicho ecológico na área geográfica em causa, devido à desflorestação e atividades consequentes, como o movimento populacional não controlado e urbanização não planeada. Neste pequeno surto em Sarawak, de entre algumas pessoas infetadas, apenas um indivíduo foi admitido no hospital, o que indica que a doença causada por este novo serotipo deverá ser moderada. Quando se veio a testar a infeção do DENV-5 em macacos *rhesus* que tinham sido pré-infetados com os outros quatro serotipos, verificou-se que produziam um conjunto significativamente diferente de anticorpos, provando assim que seria de facto um novo serotipo e não uma variante do DENV-4. Este novo serotipo, apenas encontrado nas florestas de Sarawak, circula primariamente em primatas não-humanos e segue o círculo silvático, ao contrário do que acontece nos outros quatro serotipos. Isto sugere que a barreira adaptativa para a emergência de estirpes silváticas em humanos seja fraca ou mesmo inexistente.^[20] No entanto, desde 2007, não ocorreu mais nenhum surto, e, apesar de se pensar que o DENV-5 não tenha uma taxa de transmissão elevada, ainda não se sabe qual poderá ser a sua significância global na saúde pública.^[20, 21]

VETOR

A capacidade vetorial é específica para uma população de uma espécie de mosquitos, num contexto natural definido^[10], e é demonstrada pela equação:

$$C = \frac{bma^2p^n}{-\ln p}$$

Sendo:

- **b** a competência do vetor, ou seja, a proporção de vetores em que se desenvolvem os estádios em que os agentes patogénicos podem infetar
- **m** a densidade vetorial
- **a** a taxa de alimentação diária com sangue do vetor na espécie hospedeira
- **p** a taxa de sobrevivência diária do vetor
- **n** o tempo, em dias, para o agente patogénico atingir a saliva do vetor (período de incubação extrínseco)^[13]

Quando se compara a capacidade vetorial do *Aedes aegypti* e do *Aedes albopictus*, apesar de se verificar que as competências são semelhantes, outros aspetos diferem. No primeiro, as fêmeas também mordem em interiores e quase exclusivamente em humanos, além de se alimentarem diversas vezes e de diferentes indivíduos, durante o ciclo gonotrófico. O *A. albopictus* alimenta-se apenas uma vez por ciclo gonotrófico, e pensa-se que o faz geralmente no espaço exterior (apesar de haver relatórios de que foram encontrados a alimentarem-se no interior e da utilização de contentores interiores para a deposição de ovos). *A. albopictus* tem densidade populacional superior. O *n* para a dengue pensa-se que seja cerca de 15 dias a 25°C.

[13, 22]

Em geral, o *A. aegypti* é menos suscetível a uma infeção pelo DENV que o *A. albopictus*. Isto poderá funcionar como um mecanismo de seleção para estirpes da dengue mais virulentas, uma vez que uma suscetibilidade mais baixa necessita de uma carga viral mais elevada no hospedeiro humano para que o mosquito fique infetado. Níveis mais altos do vírus no sangue, como se vai ver mais à frente, estão relacionados com quadros clínicos mais severos. Por outro lado, o *Aedes albopictus* pode transmitir estirpes que não necessitam de níveis de carga viral tão elevados, o que explicaria o facto de o *Aedes albopictus* não estar associado a grandes surtos.^[17]

Os habitats das larvas de ambas as espécies são recipientes de água natural, tanto naturais como antropogénicos. Os ovos são depositados acima da linha de água, e, através da diapausa, as espécies conseguem sobreviver viva em condições menos favoráveis, uma vez que, assim, ovos mostram uma grande resistência ao calor, à seca e ao frio. Os mosquitos só se tornam vetores quando se alimentam de sangue humano de um doente infetado com o DENV durante os 5 dias habituais de viremia. Depois de um período de incubação extrínseco, o vírus passa do trato intestinal para as glândulas salivares. Este processo demora cerca de 10 dias (*n*), mas pode ser mais rápido a temperaturas mais elevadas.^[13, 15]

O subgénero *Stegomyia* contém ainda outras espécies invasivas que poderão ser de interesse para a propagação da dengue e que estão presentes na região europeia da OMS, como o *Aedes japonicus*, *A. vittatus*, *A. Cretinus*, *A. galloisi*, *A. flavopictus* e *A. sibiricus* (os três últimos estão apenas presentes em regiões do este da Rússia).^[13] O *Aedes japonicus* está agora vastamente estabelecido no norte da Suíça e sul da Alemanha, e a sua capacidade para sobreviver a temperaturas de inverno e velocidade de dispersão sugerem que se pode dispersar para o resto da Europa.^[22]

Aedes aegypti

O principal transmissor da dengue em humanos, isto é, o seu vetor primário, é o *Aedes aegypti* (FIGURA 4). Está vastamente expandido nas regiões tropicais e subtropicais do globo, pensando-se que tenha emergido de África ou Ásia no decorrer das trocas comerciais humanas e comerciais do século XV ao XIX. A sua expansão a nível global ocorreu nos últimos 50 anos devido ao aumento de viagens e trocas comerciais. O *A. aegypti* é um ótimo vetor, uma vez que tem uma elevada afinidade com o sangue humano, grande suscetibilidade para todos os serotipos do vírus da dengue, e está muito bem adaptado ao ambiente urbano. Reproduz-se dentro e em redor de casas em contentores regulares de água e, devido ao voo de alcance limitado, a fêmea tende a persistir em ambiente doméstico. Isto leva a crer que os humanos foram uma das principais causas, se não maior, para a surpreendente dispersão da dengue.^[2, 5, 13]

O *Aedes aegypti* é, também, um vetor altamente eficaz para o vírus da febre-amarela, sendo a causa de diversos surtos no passado em cidades europeias e já foi implicado em surtos de chikungunya em países africanos.^[10]

Este vetor distribui um pequeno número de ovos em inúmeros locais diferentes. Este motor de dispersão dificulta a eficácia de medidas de supressão de transmissão da dengue através de secagem de criadouros e utilização focal de ovicidas. Pensa-se que os limites mínimos da

temperatura para a persistência do *Aedes aegypti* são 10°C em Janeiro ou temperatura média anual de 15°C, sendo os seus ovos altamente sensíveis ao gelo. Regiões europeias identificadas como habitats adequados para o *A. aegypti* foram os da costa mediterrânea, do Mar Negro e do Mar Cáspio.^[13, 16]



FIGURA 4. *Aedes aegypti* (retirado de: <https://www.vectorbase.org/>, em Abril de 2015)

O *Aedes aegypti* não faz diapausa de inverno em nenhum estágio do ciclo de vida, como o faz o *Aedes albopictus*, utilizando então locais abrigados em ambiente doméstico, o que lhe fornece proteção contra condições ambientais adversas e numerosos habitats aquáticos suscetíveis para oviposição.^[22, 23]

Aedes albopictus

O vetor secundário da dengue, o mosquito *Aedes albopictus* (FIGURA 5), originário do sudeste asiático, expandiu-se dramaticamente a nível global nos últimos anos, sendo hoje considerado o vetor transmissor de doença mais invasivo. Pensa-se ter sido o vetor responsável por muitos surtos da dengue a nível mundial. A sua rápida expansão foi provavelmente causada pela globalização das trocas comerciais, particularmente de pneus usados. Ao contrário do mosquito comum, a dispersão deste mosquito é causada principalmente pelo transporte involuntário humano em vez de pela dispersão natural. De facto, foi observado em Itália um baixo potencial de dispersão do *A. albopictus*, com um limite de voo de 300 m à volta dos recipientes de reprodução. Há a notar, ainda, que esta espécie, ao contrário do *A.aegypti*, se alimenta também de outros vertebrados. Há zonas, porém, onde este mosquito se alimenta quase exclusivamente de sangue humano, como na Tailândia, e esta preferência exibida por estas estirpes do mosquito aumentam o potencial de transmissão do DENV entre humanos.^[2, 5, 12, 13, 24]

Além da dengue, sabe-se que o *A. albopictus* é competente para transmitir outros 21 arbovírus, entre os quais, e ainda com maior afinidade que o DENV, o vírus da chikungunya. É também um vetor conhecido do nemátodo *Dirofilaria filarial*, causador da dirofilariose principalmente em cães. Aliás, o facto de esta espécie se alimentar de outros animais além do homem faz com que possa transmitir zoonoses.^[9, 10]



FIGURA 5. *Aedes albopictus* (retirado de: <https://www.vectorbase.org/>, em Abril de 2015)

Este vetor tem-se adaptado aos climas temperados da Europa e EUA.^[11] Os valores métricos e os valores limite usados em modelos para este mosquito foram 11°C de temperatura média anual, precipitação anual média de 500 mm, temperatura de verão média entre 15°C e 30°C (com temperatura ótima entre os 20 e os 25°C) e temperatura média em Janeiro de 0°C, sendo que novos dados levam a crer que os valores de precipitação e de temperatura média em janeiro podem ser mais baixos. Uma limitação usual dos modelos é que nenhum prevê pontos de temperatura demasiado baixos (os ovos do *A. albopictus* têm uma mortalidade elevada quando expostos a temperaturas abaixo dos 7°C) nem verões de duração superior ao normal.^[13]

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA DENGUE

Em 2009, a OMS alterou o esquema de classificação da dengue. A classificação anterior dividia-se em febre da dengue, ligeira, e febre hemorrágica da dengue (DHF), severa. A DHF dividia-se, por sua vez, em quatro graus, sendo que o DHF III e IV compreendiam a síndrome de choque da dengue (DSS). O DSS distingue-se do DHF pela presença de comprometimento

cardiovascular. Agora, são utilizadas simplesmente as noções de dengue, com ou sem sinais de aviso, e dengue severa, caso o doente apresente alguma das seguintes condições: vazamento de plasma (com conseqüente choque), acumulação de fluido suficiente para causar dificuldade respiratória, sangramento severo e/ou danos severos de órgãos, nomeadamente miocardite, hepatite e encefalite (FIGURA 6).^[1, 3, 15]

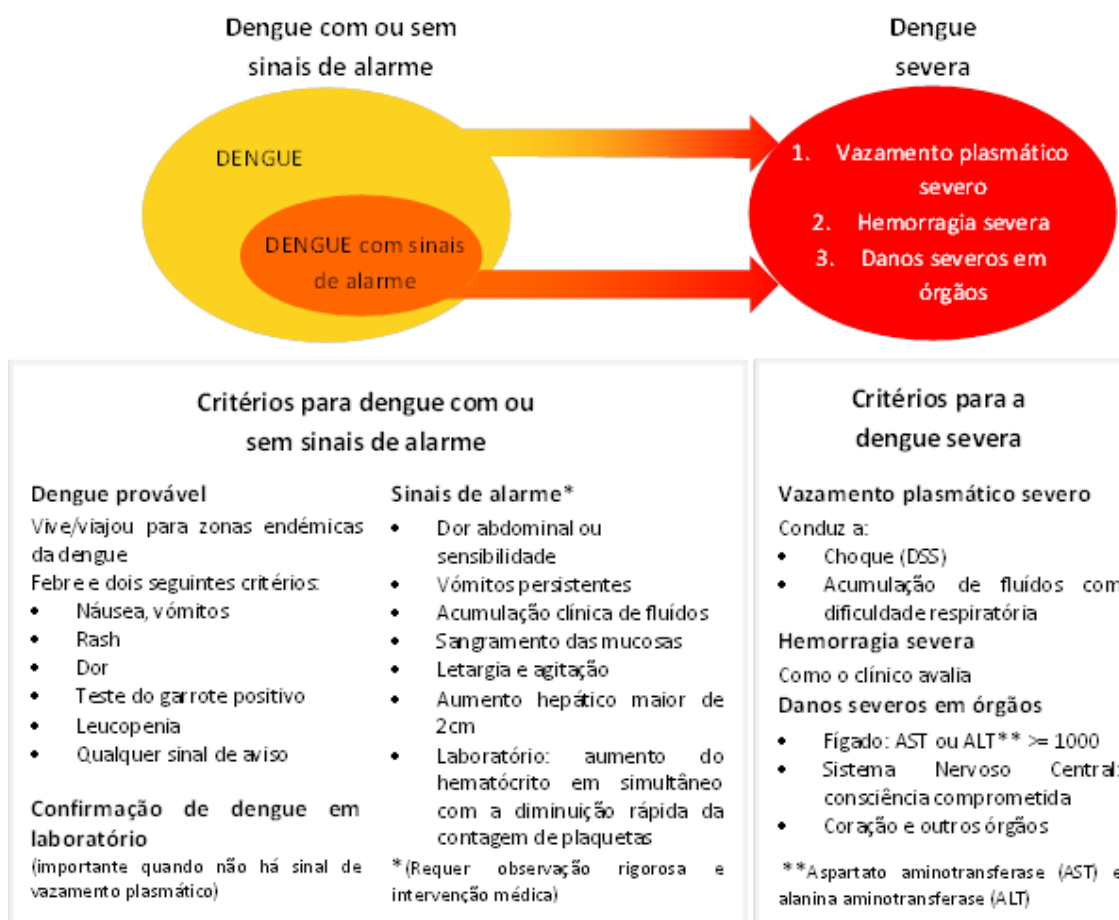


FIGURA 6. Nova classificação de um caso provável de dengue e níveis de severidade. (retirado e adaptado de: WHO. Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. WHO/HTM/NTD/DEN/2009.1. World Health Organization; 2009.)

Uma vez que esta nova classificação está mais virada para a vertente de diagnóstico e níveis de severidade, a alteração ajuda na triagem e na aplicação do tratamento ajustado às necessidades do doente. Já diversos estudos revelam que houve um aumento da sensibilidade na identificação de casos severos com esta mudança: 13,7% dos casos da dengue não podiam ser classificados usando o esquema antigo, em contraste com o 1,6% do novo esquema. Contudo, surgiu a questão se não terá inflacionado o número de casos, com conseqüente aumento do peso económico da dengue em países endémicos com poucos recursos.^[1, 3, 25]

A febre da dengue é também referida como a febre do quebra-osso (*break bone fever*), devido às fortes dores musculares e articulares, ou, ainda, febre dos 7 dias. Na maioria das infeções pelo DENV, o infetado é assintomático. Nos casos em que isto não acontece, depois de um período de incubação entre 3 a 15 dias (normalmente 5 a 8), o indivíduo infetado com o DENV inicia abruptamente uma fase febril inicial, de 3 a 7 dias. Durante este período, pode ter febre (39-40 °C), dor de cabeça, vômitos, mialgia, *rash* macular na pele, assim como hipotensão e manifestações hemorrágicas localizadas (como no nariz e gengivas), sendo que, no fim, a maioria dos doentes recupera sem complicações. Durante a fase febril, a desidratação pode também causar distúrbios neurológicos e convulsões em crianças pequenas.^[1, 2, 17, 19]

A extensão da replicação do DENV durante a fase inicial da infeção está relacionada com a severidade da doença. Estranhamente, a dengue severa ocorre durante a limpeza viral, em que a viremia atinge valores mais baixos. Por volta da defervescência, o doente, predominante mas não exclusivamente jovem adulto ou criança, pode entrar nesta fase crítica, que pode ser marcada por trombocitopenia e por um aumento da permeabilidade vascular. Este aumento, por sua vez, pode resultar em hemorragias (DHF), assim como aumento da hemoconcentração, hipoproteinemia, derrame pleural, ascite, entre outros.^[2, 5, 26]

Se houver uma perda significativa do volume plasmático, o organismo terá necessidade de recorrer aos mecanismos compensatórios, diminuindo, por exemplo, a pressão de pulso. Se esta descida ficar igual ou inferior a 20 mmHg, pode levar ao colapso vascular periférico, e desenvolvimento da DSS. Isto conduz a um choque hipovolémico, resultando em danos de órgãos, acidose metabólica, coagulação intravascular disseminada e hemorragia severa. Em autópsias de casos fatais, o DENV chegou a ser encontrado na pele, fígado, baço, nódulos linfáticos, rins, medula óssea, pulmões, timo e cérebro. Se a dengue severa não for tratada, a mortalidade pode chegar aos 20%, em contraste com o valor inferior a 1% no caso da administração de tratamento adequado. Assim, nos 4 a 7 dias da fase crítica, é essencial que o médico esteja atento a sinais de aviso, como vômitos persistentes e dor abdominal severa, aumento rápido de hematócrito e pressão sanguínea reduzida, sinais de que o doente está a sofrer um vazamento vascular clinicamente significativo.^[1, 5, 25]

Apesar de os doentes recuperarem da maior parte dos sintomas com alguma rapidez (48 a 72 horas), os adultos podem ter ainda fadiga profunda durante várias semanas depois. De facto, a persistência de certos sintomas, como artralgia e fadiga, em doentes adultos até 2 anos depois da recuperação, foi reportada em 57% dos doentes com dengue estudados. Os

custos humanos e económicos associados às sequelas deixadas pela doença não são conhecidos e deveriam ser melhor estudados.^[1, 5]

DENGUE SEVERA

Estudos epidemiológicos realizados em diferentes partes do mundo sugerem que a dengue severa ocorre maioritariamente em indivíduos durante uma infeção secundária por um serotipo do DENV diferente da primeira infeção, e em crianças com uma infeção primária nascidos de uma mãe imune à dengue. Quando um individuo é infetado com um serotipo do DENV, terá uma proteção sólida e presumivelmente para o resto da vida contra esse mesmo serotipo, ou seja, tem imunidade monotípica. Curiosamente, o doente tem ainda imunidade heterotípica (contra um novo serotipo da dengue), mas apenas de curta duração, que pode chegar aos 6 meses, mas que na maior parte dos casos não passa dos 3. Quanto menor o intervalo, maior a proteção. Aliás, verificou-se que um intervalo de tempo aumentado entre as infeções está associado a um maior risco de severidade e maior número de casos fatais. Este é um grande desafio paradoxal para as farmacêuticas e para o desenvolvimento de uma vacina segura. Outras características da infeção secundária podem influenciar o seu resultado, como o conteúdo genético do DENV e a sequência de serotipos.^[1, 16, 27] A sequência de serotipos vai afetar a magnitude da resposta de células T, sendo que uma infeção provocada pelo DENV-1, seguido por outra pelo DENV-2 ou pelo DENV-3, ou do DENV-3 para o DENV-2, são particularmente severas.^[1] Também se pode desenvolver a dengue severa durante infeções primárias, resultado de uma complexa combinação de fatores do vírus e do hospedeiro. Não se conhece bem até que ponto as infeções terciárias e quaternárias contribuem para a severidade da doença. No entanto, estudos e censos epidemiológicos apontam que o risco é baixo^[1, 15], sendo que Olkowski *et al.* até defende que as infeções pós-secundárias reduzem o risco da doença.^[28] Foi a limitação ao nível da proteção cruzada entre os quatro serotipos que permitiu que eles possam estar presentes na mesma área geográfica.^[17]

Algumas características do hospedeiro foram associadas à forma severa da dengue, como a idade, asma, diabetes, hipertensão, anemia falciforme, sexo feminino, algumas etnias específicas, grupo sanguíneo AB, polimorfismos genéticos dos genes do complexo principal humano de histocompatibilidade (MHC) classe 1 e das sequências promotoras do TNF e IFN γ , e outras características genéticas. Por outro lado, variantes genéticas do recetor da vitamina D e dos genes do Fc γ RIIA e do DC-SIGN1 (recetor falado mais à frente) estão associados a resistência à dengue severa. Observou-se que existe uma redução na severidade da doença em

indivíduos de raça negra infetados com o DENV, em oposição aos de raça caucasiana. A idade parece também ter um papel importante no resultado do fenótipo da dengue. Apesar de a dengue ter sido considerada durante muito tempo uma doença infantil em áreas endémicas, estudos recentes indicam que há uma tendência crescente de infeções pelo DENV em indivíduos mais velhos e até em idosos. No entanto, apesar de os doentes adultos terem maior probabilidade de desenvolverem sintomatologia que as crianças, tanto em infeções primárias como secundárias, as crianças com sintomatologia têm uma maior probabilidade de desenvolver DSS e morte. Verificou-se até uma maior taxa de admissão hospitalar e casos fatais em crianças durante a infeção secundária, podendo isto dever-se às diferenças a nível de permeabilidade microvascular.^[1, 3, 15, 27] Também alguns tipos de medicação, como a aspirina, podem ser nocivos para o doente com dengue, uma vez que podem aumentar a tendência de sangramento.^[3]

IMUNOPATOGÉNESE NA DENGUE

Um desfecho protetor ou patológico no doente depende do balanço entre os antecedentes genéticos e imunológicos do hospedeiro e os fatores virais. O conhecimento da patogénese da dengue é ainda muito limitado, com muitas teorias e hipóteses.^[1, 25]

A fisiopatologia base da dengue severa é multifatorial. Mas tudo começa quando o vetor, com a intenção de se alimentar, infeta involuntariamente o indivíduo.^[25]

Em adultos, infeções primárias com qualquer um dos quatro serotipos de dengue, mas particularmente DENV-1 e DENV-3, resultam muitas vezes em febre da dengue. No entanto, são o DENV-2 e o DENV-3 os mais associados a surtos de dengue severa, enquanto o DENV-1 e o DENV-4 foram associados a fenótipos mais ligeiros. Os DENVs invadem o organismo no local de mordida do mosquito e infetam, através do recetor não específico DC-SIGN, as células de Langerhans, células dendríticas da derme. Outros recetores que se pensa que estejam envolvidos na entrada do DENV nas células do hospedeiro são proteína de ligação da manose, sulfato de heparan e ácido condroitinossulfúrico. Depois de o vírus entrar na célula por endocitose, o pH baixo do endossoma leva a que glicoproteínas do vírus mediem a fusão das membranas viral e celular, libertando o RNA viral para o citoplasma. Quando as células dendríticas infetadas amadurecem, migram para nódulos linfáticos locais ou regionais, onde apresentam os antígenos virais às células T, iniciando assim as respostas imunes celular e humoral. Péptidos virais são apresentados na superfície celular depois de o vírus infetar monócitos e macrófagos. A posterior interação destas células com células T de memória induz a proliferação e produção de citocinas pró-inflamatórias. Estas citocinas irão afetar

diretamente células endoteliais vasculares, sendo uma das causas possíveis para o vazamento plasmático que ocorre em casos mais severos. Isto não é, porém, provocado pela lise das células endoteliais, mas, ao que tudo indica, por alterações na função do endotélio enquanto barreira e não se sabe ainda se é o vírus que afeta diretamente a permeabilidade da barreira, ou se são os mediadores imunes libertados pelo próprio organismo que aumentam a permeabilidade. Muitos estudos relacionam grandes quantidades de citocinas com a ocorrência de dengue severa e já foi sugerido usá-las como biomarcadores de progressão da doença. O *timing* do vazamento vascular, que tipicamente ocorre depois da limpeza do vírus e ao mesmo tempo que a presença de níveis elevados de mediadores imunes, também sugere que a infecção viral de células endoteliais não é a principal causa de vazamento do plasma, mas sim os diversos fatores solúveis produzidos por células T, monócitos, macrófagos e mastócitos. Entre estes fatores, encontram-se então o TNF α , diversas interleucinas (IL-2, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-18), IFN γ , HMGB-1 e MCP-1. As IL-6 e IL-8 foram associadas à ativação da coagulação e fibrinólise, sendo que se observou uma coagulopatia anormal em doentes com dengue severa. Níveis de IL-10 foram relacionados com a perda de plaquetas e sua função. Outro fator solúvel nocivo é a proteína NS4B, libertada pelo vírus da Hepatite C, razão pela qual uma infecção pelo DENV conjugada com uma infecção com o vírus da hepatite C pode levar a um quadro mais severo da dengue. ^[1, 15, 17, 18, 21, 27] O que intriga muito os investigadores é que outras doenças infecciosas causam o mesmo aumento destas citocinas sem, no entanto, levarem a um aumento na permeabilidade vascular.^[15] Este imenso vazamento plasmático para diversas cavidades do corpo, como as cavidades pleural e peritoneal, pode resultar em choque profundo - DSS.^[17]

Outras proteínas celulares foram reportadas como sendo induzidas durante a infecção pelo vírus da dengue, sendo que a que parece ser mais importante é o ativador do plasminogénio tecidual (tPA) nas células endoteliais. As infecções pelo vírus da dengue provaram elevar a produção de tPA, que vai estimular a produção de plasmina, com consequente degradação da fibrina.^[18, 27]

O papel do NS1 na replicação do vírus é ainda desconhecido, mas acredita-se que facilite a infecção viral e a sua patogénese. Sabe-se que a presença precoce no sangue de níveis elevados do vírus e da proteína viral NS1 está associada a quadros mais severos da doença. Foi proposto que a reatividade cruzada dos anticorpos (Ac) anti-NS1 com o fígado, células endoteliais e plaquetas pode despoletar a expressão de óxido nítrico nestas células e consequente apoptose. Observou-se ainda que a NS1, em conjunto com Ac anti-NS1, e através da sua ligação à superfície de células endoteliais infetadas, levam à ativação da cascata do sistema

complemento. Uma das hipóteses do papel do NS1 na replicação viral é que, ao promover uma degradação eficiente de C4 para C4b, proteínas do sistema complemento, o NS1 poderá proteger o DENV da neutralização por este sistema. Os níveis dos produtos resultantes C3a e C5a, produtos da clivagem de C3 e C5, estão relacionados com a severidade da doença, uma vez que irão promover a quimiotaxia das células imunes e contribuir para respostas inflamatórias. A hipótese da interação da NS1 com os Ac anti-NS1 não é, no entanto, consistente com a durabilidade dos sintomas clínicos, uma vez que a maior parte dos Ac perduram durante vários meses na circulação.^[1, 5, 15, 27]

Acredita-se ainda que ocorra uma disrupção temporária na função da camada do glicocálix endotelial como consequência de uma infeção pelo DENV. Uma vez que o glicocálix tem como função filtrar as moléculas no plasma de acordo com o seu tamanho, carga e forma, esta hipótese é consistente com a hipoalbuminemia e proteinúria observadas durante a dengue severa, além de que as proteínas de tamanho igual ou inferior à albumina são preferencialmente perdidas. Observou-se ainda um aumento da excreção urinária de sulfato de heparan em crianças com dengue severa, sabendo-se que tanto o vírus como a NS1 aderem a este elemento importante do glicocálix. O sulfato de heparan libertado no sangue pode também funcionar como anticoagulante, contribuindo assim para a coagulopatia (FIGURA 7).^[5]

Em doentes com dengue severa, a produção de interferões (particularmente IFN tipo 1) e células NK (*natural killer*) pode limitar a severidade da doença. Aliás, a primeira linha de defesa pelo sistema imune inato são normalmente os recetores de reconhecimento-padrão (como o TLR) e sensores intracelulares (como o MDA5 e o RIG-1), que ao reconhecerem o RNA viral, irão induzir fortes respostas por IFN α/β , que são inibidores fortes da infeção pelo vírus da dengue. Porém, quando o vírus entra através dos recetores Fc γ , esta resposta não é despoletada, o que explica os altos níveis de células infetadas logo de início, durante uma infeção secundária.^[1, 17, 26]

Também a ativação precoce das células NK poderá ser importante para a limitação da replicação viral nos estádios iniciais da infeção pelo DENV. Esta importância poderá ter sido “reconhecida” pelo vírus, pensando-se que provoca uma regulação positiva das moléculas do MHC classe 1 em células infetadas, tornando as células menos vulneráveis ao reconhecimento pelas células NK, mesmo que isto leve ao seu reconhecimento e à resposta pelas células T CD8⁺. Por outro lado, também há indícios de que, ao provocar a apoptose das células infetadas pelo DENV, as células NK provoquem danos em órgãos, nomeadamente no fígado.^[1, 26]

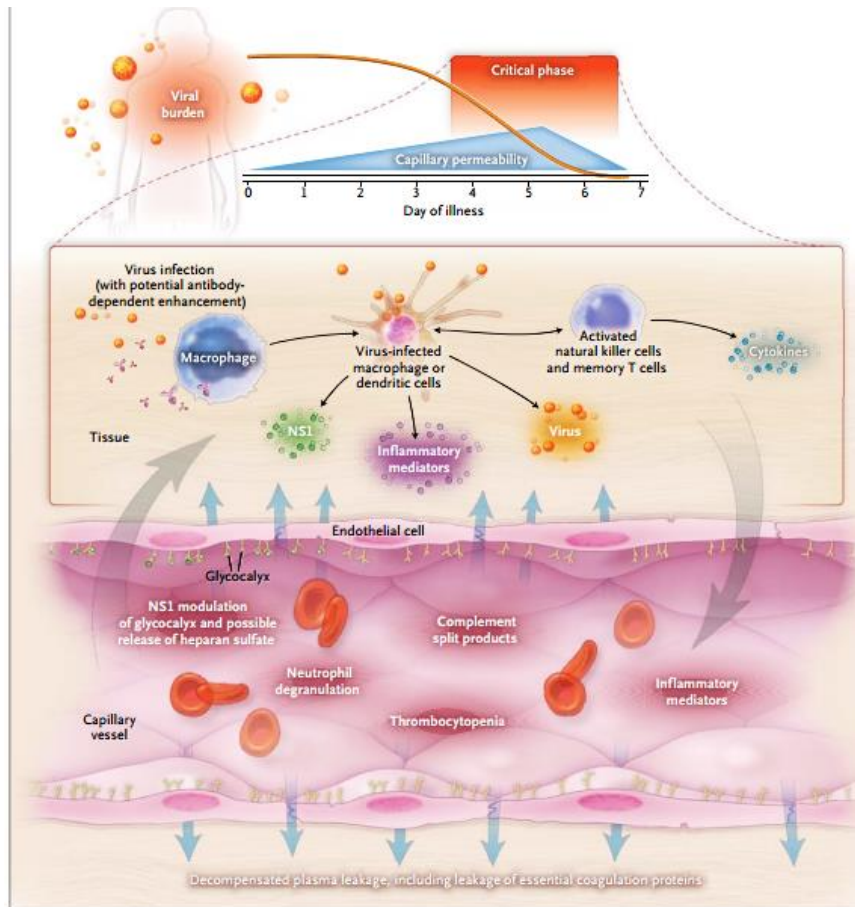


FIGURA 7. Immunopatogénese da dengue severa em infeções secundárias. No início da infeção secundária, pensa-se que a ADE aumente as concentrações *in vivo* do DENV, e está ligada à presença de níveis não-neutralizantes ou subneutralizantes de IgG anti-DENV induzidos numa primeira infeção, ou adquiridos passivamente em recém-nascidos. A grande massa de células infetadas resulta em concentrações elevadas de citocinas e quimiocinas, na formação de complexos imunes e no consumo de proteínas do sistema complemento, com libertação dos produtos resultantes. A ativação, proliferação e secreção de citocinas em tecidos por células T de memória é uma das causas prováveis de patogénese durante a infeção secundária. Acredita-se que isto tudo junto conduza à criação do ambiente nos tecidos que promove a permeabilidade capilar quando a carga viral já está em declínio. As interações entre a proteína NS1 e o glicocalix podem resultar na libertação de sulfato de heparan na circulação, alterando as características de filtração do endotélio e causando o vazamento de proteínas. É a perda de proteínas essenciais para a coagulação que pode levar à coagulopatia típica. O sulfato de heparan libertado pode funcionar também como anticoagulante e contribuir também ele para a coagulopatia. (retirado de: *Simmons, C. P., J. J. Farrar, et al. (2012). "Dengue." N Engl J Med 366(15): 1423-1432.*) (informação na imagem em inglês)

Além das células NK, células citotóxicas, a família de células linfoides inatas (ILC) é constituída ainda pelas ILC não citotóxicas, que só recentemente foram descritas e caracterizadas. Talvez, por isso, ainda não esteja presente na literatura o possível papel que estas células poderão ter na proteção imune em caso de infeção pelo DENV. No entanto, é possível que o grupo 1 das ILC não citotóxicas (ILC1) seja efetivamente importante, uma vez que as mesmas IL que irão levar à ativação das células NK (IL-12, IL-15 e IL-18) vão ativar também as ILC1. Tendo sido implicadas na imunidade contra vírus, as ILC1 são capazes de produzir IFN γ e TNF. Também as células do grupo 3 das ILC não citotóxicas (ILC3), quando

ativadas pelas IL-12 e IL-18, irão aumentar a sua produção de IFN γ e perder a capacidade de produzir outras citocinas, apresentando funções semelhantes às da ILC1.^[29] Futuramente, seria importante estudar qual é o papel das ILC não citotóxicas, particularmente as ILC1, na imunidade inata do organismo contra o DENV.

O conhecimento da patogénese da dengue é ainda muito limitado. Uma das principais razões para não se compreender totalmente o processo de patogénese da dengue é o facto de os camundongos não replicarem a sequência temporal de acontecimentos clínicos comuns observados em humanos com dengue severa, em particular a ocorrência de choque hipovolémico mais tardiamente no curso da doença. Em relação aos primatas não-humanos, apesar de serem naturalmente suscetíveis a infeções por DENV e desenvolverem viremia de duração semelhante aos humanos, raramente demonstram sinais ou sintomas clínicos. Não são também muito utilizados no desenvolvimento de drogas para a dengue, uma vez que têm um custo elevado e poucos laboratórios são capazes de desenvolver esses estudos. O desenvolvimento dos modelos de infeção humana da dengue (DHIM – *dengue human infection models*) permite, através de estudos experimentais controlados, conhecer mais sobre os processos que conduzem à patogénese da dengue, além de ensaios de medicamentos quimioprolifáticos e de terapêutica em indivíduos pré-selecionados. Estes estudos passam por sujeitar adultos, *naïve* a qualquer flavivírus, a uma estirpe do DENV-1 parcialmente atenuada. Levanta-se, porém, a questão ética de intencionalmente infectar um voluntário saudável e fazê-lo passar pelos sintomas consequentes, com a agravante de, ao contrário do que ocorre noutros estudos de infeção humana com outras doenças infecciosas, a dengue não ter ainda terapêutica específica.^[1, 5, 30]

Teoria da potenciação dependente de anticorpos (ADE)

Pensa-se que o sistema imune humoral adaptativo tenha um papel de extrema importância na imunopatogénese da dengue. A teoria da ADE, proposta nos anos 70 por Halstead e O'Rourke, ajuda a explicar a forte associação entre uma infeção secundária com um serotipo diferente da infeção primária e a severidade da doença. Ajuda a entender também o porquê de crianças nascidas de mães imunes à dengue, quando infetados durante o primeiro ano (quando ainda têm Ac da mãe) têm uma carga viral mais elevada que crianças nascidas de mães não imunes.^[1, 3, 17]

Os Ac heterólogos pré-existentes, apesar de serem eficazes para um serotipo específico de uma infeção anterior, terão dificuldade em neutralizar o serotipo da infeção presente. Em vez de neutralização, irão aumentar a eficiência de ligação do vírus e potenciar a sua entrada em

células portadoras de recetores Fc γ , recetores importantes para induzir a fagocitose de antígenos opsonizados (FIGURA 8). Isto resulta num aumento da replicação viral, particularmente em monócitos e macrófagos, e da quantidade de células infetadas com o DENV, conseqüente viremia aumentada. A ADE potencia também a produção de citocinas, morte celular e ativação das células endoteliais, mediada pelo TNF α , que contribui também para a permeabilidade endotelial e hemorragia em modelos animais.^[3, 25]

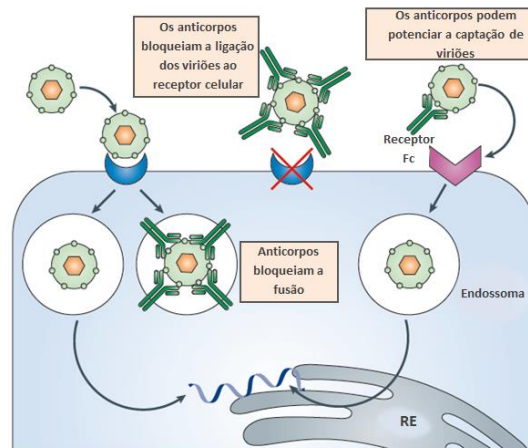


FIGURA 8. O mecanismo de neutralização e potencialização despoletado pelos Ac específicos para o vírus da dengue. A um nível elevado de ocupação de epítopos, os Ac podem bloquear a ligação dos viriões ao recetor celular, ou podem bloquear a fusão num estágio pós-ligação; por outro lado, a um nível baixo de ocupação de epítopos, os Ac podem potenciar a captação de viriões para as células através da interação com recetores de imunoglobulina (Fc γ). (retirado e adaptado de: Rothman, A. L. (2011). "Immunity to dengue virus: a tale of original antigenic sin and tropical cytokine storms." *Nat Rev Immunol* 11(8): 532-543.)

Os alvos dos Ac humanos na dengue são geralmente as proteínas E e prM. Foi sugerido que os responsáveis pela entrada na célula dos DENVs durante a ADE seriam os Ac não neutralizantes anti-E ou anti-prM, ou os Ac neutralizantes anti-E presentes em concentrações abaixo do limiar de neutralização (este último explica o porquê de crianças com 5 a 9 meses de idades terem um maior risco de DHF/DSS).^[19] Além de ser necessária para a fusão celular e entrada na célula, a proteína E é o principal alvo para os Ac neutralizantes. Acredita-se, no entanto, que os Ac anti-E terão uma maior capacidade específica de neutralização e um menor potencial de despoletar ADE que os Ac anti-prM.^[3, 16] Esta proteína é clivada durante o processo de maturação do vírus, o que significa que Ac anti-prM irão falhar na neutralização da maior parte das partículas virais. A clivagem da prM é frequentemente incompleta, o que significa que muitos dos viriões contêm prM suficiente para conduzir à ADE, mas não para promover a neutralização. Ainda, vírus imaturos, que terão uma grande quantidade de prM intacto não clivado, podem não ser infecciosos, mas poderão despoletar ADE (FIGURA 9). Estas

descobertas têm importância a nível do desenvolvimento de uma vacina, sendo que as mais recentes candidatas têm não só em atenção a proteína E, mas também a prM.^[3]

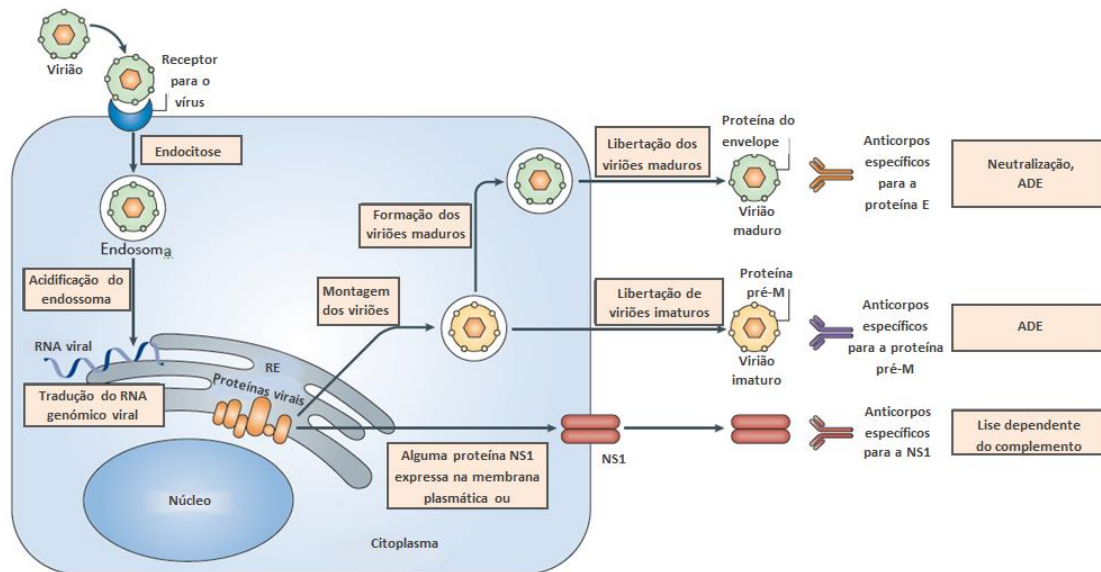


FIGURA 9. Esquema simplificado do ciclo de vida do vírus da dengue e fonte dos antígenos. Os viriões da dengue ligam-se aos recetores da superfície da célula e são internalizados por endocitose. A acidificação das vesículas de endocitose conduz ao rearranjo da glicoproteína do envelope (E), à fusão das membranas viral e vesicular e à libertação de RNA viral no citoplasma. O RNA genómico viral é então traduzido para produzir proteínas virais no retículo endoplasmático (RE) e as proteínas virais e RNA viral acabado de ser sintetizado são montados em viriões imaturos no lúmen do RE. A clivagem do precursor da proteína membrana (prM ou prM) pela enzima furina leva à formação de viriões maduros, que são libertados da célula. Adicionalmente, alguma proteína NS1 sintetizada é expressada na membrana celular da célula ou libertada pela célula e alguns viriões são libertados na forma imatura. As formas madura e imatura dos viriões induzem respostas dos Ac à proteína E e estes Ac podem funcionar na neutralização ou na fenómeno de potencialização dependente de anticorpos (ADE) de infeção. Os viriões imaturos também vão potencializar anticorpos anti-pré-M. Anticorpos anti-NS1 vão se ligar à NS1 ligada à membrana e vão causar a lise das células infetadas devido à ativação do sistema complemento. (retirado e adaptado de: Rothman, A. L. (2011). "Immunity to dengue virus: a tale of original antigenic sin and tropical cytokine storms." *Nat Rev Immunol* 11(8): 532-543.)

Foi desenvolvida recentemente uma nova hipótese, com o nome de Teoria de ADE intrínseca, que dita que a internalização do DENV pelo recetor Fcγ suprime as respostas antivirais mediadas por IFNs tipo I (IFN α , IFN β , etc), através da inibição de genes antivirais e da potenciação da produção de IL-10. Isto vai suprimir a via de sinalização do IFN γ e promover a resposta das células T helper-2. Enquanto as células T helper-1 são necessárias para a limpeza do vírus e recuperação de uma infeção aguda, as células T helper-2 têm um efeito antiviral limitado, levam ao aumento de anticorpos e estão associadas a um resultado clínico pobre. Há indícios de que, à medida que a severidade da doença aumenta, a resposta muda para uma resposta mediada pela célula T helper-2, caracterizada pela libertação de diversas interleucinas.^[17, 25]

Foi sugerido que a capacidade de despoletar a ADE fornece uma vantagem evolutiva a estirpes de vírus da dengue que a possuam, mas nem todos os estudos suportam a teoria de

ADE. Há cada vez mais indícios de que esta teoria não chega para explicar a ocorrência de DHF e DSS, já que a dengue severa com vazamento de plasma pode ocorrer em infeções primárias sem ADE. Além disso, quando o vazamento plasmático ocorre, já os níveis de vírus estão bem abaixo do nível máximo atingido e há doentes com níveis elevados de viremia que não desenvolvem DHF.^[1, 17]

Papel das células T na infeção pelo DENV

As células T, além de poderem ter um papel protetor, podem também ter um papel na patogénese da dengue.^[17]

O DENV pode infectar tanto as células T CD4⁺ como as células T CD8⁺. Enquanto as células T CD4⁺ foram associadas à produção de IFN γ , TNF α , TNF β e IL-2, que poderão contribuir para a patogénese, verificou-se uma quantidade relativamente maior de células T CD8⁺ em infeções não complicadas, com níveis mais baixos de IFN γ e TNF α . Isto também ajuda a explicar o porquê se certos polimorfismos do MHC estarem associados tanto à proteção como à suscetibilidade para a dengue severa, uma vez que é através do MHC que uma célula apresentadora de antígenos irá expressar os epítomos do DENV e os apresenta às células T (FIGURA 10).^[3, 17]

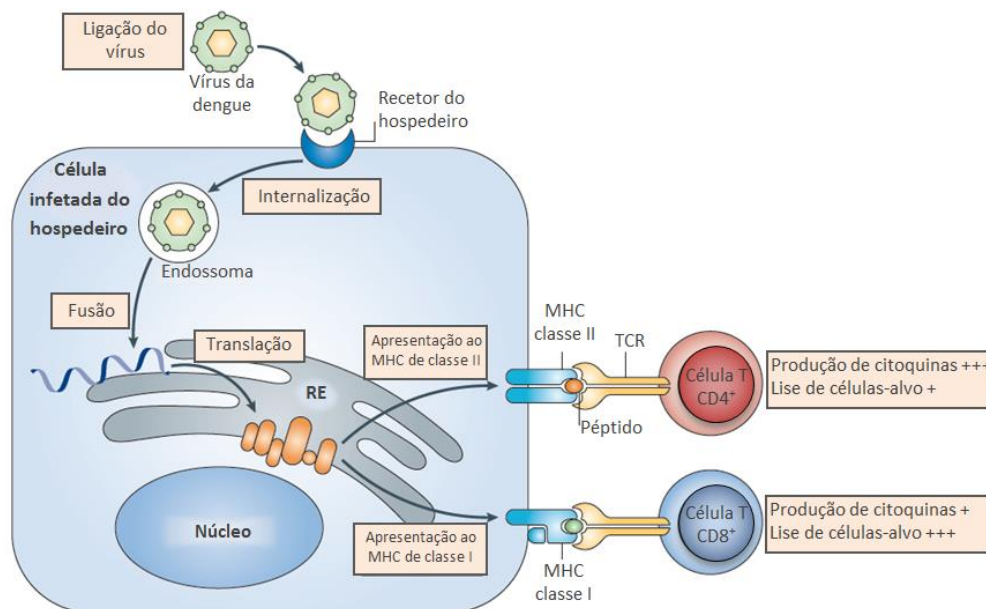


FIGURA 10. O ciclo de vida do vírus da dengue e a fonte dos antígenos são apresentados. Proteínas virais recentemente sintetizadas entram nas vias de apresentação do MHC de classe I e II e os epítomos peptídicos virais são apresentados na superfície da célula na cavidade de ligação das moléculas do MHC. As moléculas do MHC de classe II apresentam o péptido às células T CD4⁺ que produzem maioritariamente citocinas mas também são capazes de lizar células infectadas. As moléculas do MHC de classe I apresentam o péptido às células T CD8⁺ que têm por função principal a lise das células-alvo mas que também produzem citocinas. (retirado e adaptado de: Rothman, A. L. (2011). "Immunity to dengue virus: a tale of original antigenic sin and tropical cytokine storms." *Nat Rev Immunol* 11(8): 532-543.)

Mais recentemente, a imunopatologia relacionada com as células T de memória mostrou ser muito importante no desenvolvimento da dengue severa. Durante uma infeção primária, são produzidas respostas pelas células T de memória, tanto específicas para o serotipo como de reatividade cruzada. A expressão de epítomos virais em células infetadas durante a infeção secundária despoleta a ativação de células T de memória com reatividade cruzada. Estas células T irão ter alta afinidade para as infeções anteriores mas baixa afinidade com o vírus da infeção presente, fenómeno denominado por “pecado original antigénico” ou efeito de Hoskins. Níveis elevados de células T ativadas, acompanhados de morte celular rápida e a supremacia da resposta imune celular por células com baixa afinidade para o vírus infetante, podem suprimir ou atrasar a eliminação do vírus levando a uma grande carga viral e maior imunopatologia. Adicionalmente, ainda libertam citocinas pró-inflamatórias que irão provocar dano tecidual e vazamento de plasma no endotélio vascular.^[1, 15, 17, 27]

DIAGNÓSTICO

O diagnóstico é importante não só para a gestão clínica, mas também para a vigilância e para a área de investigação. O seu diagnóstico diferencial é amplo, variando à medida que a doença evolui. Assim, tem de se ter em atenção o quadro clínico e a prevalência local da doença, sendo que o diagnóstico preliminar baseia-se na combinação do histórico de viagem e nos sintomas clínicos, em países não endémicos. A dengue pode ser confundida com diversas outras doenças com os mesmos sintomas inespecíficos na fase inicial da infeção, como a febre tifoide, malária e sarampo.^[1, 5, 17] As opções de diagnóstico incluem ensaios para detetar o vírus ou seus componentes – genoma e antigénios -, ou a resposta do hospedeiro ao vírus.^[1, 15]

O diagnóstico confirmatório para uma infeção pelo vírus da dengue é estabelecido por cultura do vírus, RT-PCR ou ensaios serológicos, sendo o objeto de diagnóstico o próprio vírus, RNA viral e Acs específicos pra o DENV, respetivamente. Há, no entanto, limitações para cada um dos testes.^[17]

A cultura do vírus requer um sêrum do doente em infeção aguda com níveis suficientes de vírus e a principal desvantagem é que a viremia atinge frequentemente o seu pico antes do aparecimento dos sintomas e antes de o doente procurar ajuda médica. A cultura de células requer ainda tempo e pessoal especializado para a sua manipulação, num laboratório de biossegurança nível 3. Estas características limitam o uso desta ferramenta de diagnóstico.^[17]

A linha celular do *A. albopictus* C6/36 é muitas vezes usada para isolar DENVs do material do doente. A infeção arboviral de culturas celulares de mosquito rende altas concentrações do vírus e é caracterizada por uma infeção persistente, uma vez que a maioria das células do

mosquito não é destruída durante a infeção. A amostra pode ser de sêrum em fase aguda, plasma ou tecidos em autópsia de casos fatais, como fígado e baço. A deteção de RNA viral com o PCR é rápida e robusta, sendo, no entanto, sensível apenas nos primeiros estádios da doença.^[17]

Outra opção de diagnóstico laboratorial baseia-se na presença de anticorpos anti-DENV. Tem como vantagens a flexibilidade do tempo de recolha da amostra e técnicas relativamente simples, com *kits* de diagnóstico comercial disponíveis, o que faz com que os ensaios baseados na deteção de IgM sejam os mais usados em diagnósticos de rotina. O diagnóstico serológico da dengue tem a limitação de poder ser confundido com outros flavivírus, como o vírus da febre-amarela, se o doente tiver recentemente sido vacinado ou infetado naturalmente.^[5, 17]

Também a proteína NS1 oferece uma boa oportunidade para o diagnóstico precoce. Estão disponíveis testes comerciais rápidos e *kits* ELISA, em que as sensibilidades estão entre 54 e 93%, com menor sensibilidade em infeções secundárias. Este método torna-se uma ferramenta de diagnóstico importante quando o IgM não é detetável em amostras de fase aguda e quando o PCR não está acessível.^[1, 5, 15]

Diversos ensaios de diagnóstico e prognóstico estão agora disponíveis para identificar casos severos em fases iniciais da doença. Valores aumentados de viremia e NS1 foram associados à dengue severa, e diversos biomarcadores destacaram-se na procura por algo que permitisse o diagnóstico precoce da dengue severa, como a proteína do HMGB-1, MCP-1 e ferritina. No entanto, para ambos é necessário um estudo mais aprofundado e que valide estas informações.^[1]

Em Portugal, em casos de suspeita de infeção pelo DENV, com sintomatologia compatível e histórico de viagem nos últimos 14 dias para áreas endémicas, são recolhidas amostras de sangue (ou líquido cefalorraquidiano, se houver sinais ou sintomas de afeção do SNC) e posteriormente transportadas em refrigeração até ao laboratório no Departamento de Doenças Infeciosas do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (INSA). É aqui que se localiza o laboratório de referência para o diagnóstico da dengue, com vista em obter o diagnóstico laboratorial para confirmação da doença. Os métodos serológicos utilizados são a imunofluorescência, no INSA, e a imunocromatografia, no Instituto de Medicina Tropical, e o diagnóstico positivo é feito pela deteção de IgM para o DENV na fase aguda da doença ou pela subida exponencial dos níveis de IgG entre uma primeira amostra, colhida no início dos sintomas, e uma amostra retirada cerca de 4 semanas depois. A deteção do vírus no sangue por PCR também se realiza no INSA, mas não é, no contexto epidemiológico de Portugal, considerado um exame de 1ª linha.^[31, 32]

TRATAMENTO

Ainda não há tratamento específico para a dengue. Assim, o tratamento permanece de suporte, com recurso a fluidoterapia, repouso no leito e antipiréticos nas formas não graves. Em situações críticas, devem ser utilizadas soluções cristaloides isotónicas, com vista em evitar instabilidade hemodinâmica, recorrendo-se a soluções coloides isotónicas em doentes com choque profundo ou nos casos em que não respondam à administração do primeiro. A dosagem de fluidos deve ser cuidada e fornecida a um nível apenas suficiente para manter a perfusão crítica dos órgãos, para limitar o risco de sobredosagem do fluido. Transfusões sanguíneas e terapia adjuvante poderão ser necessárias, caso a função cardiovascular esteja comprometida.^[5, 15, 30]

3. Estratégias de vigilância e controlo

Para haver controlo de vetores da dengue, é preciso haver vigilância e um plano de controlo já definido num eventual caso de necessidade. Para a dengue, isto envolve uma abordagem que envolva a mobilização social e capacitação das comunidades, a investigação e introdução de políticas baseadas na evidência, juntamente com métodos de controlo químico e não químico em áreas geográficas identificadas como estratégicas. Programas para prevenir e controlar o peso da dengue na Europa existem desde 2006, devido ao aumento dramático do número de casos de chikungunya nas regiões do oceano Índico e Ásia.^[2, 13]

Já é feito um grande investimento económico na Europa para reduzir o incómodo causado pelos mosquitos, principalmente em regiões turísticas do Mar Mediterrânico. Na região italiana de Emilia-Romagna, por exemplo, são gastos anualmente entre 5 a 6 milhões de euros no plano de prevenção de dengue e chikungunya, o que inclui já os custos diretos associados à vigilância, ao controlo e à gestão de informação.^[9]

VIGILÂNCIA DO VETOR E DA DOENÇA NA EUROPA

A Europa enfrenta agora a introdução e dispersão iminentes dos mosquitos *Aedes albopictus* e *A. aegypti*, entre outras espécies invasoras com potencial de transmitir doenças tipicamente tropicais. Assim, em vez de se basear numa resposta de emergência, a vigilância do mosquito permite a deteção com tempo de alterações na quantidade e diversidade das espécies e providencia às autoridades de saúde informações para que possam tomar medidas de controlo para as populações de vetor, reduzindo conseqüentemente o seu impacto futuro na saúde. O Centro Europeu para Prevenção e Controlo de Doenças (ECDC) é a entidade central que junta e estuda a informação de modo a que os países possam perceber as “ameaças, riscos e tendências da doença para uma ação de saúde pública pronta e apropriada”, sendo recolhidas informações sobre a doença, presença ou ausência do agente patogénico no vetor e presença ou ausência do próprio vetor.^[8, 33]

Apesar de muitos países europeus terem implementado a vigilância e medidas de controlo para mosquitos invasores, falta muita concordância entre países, ou mesmo dentro do mesmo país (ex. Itália). Para harmonizar os métodos de vigilância e registos de informação ao nível europeu, e para motivar os estados-membros a recolherem informação de modo adequado, o ECDC decidiu então publicar orientações para a vigilância de mosquitos invasores, de modo também a que a informação pudesse mais facilmente ser comparada pelos diferentes países ao longo do tempo. As diretrizes foram baseadas numa revisão na literatura, assim como na

experiência de equipas e especialistas externos de duas grandes redes europeias: a VBORNET (*European Network for Anthropod Vector Surveillance for Human Public Health*) e a EMCA (*European Mosquito Control Association*). A versão preliminar foi depois apresentada em Estocolmo, a entomologistas, especialistas de saúde pública e usuários de 17 países da União Europeia (EU) e Espaço Económico Europeu (EEE), entre os quais Portugal, e países vizinhos, para revisão, melhoramento e aprovação das orientações (FIGURA 11).^[9, 13]

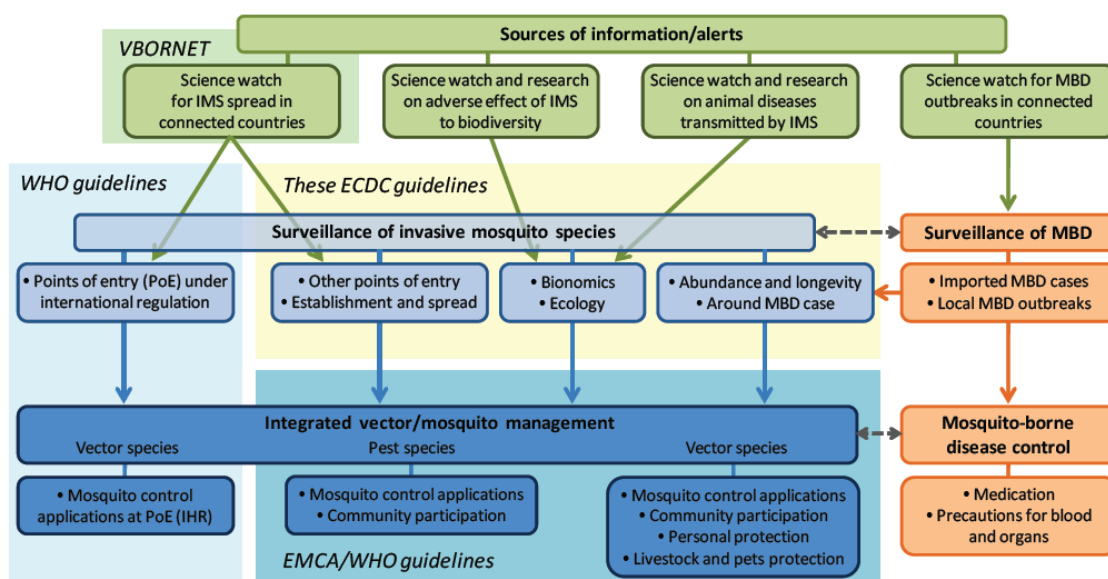


FIGURA 11. Procedimentos e assuntos principais na vigilância de mosquitos invasores e doenças transmitidas por mosquitos na Europa (WHO: Organização Mundial de Saúde; ECDC: Centro Europeu de Prevenção e Controlo das Doenças; EMCA: Associação Europeia de Controlo de Mosquito; IMS: mosquitos invasores; MBD: doenças transmitidas por mosquitos) (retirado de: *European Centre for Disease Prevention and Control. Guidelines for the surveillance of invasive mosquitoes in Europe. Stockholm: ECDC; 2012.*) (informação da imagem em inglês)

O objetivo das diretrizes fornecidas pelo ECDC seria providenciar informação de confiança e suporte técnico para atividades de vigilância e de recolha de dados focalizadas. A primeira parte trata as questões estratégicas e medidas a serem tomadas pelos intervenientes do processo de tomada de decisão. Seguidamente aborda-se todas as questões operacionais e passos a tomar para a implementação das atividades, com informação prática para diferentes grupos de interessados, desde entomologistas a técnicos de campo. Por último, são providenciadas estimativas de custo para os programas delineados, com vista no planeamento antes da implementação dos mesmos, e procedimentos a seguir para avaliar o processo de vigilância, necessários para os ajustar e melhorar.^[9]

Em 2008, foi criado em Portugal o programa nacional de vigilância de vetor – REVIVE (REde de Viglância de VEtores) – para colmatar a necessidade de melhorar o conhecimento sobre as

espécies de vetores e sua distribuição e papel enquanto transmissores de doenças em Portugal. Estabelecido sob a direção do Ministério da Saúde, o plano da REVIVE incluía também a Direção-Geral da Saúde (DGS), todas as Administrações Regionais de Saúde (ARS) e o INSA, com cooperação de entomologistas, virologistas, profissionais de saúde pública e decisores políticos, para a obtenção de um programa de vigilância eficaz. As principais orientações da REVIVE são: a vigilância de artrópodes hematófagos; conhecer a distribuição e abundância sazonal e geográfica de espécies vetores nativas e deteção precoce das espécies invasoras; identificação de agentes patogénicos de importância para a saúde pública; vigilância de possíveis flavivírus em populações de mosquitos; e avaliação da adequabilidade das medidas de controlo. As orientações foram desenvolvidas de acordo com as fornecidas pelo ECDC. A estratégia de coleção da REVIVE varia entre a recolha mensal até semanal de amostras de mosquitos adultos e imaturos, com início em Maio e terminado em Outubro.^[33]

O Instituto de Administração da Saúde e Assuntos Sociais da Região Autónoma da Madeira (IA Saúde) juntou-se ao programa, iniciando a vigilância em sete concelhos. A REVIVE também foi essencial para o estabelecimento da vigilância em redor de aeroportos e portos marítimos, de acordo com o Regulamento Sanitário Internacional. Desde 2010, a REVIVE colabora com a VBORNET.^[33]

Ao nível da doença, a vigilância na Europa baseia-se maioritariamente em indicadores e em eventos. No primeiro, tem-se o Sistema de Vigilância Europeu, TESSy. Este é um banco de dados que recolhe informação sobre todas as doenças comunicáveis de vigilância obrigatória e de todos os sistemas de vigilância dos países membros da UE e EEE. O ECDC publica depois o Relatório Epidemiológico Anual, com informação sobre as tendências e sazonalidade, distribuições na idade e género, e eventos relevantes. A vigilância baseada em eventos é uma das funções do ECDC, e tem como função a deteção de uma ameaça à saúde pública o mais precocemente possível, permitindo uma resposta a tempo.^[8, 13] Para a dengue, 22 países, entre os quais Portugal, dos 30 que fazem parte da UE ou do EEE apresentam relatórios de dados ao TESSy. Futuramente, a uniformidade e melhoria da recolha de dados e cobertura de doenças transmitidas por mosquitos de todos os países da União Europeia parecem ser as soluções para melhorar a vigilância.^[8]

O ECDC financia também a Rede Europeia para Diagnóstico de Doenças Importadas Virais, que, através de avaliações de qualidade externas, ajuda os profissionais que trabalham em laboratórios de diagnóstico a melhorarem as suas técnicas e procedimentos, estando, entre as doenças alvo, a dengue, a febre da chikungunya e a febre-amarela. Isto parece essencial para

treinar profissionais que poucas ou nenhuma vez manusearam os vírus das referidas doenças.^[8]

CONTROLO DO VECTOR

A OMS promove a Gestão Integrada do Vektor, uma abordagem estratégica para ajudar a um processo de tomada de decisão racional e custo-efetivo em programas de controlo de vetor a nível mundial.^[34] Visto que ainda não existe tratamento específico para a dengue nem vacina comercializável, a redução do peso da dengue parte de dois tipos de medidas: impedindo a invasão de vetores capazes, e, através de uma vigilância ativa e rápido diagnóstico, identificar precocemente um possível surto. Há quem defenda que este último é limitado, não só por a maior parte das infeções serem inaparentes, mas também porque as características clínicas da doença levam a que muitos casos de dengue fiquem por diagnosticar.^[13]

Os métodos de controlo de vetor passam pela combinação de diferentes estratégias e metodologias de gestão de vetor - incluindo ambientais, biológicas e químicas - que são muito semelhantes às usadas há 60 anos atrás. Além da aplicação de pesticidas, também a promoção de habitações e infraestruturas adequadas é aconselhado. A eliminação de habitats larvais é um método vastamente utilizado, que parte muito da participação da comunidade, através da remoção de contentores de água artificiais (criadouros) produzidos pelo homem, e também da aplicação de larvicidas e predadores. Este método tem como limitações o vasto número de locais de reprodução e a dificuldade em aceder a terrenos privados.^[2, 17, 22] A participação ativa da comunidade e as alterações comportamentais não podem ser ignorados e são de grande importância. Isto pôde ser observado em Cuba, onde os programas de controlo de vetor que envolverem a participação da comunidade alcançaram melhores resultados.^[19]

Outra medida adicional económica é a redução do contacto homem-vektor. Uma vez que os mosquitos *Aedes* são ativos durante o dia, em países onde a dengue é endémica, utilizam-se repelentes e materiais tratados com inseticidas. Se, durante a noite e para indivíduos saudáveis, o uso de redes mosquiteiras tem uma utilidade limitada para a dengue, quando se está doente e em fase febril, deve-se recorrer à rede mosquiteira, para que novos mosquitos não se infetem e se tornem vetores da doença.^[2, 17, 35]

Pensa-se que os programas de controlo de mosquito contra o *Aedes aegypti* sejam mais eficientes do que contra o vetor secundário da dengue, já que o primeiro tem uma maior dependência pelo ambiente urbano e pelo homem durante a alimentação.^[22]

4. A dengue no passado

Tudo leva a crer que a dengue tem estado presente desde há muitos séculos; contudo, a história da dengue é incerta, uma vez que é clinicamente semelhante a outras doenças e até partilha os mesmos vetores. Os primeiros sintomas compatíveis com a dengue, associados a picadas de insetos voadores, foram registados numa enciclopédia médica chinesa do século X. Só no final do século XVIII é que a dengue foi reconhecida como uma doença específica em humanos. Já no século XX, em 1903, Harris Graham pôs a hipótese da dengue ser transmitida por mosquitos, confirmado depois por Thomas Lane Bancroft em 1906.^[2, 13]

Foi no século XVII que a doença foi sentida no mundo ocidental, ocorrendo duas grandes epidemias nas Américas do que se assemelha à dengue em curso de doença e propagação. Em 1800, o mosquito *Aedes aegypti* já se tinha espalhado pelas cidades costeiras tropicais a nível global, devido ao grande aumento de trocas comerciais por via marítima. As embarcações disponibilizavam locais de reprodução, assim como humanos para completar o ciclo de transmissão. Isto possibilitou uma introdução lenta, mas evidente, do vírus e do mosquito em destinos costais por todo o mundo. A expansão da dengue intensificou-se durante a Segunda Guerra Mundial, em grande parte devido à movimentação das tropas e à utilização de transportes modernos dentro e entre países. Após a guerra, os transportes e a rápida urbanização levou ao aumento da transmissão da dengue e à hiperendemicidade no Sudeste Asiático, com consequente aumento dos números de dengue severa.^[2]

Com a união de esforços iniciada pela Organização Pan-Americana da Saúde, levou-se a cabo uma campanha de controlo da febre-amarela com vista na eliminação do *A. aegypti*. Nos anos 50, a epidemia da dengue parecia, assim, estar sob controlo na América do Sul e Central. Infelizmente, a campanha de controlo terminou no início dos anos 70, e, em 1980, já a incidência de dengue tinha aumentado e regressado aos valores anteriores à campanha em 1995. No final do século XX, a dengue continuou a propagar-se tanto nas regiões do Pacífico como nas Américas, sendo que o número de países com casos de dengue severa passou de nove, antes dos anos 70, a um número quatro vezes superior. Este aumento exponencial sugere que a distribuição da dengue severa segue um padrão irregular, o que dificulta a sua predição atualmente.^[2, 36, 37]

Na Europa, várias epidemias da dengue ocorreram nos séculos XVIII e XIX em diversos portos da zona mediterrânica, uma vez que o vetor *A. aegypti* era repetidamente introduzido por via marítima e já estava vastamente estabelecido no sul da Europa. Isto proporcionou surtos de febre-amarela, transmitida pelo mesmo vetor, principalmente em cidades portuárias

como Lisboa. Até à década de 60 do século passado, o mosquito *A. aegypti* estava presente em Portugal. Um dos últimos grandes surtos de dengue na região mediterrânica foi na Grécia e Turquia em 1927 e 1928, afetando mais de 1 milhão de pessoas e matando entre 1000 a 1500 pessoas. Isto fez com que, em 1935, diversos países do sul mediterrânico e Cáucaso definissem uma convenção internacional para a proteção mútua contra a febre da dengue. Depois disso, houve apenas relatórios esporádicos da sua presença entre 1960 e 2000, em Itália, Israel e Turquia, mas sem evidências de populações bem estabelecidas. Não se sabe bem o motivo do desaparecimento histórico da dengue e principal vetor *A. aegypti* da Europa, mas poderá ser devido às medidas de controlo de mosquitos impostas. Duas causas muito mencionadas são a introdução das tubagens no sistema de abastecimento de águas, com redução assim da disponibilidade de habitats para o estado larval, e utilização em grande quantidade de DDT (diclorodifeniltricloroetano) para o controlo do vetor da malária, *Anopheles atroparvus*, afetando também o *A. aegypti*.^[13, 23]

A dengue tornou-se então uma doença importada, sendo na Europa a segunda razão mais frequente depois da malária para a admissão hospitalar depois de se voltar do estrangeiro. A preocupação em relação à dengue na região Europeia da OMS regressou nos anos 90, com o estabelecimento na Europa do *Aedes albopictus*. Este mosquito já foi reportado em 20 países europeus desde que foi detetado pela primeira vez na Albânia, em 1979, e em Itália, em 1990 (FIGURA 12). Os casos de dengue, em 2010, em França e Croácia, provocados pelo *A. albopictus*, e os casos na Madeira em 2012, provocados pelo *A. aegypti*, foram provocados pela sobreposição de diversos fatores potenciadores. Entre eles, encontram-se a chegada de pessoas infetadas com o vírus, o estabelecimento de espécies de mosquitos vetores eficientes, e uma grande densidade populacional de indivíduos imunologicamente *naïve*. Pensa-se que o transporte marítimo de mercadorias, como pneus usados e plantas tropicais, possa ser a causa da introdução do mosquito na Europa. Isto é provado pelo estabelecimento de *A. albopictus* em portos mediterrânicos, como o de Barcelona, e pela presença em casas de vidro nos Países Baixos, usadas por importadoras da planta tropical *Lucky Bamboo*. Felizmente, a vigilância intensiva nesta região permite dizer que não houve estabelecimento da espécie, devido talvez à atual inadequabilidade climática e rápida implementação de medidas de controlo.^[2, 12, 13]

A dispersão do *A. albopictus*, o surto na Madeira pelo *A. aegypti*, a crescente introdução de agentes patogénicos por turismo e migração, relatórios de surtos locais e previsões de alterações ambientais e climáticas põem a Europa em alerta.^[13] Tanto os surtos na Europa continental com o surto na Madeira, ajudaram a acordar as entidades de saúde pública europeias, e a perceber a importância de um plano de prevenção com sensibilização para os

profissionais de saúde, suporte laboratorial adequado para a identificação precoce do vírus, e resposta apropriada pelos decisores políticos. Assim, apesar de a Europa ter estado livre da dengue durante a maioria do século XX, a expansão global da doença começa a afetar a região.^[14]

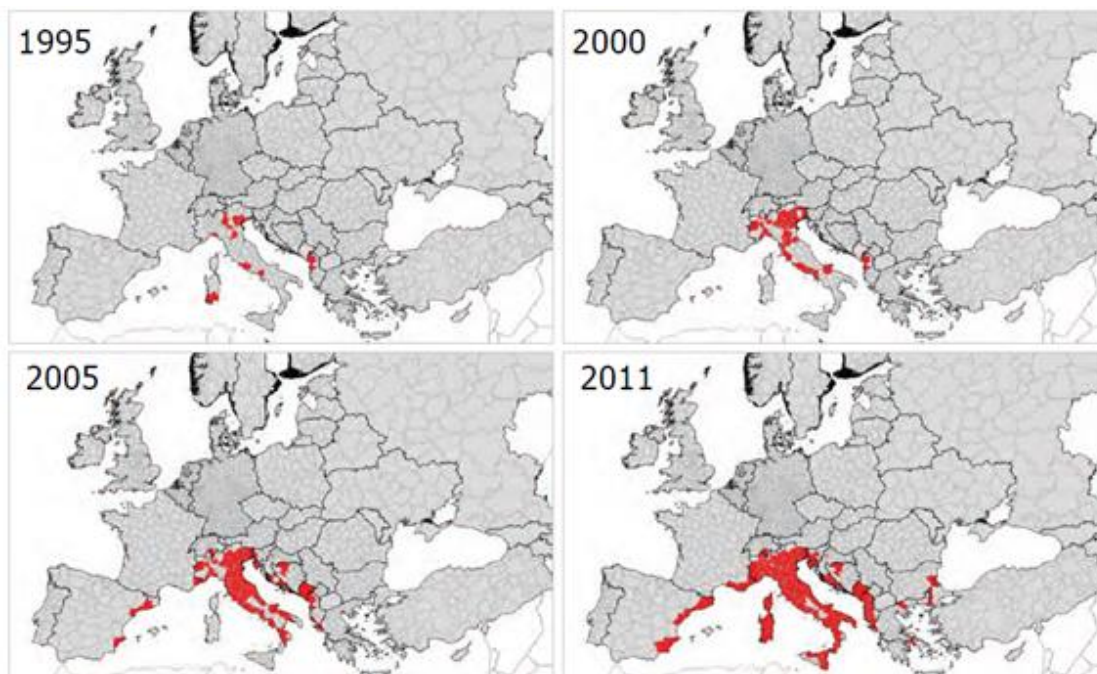


FIGURA 12. Dispersão do mosquito *Aedes albopictus* na Europa, 1995-2011. (retirado de: *European Centre for Disease Prevention and Control. Guidelines for the surveillance of invasive mosquitoes in Europe. Stockholm: ECDC; 2012.*)

SURTO DE DENGUE NA MADEIRA

Em 2012, a Região Autónoma da Madeira reportou o primeiro surto de dengue da sua história, e o primeiro surto em território europeu desde o de 1926-28 na Grécia. De 26 de Setembro a 3 de Março, em 2187 casos prováveis, confirmaram-se em laboratório 1080, sendo que nenhum deles evoluiu para as formas severas e não houve qualquer caso fatal. O surto foi principalmente no Funchal e zonas próximas. O vírus era DENV-1 e estudos filogenéticos recentes mostram que a origem mais provável do vírus seria a Venezuela^[38], mas também há a possibilidade de ser de outro país sul-americano, como a Colômbia ou Brasil, da zona norte. Foram diagnosticados 78 casos em viajantes de Portugal Continental e de outros países europeus depois de terem regressado da Madeira. Refere-se que o facto de 2012 ter sido um ano excepcionalmente quente e húmido, pode ter sido um fator adjuvante para o surto.^[33, 38, 39] Já se deveria, até, ter previsto um surto, uma vez que se verificou um aumento no número de *A. aegypti*, antes do surto, conjugado com o elevado número de visitantes de países endémicos, como Venezuela e Brasil.^[19]

O mosquito *A. aegypti* foi detetado no Funchal em 2005, muito provavelmente devido à importação de palmeiras para um jardim público, tendo dispersado ao longo da costa sul da ilha, em locais de baixa altitude e áreas urbanas. Isto levou à instalação, em 2006, de um sistema de monitorização do vetor em toda a ilha da Madeira e à iniciação de campanhas de controlo de vetor, incluindo medidas para reduzir o número de locais de reprodução, tratamentos inseticidas para formas imaturas e adultas e educação populacional com vista à proteção individual. Contudo, o vetor continuou a expandir-se pela ilha, pensando-se que esta expansão seja explicada pela resistência do mosquito ao DDT e piretroides.^[23, 35, 39, 40]

Durante o surto, especialistas enviados pelo ECDC providenciaram orientação a todos os centros de saúde e hospital Dr. Nélio Mendonça na Madeira, e as autoridades instalaram desde logo uma unidade de consultação clínica dedicada à febre da dengue nos Centros de Saúde do Bom Jesus e Santa Luzia. Diretrizes foram formuladas e publicadas para os cuidados a ter com os doentes com dengue, e enviadas para todas as instalações de cuidados de saúde e profissionais médicos na ilha. Outra medida de prevenção foi a educação da comunidade em relação à doença, através, entre outros, dos meios de comunicação social. Foi ainda fornecida informação aos viajantes que chegavam à ilha.^[35, 39]

Nenhum caso de dengue foi identificado desde 3 de Março de 2013. Apesar de o surto ter sido lidado com sucesso, a reintrodução do vírus da dengue na Madeira é sempre possível quando o vetor está presente, sendo alarmante a rapidez, menos de 10 anos, com que ocorreu o surto depois do estabelecimento do vetor. Assim, ainda há a necessidade de desenvolver um plano de contingência que cubra surtos de doenças transmitidas por vetores, e medidas eficientes e de longo prazo, assim como um sistema de vigilância de vetor sustentável.^[35, 39]

5. Situação atual da dengue e seus vetores

Estima-se que, hoje, cerca de 3,6 mil milhões de pessoas viva em áreas tropicais e subtropicais onde o vírus da dengue tem o potencial de ser transmitido, com cerca de 100 milhões de infeções sintomáticas anualmente. Estima-se ainda que a dengue cause a perda ao nível da Esperança de Vida Corrigida pela Incapacidade (DALY) em 700 mil por ano. Ao nível económico, calcula-se que a dengue custe anualmente às Américas cerca de 2 mil milhões de euros, incluindo já as perdas indiretas ou de produtividade, mas sem incluir os custos na prevenção.^[2, 4]

Apesar da incerteza em relação a números em concreto, existem hoje evidências para dizer com certeza que a transmissão da dengue está presente em todas as regiões da OMS. O número de vítimas da dengue é particularmente elevado em comunidades de baixo rendimento de países em desenvolvimento. Quase 75% da população mundial exposta à dengue vive nas zonas Ásia-Pacífico, e grande parte dos países destas zonas são hiperendémicos para os quatro serotipos do DENV. Só a Índia representa 34% do total de casos da dengue anualmente. Isto deve-se às suas características populacionais, com regiões densamente povoadas, coincidentes com uma grande adequabilidade para a transmissão de doenças, e cidades com gestão inadequada de resíduos e água.^[2, 4, 19]

Nas Américas, a maioria dos países são hiperendémicos para a dengue, sendo que em 2010 o número de casos de dengue ultrapassou os 1,6 milhões, com 49 mil casos de dengue severa, sendo metade do número de casos só no Brasil e México. Depois do ressurgimento em força da doença nas últimas décadas, a Organização Pan-Americana da Saúde lançou novamente uma iniciativa com o intuito de controlar o vetor e prevenir a doença.^[2, 4]

Em África, a atividade da dengue aumentou substancialmente; contudo, a sua situação atual continua a ser uma incógnita. Apesar de as evidências sugerirem que os surtos de dengue estão a aumentar nesta região em número e dimensão, pensa-se que esta subida não se deva só a casos reais, mas também a uma notificação insuficiente e a erros no diagnóstico no passado, sendo que a dengue é ainda frequentemente confundida com outras doenças mais prementes e de sintomatologia semelhante, como a malária. Um dos surtos em África que se destaca nos últimos anos, e com especial interesse por se tratar de um país lusófono, é o de Cabo Verde, em 2009, com mais de 17 000 casos de dengue ligados a serotipo DENV-3. Acredita-se que os números reais referentes a África serão semelhantes aos das Américas.^[1, 4]

NA EUROPA

Hoje, existe uma constante ameaça de um futuro surto de dengue pelo *A. albopictus*, como foi observado nas transmissões locais que ocorreram em 2010, e, mais recentemente, em 2013, em França. Isto está certamente ligado ao aumento significativo do número de casos importados de dengue em viajantes que regressam à Europa, como aponta a Rede Europeia na Vigilância de Doenças Infeciosas Importadas (TropNetEurop). O ECDC investiga atualmente como melhor avaliar o risco de transmissão do vírus da dengue, e lançou recentemente a Rede Europeia de Ambiente e Epidemiologia (E3 Geoportal), criada para recolher e disponibilizar informações sobre a epidemiologia de doenças infecciosas na Europa, entre as quais a dengue.^[2, 13, 19]

Das espécies de mosquitos invasoras presentes na Europa, o *Aedes albopictus* é aquele que provavelmente representa uma maior ameaça na saúde pública europeia. Atualmente, esta espécie está vastamente estabelecida no sul da Europa, na Albânia, Bósnia e Herzegovina, Bulgária, Croácia, França, Grécia, Malta, Mónaco, Montenegro, San Marino, Sérvia, Eslovénia, Espanha, Suíça, Cidade do Vaticano e Itália, sendo este último o país onde a situação é mais preocupante (FIGURA 13).^[2, 19] Além da Madeira, também na Europa continental já houve estabelecimento pelo *A. aegypti*, encontrado na Geórgia e ao longo da sua fronteira com o sul da Rússia (FIGURA 14).^[19]

O *A. albopictus* tem uma grande capacidade de sobreviver durante o inverno em climas temperados e em contexto de alterações climáticas. Podem ainda surgir linhagens do vetor ainda mais adaptadas com transmissão aumentada, o que alteraria em muito o risco de transmissão da dengue.^[2, 13, 22]

O mosquito *Aedes aegypti* é outra espécie de mosquito invasora de extrema importância e que poderá ter impacto na saúde pública europeia. Não existem hoje condições climáticas que impeçam o amplo estabelecimento do *Aedes aegypti* no sul da Europa, na possibilidade da sua reintrodução, havendo o receio que isso possa acontecer na Europa continental por importação da Madeira. No entanto, e apesar de não estarem disponíveis mapas de risco para este vetor, é provável que a sua baixa tolerância a temperaturas baixas e a competição com o *Aedes albopictus* limitem a sua sobrevivência no sul da Europa.^[22]

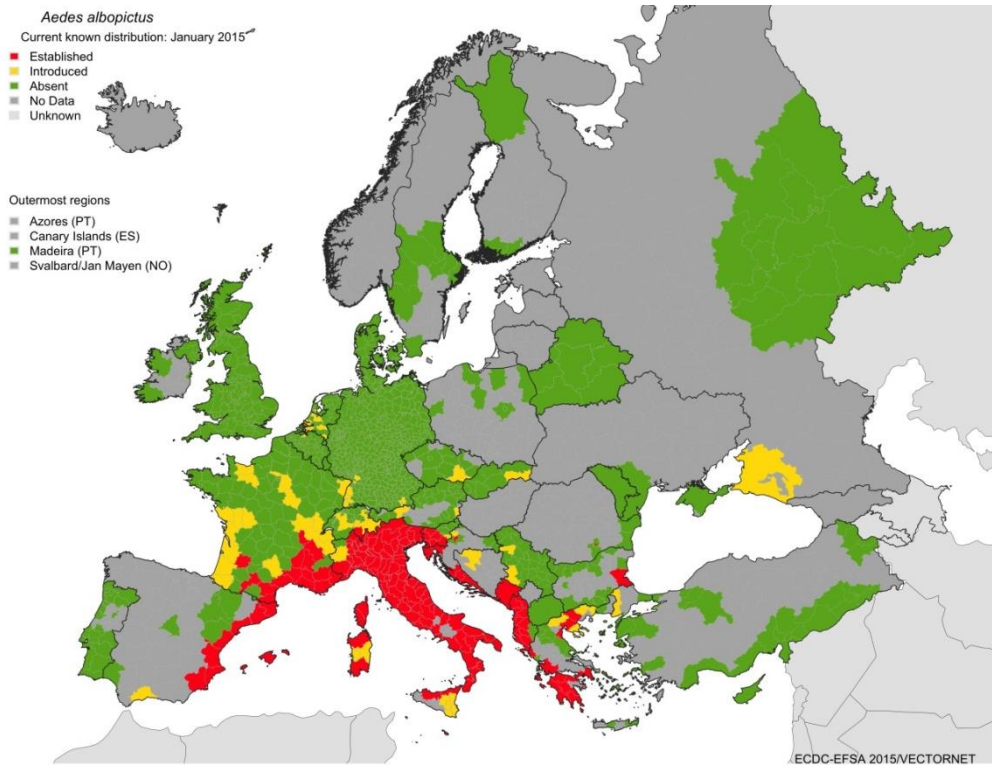


FIGURA 13. Distribuição atualmente conhecida do vetor *Aedes albopictus* na Europa em janeiro de 2015, com dados recolhidos por VBORNET. (retirado de: http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/vectors/vector-maps/Pages/VBORNET_maps.aspx, em Maio de 2015) (informação na imagem em inglês)



FIGURA 14. Distribuição atualmente conhecida do vetor *Aedes aegypti* na Europa em janeiro de 2015, com dados recolhidos por VBORNET. (retirado de: http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/vectors/vector-maps/Pages/VBORNET_maps.aspx, em Maio de 2015) (informação na imagem em inglês)

Em Portugal, segundo o relatório mais recente da REVIVE, tornado disponível ao público em Abril de 2015, foram identificados, em laboratório, 23 espécies diferentes de mosquitos, em que a única espécie exótica/invasora identificada foi *Aedes aegypti*, na ilha da Madeira (FIGURA 15). O *A. albopictus* não foi, portanto, identificado ainda no âmbito do REVIVE, nem em Portugal continental nem na Região Autónoma da Madeira. Nas amostras de mosquitos em que foi se analisou a possível presença de flavivírus patogénicos para o homem, os resultados foram negativos.^[23] Apesar das medidas impostas na Madeira, não se conseguiu ainda eliminar o *Aedes aegypti* e há hoje o risco constante de a ilha se tornar endémica da dengue. E, apesar das ações de educação da população, muitos mitos relacionados com a dengue ainda circulam entre a população madeirense, pelo que as atividades educacionais deverão tê-los em conta, uma vez que é mais difícil mudar mentalidades que a falta de conhecimento.^[22, 40]

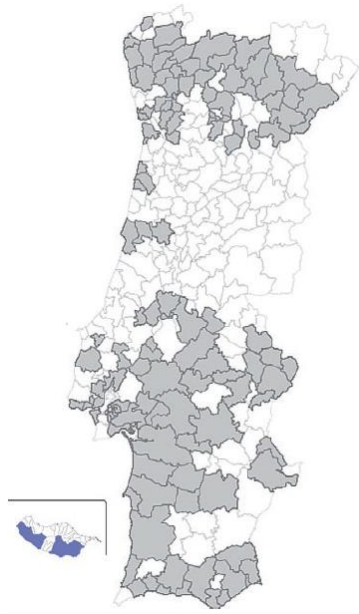


FIGURA 15. Distribuição geográfica do vetor *Aedes aegypti* em Portugal Continental e Ilha da Madeira em 2013, segundo o relatório da REVIVE. A azul, encontram-se as regiões onde está presente, a cinzento onde se fez colheita e se verificou que estava ausente, e a branco onde não se fez colheita. (retirado de: PORTUGAL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP (2014). REVIVE 2013 - Culicídeos e Ixodídeos: Rede de Vigilância de Vetores/ Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infecciosas Doutor Francisco Cambournac. Lisboa.)

6. Perspetivas futuras

À medida que as viagens e as trocas comerciais aumentam num mundo cada vez mais global, também as doenças infecciosas e transmissíveis por mosquitos. As projeções de dados apontam para que, até 2030, mais de metade da população mundial irá residir nas partes urbanas dos trópicos, além de um crescimento exponencial da população e da urbanização desorganizada. Se se tiver em conta que o *Aedes aegypti* é altamente dependente do ambiente urbano peri-doméstico, é de esperar que estas projeções tenham um grande impacto no futuro. Assim, os mesmos fatores que já foram apontados como os responsáveis pela dispersão dos vetores e conseqüente aumento da incidência da dengue nas últimas décadas, vão possivelmente continuar a influenciar a dengue no futuro.^[2, 11]

Relativamente ao DENV, já foi referido que o mesmo serotipo de dengue pode conter diferentes genótipos com diferentes níveis de virulência, e, infelizmente, os genótipos com maior virulência, segundo análises filogenéticas e epidemiológicas, estão a expulsar estirpes virais com menor impacto epidemiológico. Com a globalização, o número de países hiperendémicos vai tender a aumentar, causando também o aumento dos casos de dengue severa.^[11, 12] Os mosquitos, sendo espécies de vida curta, também podem sofrer mutações e adaptações rápidas a ambientes em mudança, com atenção à forte competição que as espécies nativas podem representar para os mosquitos locais. Isto pôde ser observado no *A. albopictus*, onde uma única substituição de um aminoácido levou à redução do período de incubação extrínseco, aumentando a eficácia da transmissão.^[2, 13]

O CLIMA E A DENGUE

As alterações climáticas são um dos mais importantes desafios ambientais que as populações irão enfrentar nas próximas décadas, sendo importante compreender como poderá afetar a saúde humana. Nos últimos 100 anos, a temperatura aumentou a nível global uma média de 0,75 °C, havendo a possibilidade de este aumento ser uma das causas do aumento significativo de surtos da dengue. Segundo o Painel Intergovernamental para as Alterações Climáticas (IPCC), espera-se que as temperaturas médias subam ainda mais a nível global. O IPCC desenvolveu quarenta Relatórios Especiais de Cenários de Emissões (SRES) cobrindo um amplo espectro de cenários categorizados em 4 classes – A1, A2, B1 e B2- que variam nas possibilidades em relação aos crescimentos económico e da população, alterações sociais e avanços tecnológicos.^[2, 7, 17]

Foi estabelecida uma ligação forte entre o clima e doenças transmitidas por mosquitos (FIGURA 16). A temperatura é uma peça chave na ecologia do DENV, tendo um papel relevante na sobrevivência do vetor adulto e no período em que o vetor consegue infetar. Temperaturas mais elevadas aumentam a taxa de desenvolvimento larval, a taxa de picadas de mosquito e reduzem o tempo de incubação do vírus no vetor, apesar de terem um impacto negativo na taxa de sobrevivência do vetor. A diminuição no tempo de incubação do vírus no vetor pode chegar a ser de 15 dias, a 25 °C, para 6,5 dias, a 30 °C. Com o esperado aumento da temperatura, prevê-se que áreas atualmente não endémicas se tornem semelhantes a nível climático com zonas que já são endémicas da dengue, podendo levar ao estabelecimento de tanto o *A. albopictus* como *A. aegypti*. Há quem defenda até que o aumento para entre 50 a 60% da população mundial a viver em áreas com risco de transmissão da dengue até 2085 esteja associado ao aumento da temperatura, acompanhado por alterações na precipitação e humidade. Outros defendem que temperaturas aumentadas em zonas já quentes poderão ter um efeito negativo no alcance da transmissão do vírus, devido a menores sobrevivência do vetor, reprodução e habitat durante o desenvolvimento larval. Neste cenário, pensa-se que a capacidade de sobrevivência do *A. aegypti* vá ser maior do que a do *Aedes albopictus*, já que está mais adaptado às épocas de seca [2, 7, 17, 37]

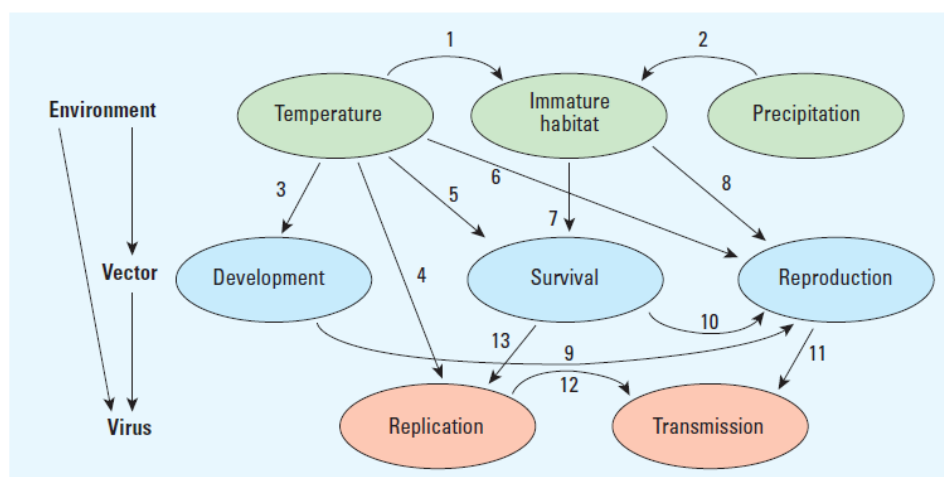


FIGURA 16. Diagrama das influências biofísicas na ecologia do DENV, com as interações entre as variáveis do clima, vetores, e o vírus. Os números identificam as relações entre as variáveis. A disponibilidade de habitat para as larvas dos mosquitos é influenciada pela temperatura através da evaporação e transpiração. (1) e precipitação (2). A temperatura é o maior regulador do desenvolvimento do mosquito (3), replicação viral em mosquitos infetados (4), sobrevivência dos mosquitos (5), e o comportamento reprodutivo dos mosquitos (6). A disponibilidade do habitat é necessária para a sobrevivência dos mosquitos imaturos (7) e reprodução dos mosquitos adultos (8). Um desenvolvimento mais rápido do mosquito e uma maior taxa de sobrevivência irão acelerar a reprodução do mosquito (9 e 10). Um aumento da reprodução do mosquito potencia a probabilidade de transmissão pelo aumento do número de vezes que o mosquito se alimenta (11), enquanto uma replicação mais rápida do vírus aumenta a transmissão através do encurtamento do período extrínseco de incubação (12). Por fim, um aumento da taxa de sobrevivência do mosquito adulto aumenta a quantidade de replicação viral (13). (retirado e adaptado de: Morin, C. W., A. C. Comrie, et al. (2013). "Climate and dengue transmission: evidence and implications." *Environ Health Perspect* 121(11-12): 1264-1272.) (informação na imagem em inglês)

Através de revisão da literatura, verificou-se que a humidade relativa e a temperatura são as duas variáveis climáticas que potencialmente vão ter maior impacto na transmissão da dengue. Por outro lado, a pluviosidade não parece ter um papel muito significativo, uma vez que o comportamento humano é possivelmente mais responsável por criar e desenvolver locais de reprodução. A temperatura, como reguladora da evaporação, irá influenciar fortemente a pluviosidade enquanto fator. Pensa-se ainda que condições maiores de secura pressionem seletivamente para uma maior resistência dos ovos à dessecação. Ainda assim, a pluviosidade influencia a disponibilidade de *habitat* para os mosquitos e também pode ser a causadora da destruição de criadouros, sendo o efeito do clima sobre a sobrevivência de vetores imaturos um equilíbrio complexo entre precipitação e temperatura.^[4, 7, 37]

Apesar de terem sido identificadas relações empíricas entre as condições climáticas, a febre da dengue e os vetores da DENV, relações causais ainda não foram robustamente estabelecidas. Vários fatores podem confundir a associação entre a febre da dengue e alterações climáticas, como o melhoramento na vigilância e reporte de casos, fazendo com que seja difícil estabelecer uma relação causal direta. O papel que as alterações climáticas das últimas décadas tiveram na propagação da dengue é ainda desconhecido, e muitos autores defendem que não é a temperatura o principal motor para a expansão da dengue, tendo o nível de urbanização e o número de contentores artificiais um peso muito maior. Na Austrália, por exemplo, as secas contínuas levam a que os habitantes tenham de recorrer a grandes recipientes de armazenamento de água. Assim, são as alterações no comportamento humano provocadas pelas alterações climáticas que acabam por influenciar maioritariamente no vetor da dengue. Ainda, apesar de a importância de variáveis socioeconómicas ter ainda de ser melhor estudada, e não ser o tema deste trabalho, pode deduzir-se que o desenvolvimento socioeconómico tem um papel na transmissão e controlo da dengue, afetando, entre outros, o armazenamento de água, o uso de ar condicionado e o tempo que os humanos passam dentro de edifícios, influenciando a frequência de contacto entre os mosquitos e os humanos. Isto observou-se durante o declínio histórico da incidência da dengue na Europa e nos EUA, e nos níveis de transmissão da dengue mais baixos nos EUA na fronteira com o México, sendo que esta diferença pode estar associada à utilização em escala de aparelhos de ar condicionado. Isto também leva à questão de se os fatores-chave identificados no risco de transmissão da dengue no passado em países em desenvolvimento terão a mesma importância em países desenvolvidos.^[2, 7, 37]

NA EUROPA

A introdução de espécies invasivas na Europa pode vir a ter um grande impacto a nível de saúde pública, com três cenários possíveis: trazerem consigo novos agentes patogénicos (como aconteceu nos séculos XVIII e XIX, com o *A. aegypti* a provocar surtos de febre-amarela e de dengue), transmitirem agentes patogénicos nativos (o caso de Itália, onde os casos de Dirofilariose aumentaram devido ao *A. albopictus*), e transmitirem novos agentes patogénicos que foram introduzidos independentemente (como foi possível observar nos casos de dengue tanto na Madeira como nos outros surtos na Europa continental). Pois, se se tiver em conta que cerca de 22,5 milhões de viajantes chegam todos os anos à Europa, e que a frequência de tanto a dengue está a aumentar a nível global, é muito possível que ocorram novos casos autóctones no futuro.^[10, 12]

Os dados climáticos e meteorológicos têm potencial para providenciar informação útil em modelos preditivos. Assim, com base em cenários de alterações climáticas fornecidos pelo IPCC, em 2007, vários estudos tentaram prever os acontecimentos e tendências futuras relativos ao *A. albopictus* nas próximas décadas, através da adequabilidade climática na Europa, recorrendo, genericamente, a duas abordagens metodológicas: modelos mecanísticos e modelos de nicho correlativo.^[7, 12]

Os modelos mecanísticos não necessitam de dados sobre a ocorrência geográfica da espécie em causa, baseando-se na construção de funções sobrepostas de variáveis geográficas em ambientes de um sistema de informação geográfica (GIS), ou em processos com princípios mecanísticos. Estes últimos baseiam-se na certeza de que o comportamento de um sistema complexo é estritamente determinado pelas interações das suas partes ou fatores que o compõem, e têm como objetivo simular e projetar a resposta de um organismo ou população através da incorporação de processos biológicos, deduzidos através da observação dos indivíduos na natureza ou em estudos de campo controlados ou de laboratório.^[12]

Os modelos de nicho ambiental correlativo dão relevância à presença, ou ausência das espécies nos pontos geográficos, e, através das variáveis ambientais ou climáticas, obtém-se o nicho específico da espécie. Com este nicho, pode-se interpolar ou extrapolar para inferir a distribuição geográfica da espécie. Existem também técnicas avançadas que providenciam os padrões na alteração da distribuição das espécies em resposta a alterações ambientais e climáticas. O grande problema das modelos correlativos é a necessidade de informação relevante, em grande quantidade e de qualidade.^[12]

Fischer et al. comparou os resultados de três estudos, dois com abordagem correlativa e um com abordagem mecanística, para construir um mapa com as possibilidades futuras de

adequabilidade do *A. albopictus* na Europa (FIGURA 17). As projeções indicam que a adequabilidade climática irá aumentar significativamente no futuro em muitas regiões onde a espécie não está presente atualmente, com especial atenção em países do oeste europeu, como Holanda, Bélgica, Luxemburgo e França (que irão providenciar condições favoráveis para o vetor nas próximas décadas), Europa central e sul do Reino Unido. No entanto, prevê-se que algumas zonas do sul da Europa, especialmente a costa mediterrânica, que tem neste momento um clima suscetível ao surgimento da espécie, sejam cada vez menos adequadas para o vetor, devido ao aumento de secura durante os meses de verão.^[12]

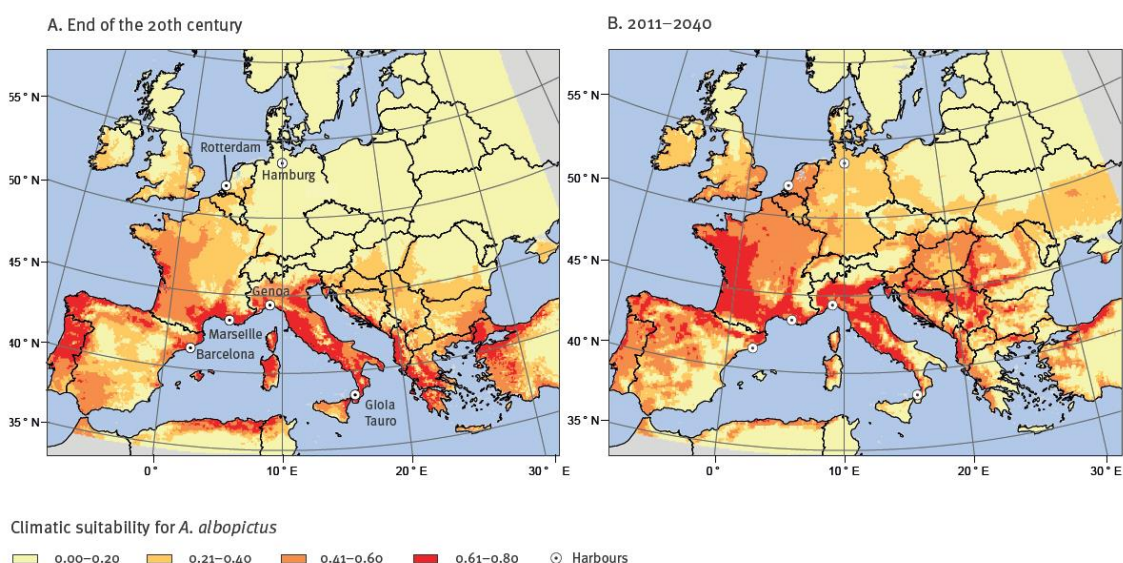


FIGURA 17. Adequabilidade climática para o *Aedes Aegypti* no final do século XX (A) e projetada (2011-2040) (B) na Europa, com a localização de portos importantes, segundo Fischer et al. (retirado de: Fischer, D., et al., Climatic suitability of *Aedes albopictus* in Europe referring to climate change projections: comparison of mechanistic and correlative niche modelling approaches. *Euro Surveill*, 2014. 19(6).) (informação na imagem em inglês)

Existem diversas discordâncias entre os estudos utilizados por Fischer et al. A França, a Alemanha e o oeste do Reino Unido podem permanecer persistentemente inadequados, mas também podem vir a ser cada vez mais adequados ao *A. albopictus*. Não há consenso também em relação ao centro da Península Ibérica, Sardenha e Sicília, sudeste de Itália e região este da Grécia. As diferenças entre os estudos podem se dever, entre outros motivos, aos diferentes níveis de relevância que se aos diversos fatores climáticos. Em jeito de conclusão, pode-se deduzir que, com as alterações de clima previstas, a adequabilidade climática irá deslocar-se não só para noroeste, mas também para o centro da Europa até ao final de 2050, e, posteriormente, para a Europa de Leste. O aumento das temperaturas pode também facilitar uma maior dispersão para regiões de maior altitude.^[12]

Existem muitas limitações na formulação de modelos, como a impossibilidade de previsão dos mecanismos de transporte, das alterações de habitats provocadas pelos extremos climáticos e pelas mudanças no uso ou ocupação do solo, das alterações bióticas, da evolução viral e do vetor e das alterações do comportamento da população humana.^[12, 13, 37] Depois, tem-se ainda diversas variáveis que frequentemente não são tidas em consideração nos modelos, nomeadamente fatores sociais, serviços de saúde, alterações demográficas, vegetação, urbanização e acessibilidade urbana.^[13]

Além dos dois vetores principais da dengue, foi também analisado o potencial na Europa de outras espécies já mencionadas. Depois da sua introdução, o *Aedes japonicus* dispersou-se rapidamente na Europa Central, e provou ser um vetor altamente competente quando testado em laboratório, podendo vir a ser um potencial vetor do DENV. Também o *A. vittatus* foi mencionado como uma possibilidade, mas não surge como uma preocupação, devido aos seus habitats larvais restritos e baixa distribuição no continente. Em relação às outras espécies, não se sabe ainda se alguma destas espécies é competente para o DENV, uma vez que ainda não foram sujeitos a infeção experimental. Por fim, pensa-se que nenhuma das espécies de mosquitos indígenas europeias tenha capacidade de transmitir o DENV eficazmente.^[10, 13, 19]

Em relação ao *A. aegypti*, a história prova que existem condições compatíveis com a transmissão viral. A maior parte da Europa aparenta atualmente baixa adequabilidade climática, e parece que uma colonização na região sul da Europa continental, como resultado de uma introdução da Madeira ou da Geórgia, apesar de ser possível, seria ainda muito limitada pelas temperaturas de inverno.^[19]

Mas claro que o clima não é único fator que influencia a dispersão da dengue e seus vetores. A suposição de que um vetor irá sempre colonizar novos habitats se a temperatura permitir é bastante simplista. O estabelecimento da DENV na Europa é difícil de prever de forma robusta, e está sujeito a múltiplos fatores que poderão ter um impacto direto na transmissão do vírus. Por exemplo, e como já foi referido, verificou-se uma relação entre febre da dengue e uma densidade populacional elevada, sendo este preditor utilizado em muitos dos modelos para a dengue. Isto tem como consequência a passagem das zonas de maior risco para as zonas onde a densidade da população é maior, e uma diminuição da importância relativa dos preditores ambientais. É interessante notar, assim, que, na Europa, são as áreas urbanas as que parecem ter algum risco de propagação da dengue, enquanto nas zonas rurais não há esse risco, presentemente. Assim, apesar de as condições ambientais (como a baixa temperatura) imporem limitações consideráveis, os fatores humanos podem ajudar à sustentabilidade das espécies invasoras em zonas onde o clima não é tropical.^[19, 36]

A nível genético, não se conhece a suscetibilidade da população europeia para a dengue severa, que, como já foi referido, também pode ocorrer em infeções primárias. No entanto, uma vez que a Europa tem uma grande diversidade genética, acredita-se que haja uma suscetibilidade heterogénea, e que dependa dos antecedentes genéticos do hospedeiro. A sua importância não deve ser desvalorizada. Nas epidemias da dengue em Cuba, observou-se que havia um risco acrescido para DHF/DSS nos indivíduos com ancestrais europeus quando comparado com os que tinham ancestral africano. É interessante notar que, apesar dos 19 países africanos onde circula o DENV, são esporádicos os casos de DHP reportados.^[19]

EM PORTUGAL

Em relação a Portugal Continental, existem diferenças nas projeções dos diferentes estudos. Do Algarve até ao distrito de Lisboa, inclusive, as projeções variam de “cada vez mais adequada” para “cada vez menos adequada”. Entretanto, o centro e o norte do país deverão permanecer adequados para um possível estabelecimento pelo *A. albopictus*.^[12]

Na Madeira, o *Aedes aegypti* já está vastamente estabelecido, e por isso, não se deve desvalorizar a possibilidade da ilha se tornar endémica para o serotipo DENV-1, ou ainda, da ocorrência de novos surtos devido à introdução dos outros serotipos. Isto teria consequências nocivas diretas para a economia da região. Há ainda o risco do mosquito ser introduzido em Portugal da Madeira, não só devido às trocas comerciais, mas também ao tráfego de ferries. É possível que o DENV-1 ainda esteja presente na ilha, através da transmissão vertical do vírus de mosquitos-fêmea para a sua descendência. Mas uma vez que não houve casos autóctones de dengue na Madeira desde 2013, um novo surto por DENV-1 preservado por transmissão vertical parece improvável.^[13, 19]

Em Portugal, a suscetibilidade da população também seria difícil de prever. No entanto, a população portuguesa tem muita influência genética africana, e, curiosamente, durante um estudo sobre polimorfismos do gene da MHC com origem norte-africana e europeia, verificou-se que o centro de Portugal tem mais influências europeias, enquanto o sul e o norte tem mais influências norte-africanas.^[41] Isto poderá ter algum peso caso ocorra uma infeção pelo DENV, e seria relevante estudar o assunto com mais pormenor.

Surge finalmente a questão se a dengue é efetivamente uma ameaça real futura para Portugal e Europa continental. Se se tiver em atenção as avaliações de risco feitas para a dengue, em que apenas algumas áreas na costa dos mares Mediterrâneo e Adriático, assim como algumas grandes cidades europeias, poderão, a longo prazo, sofrer o estabelecimento endémico do DENV, pode-se concluir que o risco é baixo. Isto, somado ao facto de o *Aedes*

albopictus ser um vetor de capacidade de transmissão baixa, pode levar à ocorrência de pequenos a médios surtos no futuro. No entanto, se as alterações climáticas reais se verificarem mais compatíveis com o *A. aegypti* do que o que as previsões apontam, então o cenário muda, e a dengue pode afetivamente tornar-se uma doença endémica em Portugal e na Europa.^[17, 19]

VACINAS, ANTIVIRAIS E MÉTODOS DE CONTROLO DE VETOR

O crescimento nos últimos anos na área de investigação da dengue deveu-se a diversos fatores, nomeadamente o aumento na perceção da carga atual da doença, o surgimento de mercados viáveis criados por alterações económicas em países onde a doença é endémica, e o aumento de possibilidades na descoberta de terapêuticas, impulsionadas por avanços na patogénese da doença.^[30]

As vacinas contra a dengue têm estado em desenvolvimento há mais de 50 anos.^[16] Estão a ser produzidas atualmente vacinas com vírus ativos atenuados e inativos. A vacina da dengue tem de ter diversas características: ser segura para adultos e crianças (e a avaliação da segurança é dificultada, uma vez que os ensaios clínicos são realizados em adultos, e crianças e adultos têm diferenças a nível da permeabilidade microvascular), conseguir evitar a ADE e consequências patogénicas do vírus, estimular a produção de Ac neutralizantes e imunidade mediada por linfócitos T auxiliares, induzir imunidade e proteção a longo prazo, ser facilmente armazenada e transportada, requerer apenas uma ou duas doses, e ser custo-efetiva.^[1, 6] Uma das grandes vantagens de uma vacinação bem-sucedida contra a dengue seria a redução de um grande número de reservatórios humanos com infeções inaparentes mas com capacidade de propagação na transmissão do DENV, e esta redução levaria a um menor risco da sua transmissão.^[21]

Embora os resultados encorajadores observados aquando a administração de vacinas com vírus da dengue atenuados, a base molecular da atenuação não é totalmente compreendida, e surge o receio de que a interferência na replicação entre serotipos e/ou interferência na estimulação imune leve a respostas imunes desequilibradas, resultando em proteção incompleta e aumento da severidade da doença.^[1, 27] Assim, são vários os desafios na área de investigação de uma vacina da dengue: a falta de conhecimento sobre quais os epítomos-alvo mais adequados para as vacinas; a compreensão incompleta da imunologia da dengue; a possibilidade de a vacina despoletar ADE; a necessidade de uma vacina tetravalente; o facto de os serotipos do DENV não induzirem imunidade heterotípica de longa duração; a ausência de um modelo animal ideal que reproduza de maneira precisa a síndrome de permeabilidade

capilar temporária, acompanhada por uma descida da carga viral observada em doentes; o perigo de uma infeção natural consequente, principalmente depois de muito tempo, poder conduzir a dengue severa. Adicionalmente, como todos os vírus compostos por RNA, as vacinas baseadas em agentes vivos atenuados estão sujeitas a rápidas mutações genéticas e recombinações, levando à preocupação de que haja uma reversão para um fenótipo virulento.
[1, 5, 27]

A vacina que se encontra mais perto da comercialização, a CYD-TDV, desenvolvida pela *Sanofi Pasteur*, é uma vacina quimérica obtida a partir do vírus da febre-amarela 17D, e acabou recentemente a fase III de ensaios clínicos. Nesta vacina, os genes para as proteínas prM e E foram substituídos pelas proteínas prM e E específicas da dengue. Infelizmente, a vacina teve resultados pobres durante o ensaio IIb, quando testada em crianças tailandesas, sendo que até se verificou que a vacina tinha diferentes níveis de eficácia para serotipos diferentes. Uma das muitas hipóteses apresentada para explicar esta situação é a possível dominância de um ou dois serotipos na infeção, quando introduzidos em simultâneo, uma vez que cada tipo de DENV tem propriedades virológicas únicas. Esta dominância iria ter consequências ao nível do processo de replicação de antigénios, e subsequente resposta imune, o que levaria a que algumas estirpes da vacina fossem eficazes, enquanto outras ofereceriam pouca ou nenhuma proteção.^[1, 6, 16] Também na fase III, que envolveu as Filipinas, a Indonésia, a Malásia, a Tailândia e o Vietnã, e mais de 10.200 indivíduos, se verificou que a CYD-TDV tem uma eficácia geral baixa, de 56%, verificando-se novamente uma eficácia específica para cada serotipo. Porém, a CYD-TDV tem um bom perfil de segurança e aparenta ser eficiente, em mais de 88%, na proteção contra DHF depois de três injeções. Isto levanta novas questões na obtenção de uma vacina para a dengue.^[19]

A área de investigação das vacinas defronta-se agora com inúmeras novas questões. Como por exemplo, se muito pequenas diferenças em antigénios da vacina e do vírus circulante poderão afetar significativamente a eficácia da vacina. Isto significaria que uma única vacina da dengue não seria adequada para o uso global e que novas estirpes do vírus para a vacina teriam de ser introduzidos em resposta à evolução viral e variação genotípica. Ou ainda: se é possível que o perfil imunitário obtido da infeção sequencial e natural dos quatro serotipos seja diferente daquele gerado pela sua exposição simultânea, o que, com o aparecimento de uma possível nova estirpe, pode pôr em causa a obtenção de uma vacina segura e eficaz, uma vez que até se põe a hipótese agora que poderá haver mais serotipos que ainda não foram identificados.^[6, 16, 20]

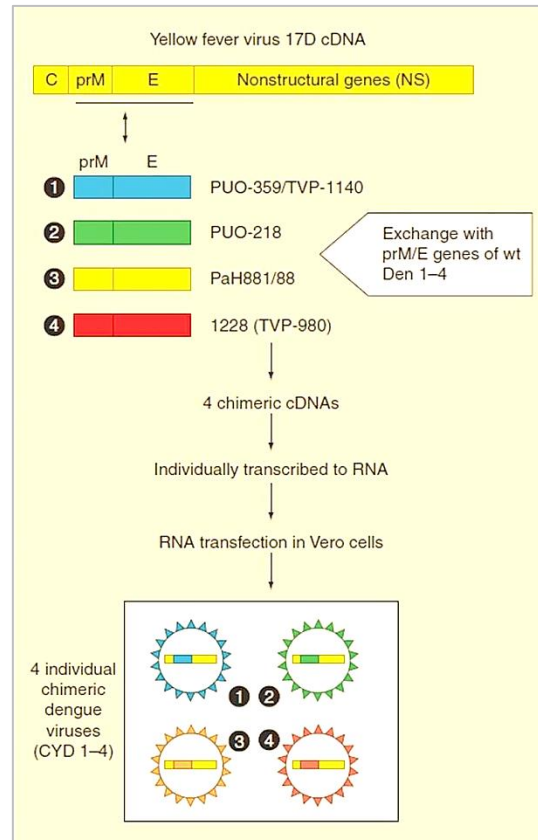


FIGURA 18. Construção da vacina tetravalente da *Sanofi Pasteur*. (retirado de: Lam, S. K. (2013). "Challenges in reducing dengue burden; diagnostics, control measures and vaccines." *Expert Rev Vaccines* 12(9): 995-1010) (informação em inglês)

Na área dos antivirais, ainda não está disponível um agente eficaz. Assim como no desenvolvimento de uma vacina, também nos antivirais a falta de total compreensão da patogénese da dengue surge como um obstáculo. Um antiviral ideal seria eficaz na diminuição do tempo da doença, na redução da severidade dos sintomas comuns e na prevenção do desenvolvimento de complicações severas. Somado a isto, o medicamento deveria ser de baixo custo, de fácil administração, e com um perfil excelente de risco-benefício.^[5, 30]

Diferentes estratégias para a obtenção de um antiviral foram testadas pela indústria farmacêutica, como o impedimento da entrada do vírus na célula, a utilização de Ac monoclonais geneticamente modificados, e a utilização de inibidores de enzimas virais. Uma vez que os níveis aumentados de citocinas, em particular, contribuem para a severidade da doença, a sua redução por meio de diferentes medicamentos pode ter um efeito terapêutico, estando a ser melhor estudados neste momento a tetraciclina, o doxiciclina e a pentoxifilina. Adicionalmente, a cloroquina, o balapiravir, e a terapia oral com corticosteroides podem vir a ser comercializados em breve como agentes terapêuticos anti dengue.^[1]

Vários problemas surgem na utilização, no dia-a-dia da prática clínica, de terapêuticas contra a dengue. Primeiro, uma intervenção antiviral só teria um impacto clínico positivo quando o pico de viremia ocorre, ou seja, tipicamente nas primeiras 48 horas de doença, quando a maioria dos doentes ainda não procurou ajuda médica. Isto apresenta diversas limitações: há muitos doentes que não se apresentam em centros de cuidados de saúde, a dengue apresenta sintomas semelhantes com outras doenças infecciosas nos primeiros dias, os testes de diagnóstico rápido são relativamente caros e nem sempre estão disponíveis, e principalmente, a identificação de doentes em risco de desenvolverem dengue severa continua muito difícil.^[30]

A eliminação de uma espécie no início da sua propagação é possível e já foi alcançada em diversos locais. Mas, quando a espécie já está largamente estabelecida, as medidas de controlo ficam limitadas à redução do risco de transmissão. As medidas tradicionais sozinhas provaram-se muitas vezes ineficientes para controlo do *A. albopictus* e, infelizmente, as medidas inovadoras que estão a ser desenvolvidas estão ainda muito focadas no *A. aegypti*. Um importante avanço recente no controlo do vetor foi a adaptação da bactéria endossimbiótica *Wolbachia*, do género *Drosophila*, aos vetores da dengue. Tem como efeito a redução no tempo de vida do mosquito e o bloqueio na transmissão do DENV. Esta tecnologia tem a vantagem de poder ser implementada de modo relativamente barato, podendo ser introduzida rapidamente em países em desenvolvimento. Neste momento, testa-se o grau de sucesso a que chega a invasão e fixação de mosquitos *Aedes aegypti* com *Wolbachia* em populações nativas.^[1, 10, 13, 24] Tem-se algum receio, porém, que esta estratégia perca a sua eficácia a longo prazo, devido a alterações evolucionárias nos genomas do vetor, do vírus e/ou da bactéria.^[24]

Outra estratégia inovadora é a modificação genética do *A. aegypti* para possuir um gene letal dominante (*RIDL: Release of Insects with Dominant Lethality*) e libertação de mosquitos macho que carregam este gene. No entanto, a introdução na natureza de populações que foram manipuladas geneticamente é controversa e necessita de um estudo aprofundado que meça as possibilidades a longo prazo, sendo que é provável que não seja introduzida num futuro próximo.^[1, 16] O método SIT (*Sterile insect technique: técnica de inseto estéril*), em desenvolvimento desde os anos 70, apresentou alguns problemas quando testado em contexto tropical e experimental, necessitando também de mais estudos para avaliar a sua eficácia e segurança em populações selvagens.^[22]

Novos pesticidas estão também a ser desenvolvidos. Entre eles estão óleos essenciais com elevada atividade larvicida para o *Aedes aegypti*, e biopesticidas rápidos e seguros baseados

em nanopartículas prateadas, sintetizadas pela bactéria *Bacillus thuringiensis* e pela planta *Sida acuta*.^[1]

As redes tratadas com pesticidas e armadilhas para mosquitos continuam a ser métodos de prevenção a apostar, juntamente com a educação da população, uma vez que o controlo de vetor, mesmo que bem-sucedido numa perspetiva entomológica, nem sempre se traduz na redução da infeção ou de doença.^[1, 6]

7. Discussão

A Estratégia Global da OMS para a Prevenção e Controlo da Dengue 2012-2020^[42] tem como objetivo a redução da mortalidade da dengue em pelo menos 50% e da morbilidade causada pela dengue em pelo menos 25% (FIGURA 18). A estratégia promove a ação coordenada de parceiros multisectoriais, com uma abordagem integrada para a gestão de vetor, e medidas de controlo sustentáveis. Isto requer evidentemente o trabalho conjunto de governos, comunidades e organizações internacionais, começando pela obtenção de melhores estimativas do peso global da dengue. Os esforços focam-se então em três aspetos principais: vigilância para planeamento e resposta rápida, redução da carga global da doença e alteração de comportamentos para melhorar o controlo de vetor.^[15] Com o suporte da OMS, foi desenvolvida recentemente a organização *Partnership of Dengue Control* (PDC), com o objetivo de atingir as metas definidas pela OMS em 2012, investindo na inovação das vacinas, controlo de vetores, tratamento antiviral, gestão clínica, diagnóstico, vigilância e mobilização social.^[16]

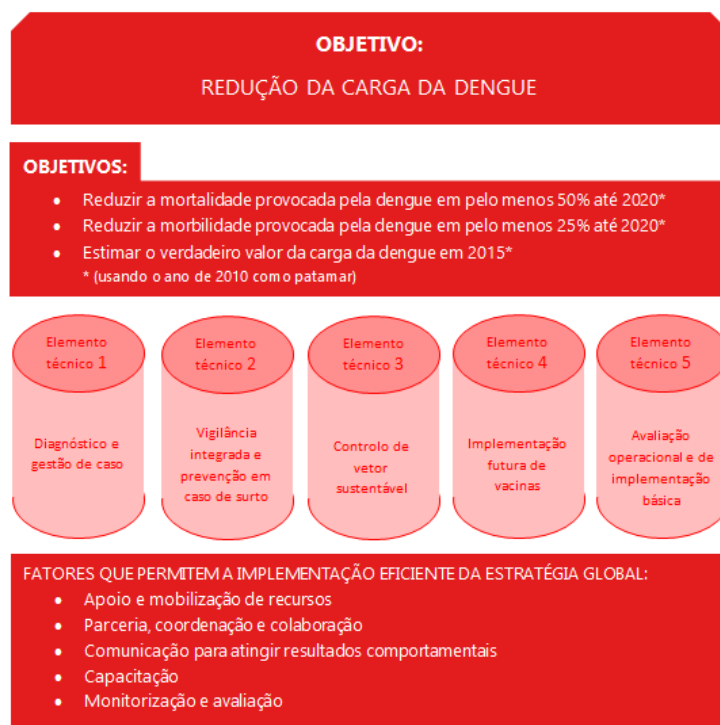


FIGURA 19. A estratégia global da OMS para a prevenção e controlo da dengue 2012-2020 (retirado e adaptado: WHO (2012). *Global strategy for dengue prevention and control*. Geneva, World Health Organization.)

Várias agências de financiamento governamentais e instituições de investigação pelo mundo estão atualmente a apoiar a investigação da dengue. Entre eles, estão os Institutos Nacionais de Saúde dos Estados Unidos, 7º Programa-Quadro (*European Framework*

Programme) e o *Welcome Trust* (Reino Unido).^[30] Sob o 7º Programa-Quadro, a UE lançou um convite, com o título “Controlo compreensivo da febre da dengue sob condições climáticas em mudança”, financiado em 18 milhões de euros para três consórcios. Liderados pelo Hospital da Universidade de Heidelberg, na Alemanha, Universidade de Umeå, na Suécia, e Instituto Pasteur, em França, estão envolvidos, ao todo, 38 parceiros de 21 países, incluindo países onde a dengue é endémica e epidémica. Cada consórcio criou um projeto, IDAMS, DengueTools e DENFREE, respetivamente, estando incluídos neste último duas instituições portuguesas, o IPATIMUP e a FFCUL. Os projetos têm diferentes focos e objetivos, mas têm em comum a intenção de abordar a ameaça da dengue, não só em países endémicos, mas também na Europa.^[43]

Os mecanismos que conduzem ao desenvolvimento da patologia da dengue representam ainda um mistério para os cientistas. Espera-se que a aplicação de nanotecnologia melhore o conhecimento das interações vírus-hospedeiro e vírus-vetor^[1], ajudando no desenvolvimento de técnicas de diagnóstico, abordagens terapêuticas, marcadores de prognóstico, novos inseticidas e vacinas. Também a compreensão dos fatores genéticos, determinantes para a resistência ou suscetibilidade para dengue severa, poderá ajudar na aplicação de tecnologias genómicas nos próximos anos.^[3]

Com os mais recentes resultados dos ensaios clínicos da vacina CYD-TDV, levantam-se questões sobre a segurança e eficácia de qualquer estratégia de *design* de uma vacina que possa ser desenvolvida. No entanto, parece que a única solução possível para a eliminação destes receios são extensas e rigorosas avaliações clínicas e pré-clínicas.^[6]

Relativamente à dengue, a cooperação entre países e um maior conhecimento em relação às espécies invasoras em contexto europeu na Europa é essencial. O primeiro passo é o reconhecimento da dengue como uma doença com crescente severidade e magnitude e que pode ter sérias implicações futuras. A dengue foi e continua a ser uma doença negligenciada, mas, tendo em conta o seu grande potencial de expansão, é essencial refletir qual a direção a tomar a nível político e estratégico para tentar controlar a sua propagação e reduzir o seu impacto, e, através de dados epidemiológicos, definir uma alocação consciente de fundos, quando for necessário. Tudo isto é de enorme importância, uma vez que, apesar de muitos países endémicos terem uma componente de controlo de vetor nos seus programas de controlo e prevenção da dengue, os profissionais de saúde pública falham muitas vezes em passar das palavras à ação. Atualmente, o comércio de pneus usados é considerado o maior risco de introdução de espécies invasivas de mosquitos na Europa, sendo importante a aplicação de medidas de vigilância e controlo na mercadoria de risco. É também essencial a

identificação de vias possíveis de dispersão, como rotas de transporte frequentes, a partir de grandes portos europeus como o de Roterdão ou de Hamburgo, uma vez que o destino final dos contentores de mercadorias que chegam aos portos são regiões no interior do continente. Esta necessidade é demonstrada pela descoberta de *A. albopictus* na região sudeste da Alemanha.^[2, 12, 15, 22]

A propagação de outras espécies de mosquitos para a Europa também deve ser levada em conta, não só devido ao incómodo que o seu estabelecimento poderá causar, mas também devido à capacidade adaptativa que o DENV tem para infetar novas espécies de mosquitos. Uma maior vigilância também ao nível da doença permitirá que a deteção seja precoce e que possa levar à rápida implementação de medidas de controlo. Isto não é só necessário para a dengue, mas para todas as doenças causadas por vírus transmitidos pelos mosquitos *A.aegypti* e *A.albopictus*, como os vírus da febre-amarela e da chikungunya.^[10, 15, 22] Outras doenças, como a malária e a encefalite do Nilo Ocidental (causada pelo vírus do Nilo Ocidental) também têm causado receio em diversas regiões europeias, através da infeção de populações nativas.^[22, 33] Devido às restrições económicas atuais, torna-se difícil a implementação e manutenção da vigilância do vetor e epidemiológica da dengue. Ainda assim, um potencial surto da dengue, com os programas de vigilância atuais, seria rapidamente identificado em qualquer parte da Europa.^[19]

Sabe-se que as alterações climáticas estão a ocorrer, por fatores humanos ou naturais, ou até por uma conjugação dos dois. Há uma possibilidade de que estas alterações ajudem à expansão de diversas doenças transmitidas por mosquitos. Prevê-se que, nas próximas décadas, haja um aumento da frequência, intensidade e duração de eventos climáticos extremos, que irão afetar indubitavelmente a transmissão da dengue.^[7] É assim essencial a melhor compreensão da relação entre o clima e a doença para melhor mitigar o seu impacto futuro. Não se sabe até que ponto a expansão da dengue se deveu a alterações climáticas, sendo que são as alterações socioeconómicas, em combinação com as alterações ecológicas e demográficas, as principais apontadas na literatura. A influência dos fatores na propagação da dengue parece também variar em diferentes locais. Por exemplo, em países como a Austrália, onde há o hábito de armazenar a água devido à seca, o comportamento humano tem um grande peso na transmissão da dengue, enquanto noutros locais, como Porto Rico^[44], o próprio clima irá influenciar, do modo direto, a doença e sua dispersão. Um melhor conhecimento da influência do clima na ecologia do DENV é necessário para melhorar as projeções do risco futuro da doença, permitindo uma maior preparação e melhores estratégias de controlo da transmissão do DENV.^[7, 44]

Os condicionamentos climáticos continuam a ser o principal impedimento para o estabelecimento dos mosquitos *Aedes* na Europa. No entanto, em regiões temperadas, como Portugal, o *A. albopictus* poderá conseguir sobreviver durante os meses mais frios ou mais quentes.^[12, 13] Ainda, apesar de estar associado apenas a pequenos surtos, parece agora claro que as populações europeias de *Aedes albopictus* estão em evolução e em adaptação aos seus ambientes locais, e a sua capacidade vetorial também pode sofrer alterações.^[22] O que se propõe deste modo é que as regiões em que se prevê que poderão ter um risco aumentado de transmissão da dengue no futuro estejam preparadas de uma maneira eficiente e específica para a dengue, principalmente ao nível dos sistemas de saúde. É necessária também a educação em saúde pública da comunidade, com modificação dos comportamentos, e urgente adaptação da regulação legal a nível europeu. Isto ganha importância quando se tem em atenção que foi a falta de vontade política e de recursos financeiros, técnicos e científicos que impôs restrições nas intervenções de controlo de vetor em muitos dos países onde a dengue já é endémica.^[13, 19]

Estudar a filo-geografia do vírus e do vetor poderá providenciar informação importante sobre a sua deslocação no espaço ao longo do tempo. Adicionalmente, os modelos matemáticos podem ajudar a melhorar o nosso conhecimento não só das dinâmicas de transmissão e comportamento do vetor e da carga real da dengue, mas também do impacto das vacinas e da custo-efetividade de estratégias de controlo de vetor. Isto permitirá que decisores políticos tenham o máximo de informação possível e possam planear futuras intervenções em saúde pública. Também as empresas de desenvolvimento de vacinas e agências de controlo de vetor precisam de projeções robustas e de confiança. Assim, é recomendado que orientações para a modelagem para projeções futuras da dengue sejam desenvolvidas por agências envolvidas na saúde pública a nível global, como a OMS, o ECDC e o Centro americano para o Controlo de Doenças.^[1, 11, 12]

As consequências do DENV enquanto invasor silencioso não devem ser desconsideradas. Como já foi referido, pensa-se que a maioria das infeções primárias provocadas pelo DENV seja inaparente. Isto leva a que populações aparentemente *naïve* possam não o ser, fazendo com que, num surto posterior, e possivelmente de um serotipo diferente, haja uma maior probabilidade para o desenvolvimento de dengue severa, sem a prévia preparação das entidades de saúde pública. Apesar de a dengue severa ocorrer apenas numa pequena porção de infeções da dengue, a sua identificação precoce em doentes de alto risco é difícil, e doentes com infeções não complicadas são frequentemente hospitalizados para observação, com todos os custos que isso acarreta para o sistema e para o próprio indivíduo. Uma vez que a dengue

impõe um grande peso nos sistemas cuidados de saúde, a triagem rápida e efetiva por pessoal experiente ao nível primário, sistemas de transporte eficientes e acessíveis (para facilitar avaliações clínicas diárias), e campanhas para educação do público ajudariam a diminuir hospitalizações desnecessárias.^[5, 21]

Em Portugal, em especial no território continental, existe a necessidade de um plano nacional de controlo e medidas de contingência a ser acionadas no evento de surgirem casos endémicos, com uma ainda maior cooperação e integração com a vigilância a nível europeu.^[35] Ao nível da vigilância, é preciso ter em atenção que a REVIVE é ainda jovem quando comparada com programas do mesmo género noutros países europeus^[9], e que apresenta ainda algumas limitações: dos 308 concelhos portugueses, apenas 151 estiveram sob vigilância de 2008 a 2013 pelo programa, havendo lacunas principalmente nos Açores e na região centro.^[33]

Com o aumento de surtos de dengue em países endémicos, que são muitas vezes os destinos turísticos para os portugueses, como é o caso do Brasil e do México, assim como outros países lusófonos, como Angola e Cabo Verde, é preciso preparar o Sistema Nacional de Saúde para a eventualidade de um doente vir a desenvolver a dengue severa. É por isso essencial que os profissionais de saúde estejam familiarizados com uma doença a que não estão habituados, e em que a experiência tem um papel importante no diagnóstico precoce e na administração do tratamento adequado em casos severos. É necessário também que estejam preparados para o diagnóstico de infeções da dengue, mesmo em residentes que não saíram do país nos últimos 14 dias. Esta necessidade surge depois de um caso de dengue^[19], durante o surto em França em 2013, só ter sido diagnosticado por um terceiro médico. Adicionalmente, com o número crescente, em Portugal e no mundo, de hipertensos, diabéticos e outras morbilidades, e medicação associada, e com o aumento da esperança média de vida, é necessário saber o peso que estas suscetibilidades podem ter no futuro ao nível da dengue. São estes agentes que podem explicar a substituição observada na Ásia e na América^[3] dos casos de dengue severa para grupos de idade mais avançada.

Relativamente à Madeira, o facto de a dengue ter sido uma doença nova em território nacional pode explicar a inexistência de casos severos da doença durante o surto na Madeira de 2012.^[39] No entanto, uma vez que uma das principais causas de dengue severa é a infeção secundária, é possível que o mesmo não aconteça caso haja um segundo surto na Madeira com um novo serotipo. É essencial que casos de dengue de surtos futuros sejam alvo de serotipagem, e que a população seja avisada da possibilidade de uma re-infeção, com maior gravidade. Outros surtos podem ocorrer, uma vez que o *A. aegypti* é um vetor altamente

eficaz para outros vírus, como o da febre-amarela, de severidade superior e com uma maior taxa de mortalidade. Assim, a Madeira tem de estar preparada ao nível de sistemas de saúde para casos severos da dengue e outras doenças tipicamente tropicais e subtropicais, não só a nível material, mas também de pessoal personalizado.

8. Conclusão

Há poucas décadas atrás, o *Aedes aegypti* estava presente em Portugal. Isto prova que, apesar de inadequabilidade climática, o estabelecimento desta espécie é possível. Adicionalmente, com a crescente dispersão do *Aedes albopictus*, Portugal pode vir a assistir futuramente a surtos não só de dengue mas também de chikungunya. Como resultado do surto na Madeira de 2012, muito se discutiu sobre quais seriam as potencialidades da dengue em Portugal continental, mas, como se pode inferir ao longo deste trabalho, tentar antecipar o que poderá ocorrer no futuro é complicado ou mesmo impossível. Apesar de o clima representar claramente um fator importante na propagação e estabelecimento do vetor da dengue, o problema que esta doença representa é complexo e existem inúmeros outros fatores que têm de ser tidos em atenção, e que são difíceis de prever a curto e a longo prazo. A identificação dos mesmos e a sua utilização para o melhoramento de modelos preditivos para a dengue na Europa é o próximo passo a seguir, de modo à consciencialização das entidades de saúde pública para um possível surto da dengue.

É também essencial o investimento na investigação do DENV e sua relação com o sistema imune, visto que a sua melhor compreensão ajudará à produção de vacinas e antivirais, e na investigação e introdução de novos métodos de controlo de vetor. A partilha de informação entre entomologistas médicos, profissionais de saúde pública responsáveis e decisores políticos é necessária para a otimizar o estado de preparação para doenças transmitidas por vetores. É agora mais que nunca crucial a união e consenso dos decisores políticos envolvidos na saúde pública, não só a nível europeu, mas a nível mundial. São os seus esforços e intervenções que terão grande importância na modelação do panorama futuro da dengue e outras doenças transmitidas por vetores, e o seu peso associado nas populações humanas.

REFERÊNCIAS

1. Guzman, M.G. and E. Harris, *Dengue*. Lancet, 2015. **385**(9966): p. 453-65.
2. Murray, N.E., M.B. Quam, and A. Wilder-Smith, *Epidemiology of dengue: past, present and future prospects*. Clin Epidemiol, 2013. **5**: p. 299-309.
3. Yacoub, S., J. Mongkolsapaya, and G. Screaton, *The pathogenesis of dengue*. Curr Opin Infect Dis, 2013. **26**(3): p. 284-9.
4. Bhatt, S., et al., *The global distribution and burden of dengue*. Nature, 2013. **496**(7446): p. 504-7.
5. Simmons, C.P., et al., *Dengue*. N Engl J Med, 2012. **366**(15): p. 1423-32.
6. Thomas, S.J., *Developing a dengue vaccine: progress and future challenges*. Ann N Y Acad Sci, 2014. **1323**: p. 140-59.
7. Naish, S., et al., *Climate change and dengue: a critical and systematic review of quantitative modelling approaches*. BMC Infect Dis, 2014. **14**: p. 167.
8. Zeller, H., et al., *Mosquito-borne disease surveillance by the European Centre for Disease Prevention and Control*. Clin Microbiol Infect, 2013. **19**(8): p. 693-8.
9. Schaffner, F., et al., *Development of guidelines for the surveillance of invasive mosquitoes in Europe*. Parasit Vectors, 2013. **6**: p. 209.
10. Schaffner, F., J.M. Medlock, and W. Van Bortel, *Public health significance of invasive mosquitoes in Europe*. Clin Microbiol Infect, 2013. **19**(8): p. 685-92.
11. Messina, J.P., et al., *The many projected futures of dengue*. Nat Rev Microbiol, 2015. **13**(4): p. 230-9.
12. Fischer, D., et al., *Climatic suitability of Aedes albopictus in Europe referring to climate change projections: comparison of mechanistic and correlative niche modelling approaches*. Euro Surveill, 2014. **19**(6).
13. Schaffner, F. and A. Mathis, *Dengue and dengue vectors in the WHO European region: past, present, and scenarios for the future*. Lancet Infect Dis, 2014.
14. Semenza, J. and H. Zeller, *Integrated surveillance for prevention and control of emerging vector-borne diseases in Europe*. Euro Surveill, 2014. **19**(13).
15. Guzman, M.G., et al., *Dengue: a continuing global threat*. Nat Rev Microbiol, 2010. **8**(12 Suppl): p. S7-16.
16. Wilder-Smith, A. and P. Macary, *Dengue: challenges for policy makers and vaccine developers*. Curr Infect Dis Rep, 2014. **16**(5): p. 404.
17. Back, A.T. and A. Lundkvist, *Dengue viruses - an overview*. Infect Ecol Epidemiol, 2013. **3**.

18. Srikiatkachorn, A. and J.F. Kelley, *Endothelial cells in dengue hemorrhagic fever*. Antiviral Res, 2014. **109**: p. 160-70.
19. Parreira, R. and C.A. Sousa, *Dengue fever in Europe: could there be an epidemic in the future?* Expert Rev Anti Infect Ther, 2015. **13**(1): p. 29-40.
20. Mustafa, M.S., et al., *Discovery of fifth serotype of dengue virus (DENV-5): A new public health dilemma in dengue control*. Med J Armed Forces India, 2015. **71**(1): p. 67-70.
21. Grange, L., et al., *Epidemiological risk factors associated with high global frequency of inapparent dengue virus infections*. Front Immunol, 2014. **5**: p. 280.
22. Medlock, J.M., et al., *A review of the invasive mosquitoes in Europe: ecology, public health risks, and control options*. Vector Borne Zoonotic Dis, 2012. **12**(6): p. 435-47.
23. PORTUGAL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, I., *REVIVE 2014 - Culicídeos e Ixodídeos: Rede de Vigilância de Vetores/ Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infeciosas Doutor Francisco Cambournac*. 2015: Lisboa.
24. Carrington, L.B. and C.P. Simmons, *Human to mosquito transmission of dengue viruses*. Front Immunol, 2014. **5**: p. 290.
25. Wan, S.W., et al., *Autoimmunity in dengue pathogenesis*. J Formos Med Assoc, 2013. **112**(1): p. 3-11.
26. Beltran, D. and S. Lopez-Verges, *NK Cells during Dengue Disease and Their Recognition of Dengue Virus-Infected cells*. Front Immunol, 2014. **5**: p. 192.
27. Stephenson, J.R., *Understanding dengue pathogenesis: implications for vaccine design*. Bull World Health Organ, 2005. **83**(4): p. 308-14.
28. Olkowski, S., et al., *Reduced risk of disease during postsecondary dengue virus infections*. J Infect Dis, 2013. **208**(6): p. 1026-33.
29. Artis, D. and H. Spits, *The biology of innate lymphoid cells*. Nature, 2015. **517**(7534): p. 293-301.
30. Whitehorn, J., et al., *Dengue Therapeutics, Chemoprophylaxis, and Allied Tools: State of the Art and Future Directions*. PLoS Negl Trop Dis, 2014. **8**(8): p. e3025.
31. INSA. *Dengue: abordagem laboratorial*. 2010 [cited 2015 22 de Fevereiro]; Available from: <http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/Paginas/Dengue.aspx>.
32. DGS, *Abordagem Clínica para casos de dengue*, M.d. Saúde, Editor. 2008: Lisboa, Portugal.
33. Osorio, H.C., et al., *Mosquito surveillance for prevention and control of emerging mosquito-borne diseases in Portugal - 2008-2014*. Int J Environ Res Public Health, 2014. **11**(11): p. 11583-96.

34. WHO. *Integrated Vector Management (IVM) of Neglected Tropical Diseases*. 2015 16th April 2015]; Available from: http://www.who.int/neglected_diseases/vector_ecology/ivm_concept/en/.
35. Silvano, J. and C. Abreu, *Dengue nos Países da Lusofonia: que ligações epidemiológicas poderemos traçar?* Acta Med Port, 2014. **27**(4): p. 503-510.
36. Rogers, D.J., J.E. Suk, and J.C. Semenza, *Using global maps to predict the risk of dengue in Europe*. Acta Tropica, 2014. **129**(0): p. 1-14.
37. Morin, C.W., A.C. Comrie, and K. Ernst, *Climate and dengue transmission: evidence and implications*. Environ Health Perspect, 2013. **121**(11-12): p. 1264-72.
38. Franco, L., et al., *Molecular epidemiology suggests Venezuela as the origin of the dengue outbreak in Madeira, Portugal in 2012-2013*. Clin Microbiol Infect, 2015.
39. ECDC, *Dengue outbreak in Madeira, Portugal, March 2013*. 2014, European Centre for Disease Prevention and Control: Stockholm.
40. Nazareth, T., et al., *Strengthening the perception-assessment tools for dengue prevention: a cross-sectional survey in a temperate region (Madeira, Portugal)*. BMC Public Health, 2014. **14**: p. 39.
41. Spinola, H., et al., *Distribution of HLA alleles in Portugal and Cabo Verde. Relationships with the slave trade route*. Ann Hum Genet, 2002. **66**(Pt 4): p. 285-96.
42. WHO, *Global strategy for dengue prevention and control*. 2012, World Health Organization: Geneva.
43. Jaenisch, T., A. Sakuntabhai, and A. Wilder-Smith, *Dengue research funded by the European Commission-scientific strategies of three European dengue research consortia*. PLoS Negl Trop Dis, 2013. **7**(12): p. e2320.
44. Chaves, L.F., et al., *Nonlinear impacts of climatic variability on the density-dependent regulation of an insect vector of disease*. Global Change Biology, 2012. **18**(2): p. 457-468.