



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Maria Bianca de Abreu

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “O Vírus do Dengue: Novo Paradigma de Saúde Pública” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Cláudia Furtado, da Dra. Patrícia David e da Professora Doutora Ana Miguel Matos e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro de 2019



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Maria Bianca de Abreu

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “O Vírus do Dengue: Novo Paradigma de Saúde Pública” referentes à Unidade Curricular “Estágio”, sob a orientação da Dra. Cláudia Furtado, da Dra. Patrícia David e da Professora Doutora Ana Miguel Matos e apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Setembro 2019

Eu, Maria Bianca de Abreu, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2014216438, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “O Vírus do Dengue: Novo Paradigma de Saúde Pública” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade curricular de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 6 de setembro de 2019

Maria Bianca de Abreu

(Maria Bianca de Abreu)

Agradecimentos

Aos meus pais e irmãos. Sem vocês nada disto seria possível. Agradeço toda a confiança depositada em mim, paciência e amor incondicional.

Aos meus amigos de longa data. Obrigada por estarem ao meu lado em mais uma etapa.

Às amizades que Coimbra me deu. A vocês agradeço todos os bons momentos passados juntos e companheirismo vivido durante estes 5 anos.

À Dra. Cláudia Furtado e a toda a equipa da DATS. Obrigada pelos conhecimentos transmitidos e por me terem recebido nesta experiência enriquecedora.

À Dra. Patrícia David e a toda a equipa da Farmácia Nazareth. Obrigada pela aprendizagem constante e boa disposição.

À Professora Doutora Ana Miguel Matos. Obrigada pela disponibilidade e orientação.

Às minhas colegas de estágio. Obrigada pela companhia, foram sem dúvida uma amizade inesperada.

A Coimbra, cidade de tradição que me recebeu.

Índice

Resumo	8
Abstract	9
Parte I: Relatório de Estágio na Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P.	10
Lista de Abreviaturas	11
1. Introdução.....	12
1.1. INFARMED.....	12
1.2. DATS	13
2. Análise SWOT	14
2.1. Pontos Fortes.....	14
2.1.1. Acolhimento e integração.....	14
2.1.2. Enquadramento legislativo	15
2.1.3. Plano de integração / conhecimentos adquiridos.....	15
2.1.4. Atividades envolvidas	16
2.1.5. Reuniões de farmacêuticos.....	17
2.1.6. Sessões de formação internas.....	18
2.2. Pontos Fracos	18
2.2.1. Duração do estágio	18
2.2.2. Formação académica insuficiente	19
2.3. Oportunidades.....	19
2.3.1. Sessões informativas	19
2.3.2. Reuniões da CNFT	20
2.4. Ameaças	21
2.4.1. Pressão externa por parte dos <i>stakeholders</i>	21
3. Conclusão.....	22
4. Referências Bibliográficas.....	23
5. Anexos.....	24
Parte II: Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária	25
Lista de Abreviaturas	26
1. Introdução.....	27
2. Análise SWOT	27
2.1. Pontos Fortes.....	27

2.1.1.	Equipa técnica	27
2.1.2.	Localização da farmácia	28
2.1.3.	Plano de estágio da Farmácia Nazareth	28
2.1.4.	Serviços farmacêuticos	29
2.2.	Pontos Fracos	30
2.2.1.	Nomes comerciais.....	30
2.2.2.	Lacunas do plano curricular do MICF.....	30
2.3.	Oportunidades.....	31
2.3.1.	SIFARMA 2000® e novo módulo de atendimento do SIFARMA®	31
2.3.2.	Prescrição por DCI.....	32
2.3.3.	Formação complementar	33
2.3.4.	Programa VALORMED.....	33
2.4.	Ameaças	34
2.4.1.	Medicamentos esgotados.....	34
2.4.2.	Medicamentos retirados do mercado.....	34
3.	Casos clínicos.....	35
3.1.	Caso clínico I.....	35
3.2.	Caso clínico II.....	36
4.	Conclusão.....	37
5.	Referências Bibliográficas.....	38
	Parte III: O Vírus do Dengue: Novo Paradigma de Saúde Pública.....	39
	Índice das Figuras	40
	Lista de Abreviaturas	41
1.	Introdução.....	43
2.	O Dengue.....	43
2.1.	História e epidemiologia.....	43
3.	O vírus do dengue.....	45
3.1.	Classificação	45
3.2.	Estrutura e genoma viral	45
3.3.	Ciclo de replicação	48
3.4.	Fatores de virulência	50
3.4.1.	Reações de glicosilação	50
3.4.2.	Serótipos e genótipos	51
4.	Transmissão	52

4.1.	Transmissão vetorial	52
4.1.1.	Ciclos de transmissão vetorial	53
4.1.2.	Replicação do vírus do dengue nas células do vetor	53
4.1.3.	Transmissão viral	53
4.2.	Transmissão não vetorial	57
5.	Infeção	58
5.1.	Infeção primária e secundária	58
5.2.	Fases da infeção	58
6.	Diagnóstico clínico	59
6.1.	Doença assintomática/sintomática	59
6.2.	Dengue não severo/severo	60
7.	Diagnóstico Laboratorial	61
7.1.	Métodos diretos	61
7.1.1.	Isolamento do vírus	61
7.1.2.	Deteção do genoma viral	62
7.1.3.	Deteção do antigénio NSI	62
7.2.	Métodos indiretos	62
7.2.1.	Serologia	62
8.	Tratamento	63
9.	Prevenção	64
9.1.	Controlo do vetor	64
9.1.1.	Controlo químico	64
9.1.2.	Controlo biológico	65
9.1.3.	Controlo físico	65
9.2.	Vacinação	66
10.	Conclusão	69
11.	Referências Bibliográficas	70
Anexos	76

Resumo

No âmbito da unidade curricular “Estágio Curricular” do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, este documento apresenta dois relatórios de estágio e uma monografia intitulada “O Vírus do Dengue: Novo Paradigma de Saúde Pública”. Os relatórios de estágio encontram-se estruturados segundo uma análise SWOT (*Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats*), que dizem respeito ao estágio realizado em Lisboa, na Direção de Avaliação de Tecnologias de Saúde da Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I. P (INFARMED) e ao estágio realizado em farmácia comunitária, na Farmácia Nazareth em Coimbra.

O Dengue é uma doença provocada pelo vírus do dengue que acarreta inúmeras complicações em termos de saúde pública, como a Febre Hemorrágica do Dengue. Este vírus característico de regiões tropicais e subtropicais, é transmitido através de um vetor (*Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*). O facto desta doença apresentar quadros clínicos semelhantes a outras patologias, e ainda o facto de o vírus ser estruturalmente semelhante a outros do seu género, torna o diagnóstico clínico e laboratorial desafiante, respetivamente. Devido à inexistência de tratamento específico, é crucial atuar a nível da prevenção, onde o método mais eficaz passa pelo controlo vetorial, apesar da existência de uma vacina no mercado, Dengvaxia[®].

Palavras-chaves: Vírus do dengue, *Aedes aegypti*, Diagnóstico clínico, Diagnóstico laboratorial, Controlo vetorial, Dengvaxia.

Abstract

Under the context of the curricular unit “curricular internship” of the Integrated Master's Degree in Pharmaceutical Science of the Faculty of Pharmacy, University of Coimbra, this document presents two internship reports and a monograph entitled “The Dengue virus: New Paradigm of Public Health”. The internships reports are structured according to a SWOT (Strengths, Weaknesses, Opportunities and Threats) analyse, regarding to a internship held in Lisbon, at the Health Tecnology Assesment of the National Authority of Medicines and Health Products, I.P (INFARMED), and to an internship in Community Pharmacy at the Nazareth Pharmacy held in Coimbra.

Dengue is a disease caused by the dengue virus that has numerous public health complications, such as dengue hemorrhagic fever. This virus, characterisc of the tropical and subtropical regions, is transmited by a vector (*Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*). The fact that this disease presents clinical conditions similar to other pathologies, and that the virus is structurally similiar to other of its kind, makes clinical and laboratory diagnosis challenging, respectively. Due to the lack of specific treatment, it's crucial to act in prevention, where the most effective method is vector control, despite the existence of a vaccine, Dengvaxia®.

Keywords: Dengue virus, *Aedes aegypti*, Clinical diagnostic, Laboratory diagnosis, Vector control, Dengvaxia.

Parte I

Relatório de Estágio na Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P.

Direção de Avaliação de Tecnologias de Saúde

Lista de Abreviaturas

AFE - Avaliação Farmacoeconómica

AFT - Avaliação Farmacoterapêutica

AIM - Autorização de Introdução no Mercado

ATS - Avaliação de Tecnologias de Saúde

CATS - Comissão de Avaliação de Tecnologias de Saúde

CNFT - Comissão Nacional de Farmácia e Terapêutica

DATS - Direção de Avaliação de Tecnologias de Saúde

DIPE - Direção de Informação e Planeamento Estratégico

DRHFP - Direção de Recursos Humanos, Financeiros e Patrimoniais

FFUC - Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P.

MICF - Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM - Medicamento Não Sujeito a Receita Médica

MNSRM-EF - Medicamento Não Sujeito a Receita Médica de Dispensa Exclusiva em Farmácia

MSRM - Medicamento Sujeito a Receita Médica

SIATS - Sistema de Informação para a Avaliação das Tecnologias de Saúde

SiNATS - Sistema Nacional de Avaliação de Tecnologias de Saúde

SNS - Serviço Nacional de Saúde

SWOT - *Strengths, Weaknesses, Opportunities, Threats*

I. Introdução

O farmacêutico é um profissional de saúde especialista do medicamento, encontrando-se envolvido durante todo o circuito do mesmo. Desde da investigação até à dispensa racional e responsável do medicamento, o farmacêutico pode executar tarefas em diferentes âmbitos, sendo elas: farmácia comunitária, farmácia hospitalar, indústria farmacêutica, análises clínicas, distribuição grossista, entre outras. ¹

A Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC) oferece a oportunidade de realização de estágio curricular em locais como a Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P. (INFARMED). Ao longo do plano de estudos do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) o interesse em conhecer e desenvolver competências na área regulamentar do medicamento e outras tecnologias de saúde foi crescendo. No meu caso, optei pela realização do estágio na Direção de Avaliação de Tecnologias de Saúde (DATS), por ao longo do curso não ter tido o contacto e aquisição suficiente de competências na área de Avaliação de Tecnologias de Saúde (ATS).

O presente relatório descreve o estágio curricular que teve lugar no INFARMED, em Lisboa, com a duração de três meses, sob orientação da Dra. Cláudia Furtado com a colaboração da equipa da DATS.

I.1. INFARMED

O INFARMED, com sede em Lisboa, é um instituto público administrado indiretamente pelo Estado, provido de autonomia administrativa, financeira e património próprio. Segue as indicações do Ministério da Saúde, sob direção do respetivo ministro.²

Esta entidade tem como função, regular e supervisionar as áreas dos medicamentos de uso humano e produtos de saúde, de forma a garantir a proteção da saúde pública. Faz parte da competência do INFARMED assegurar o acesso destes produtos aos cidadãos e profissionais de saúde, providos de qualidade, eficácia e segurança.²

O INFARMED encontra-se organizado e estruturado segundo órgãos e suas unidades orgânicas, com funções de negócio e funções de suporte, como podemos visualizar no organograma em anexo.³ (Anexo I)

I.2. DATS

A obtenção de Autorização de Introdução no Mercado (AIM) é um passo fundamental no ciclo de vida do medicamento. No entanto, o sucesso do medicamento é vincado sobretudo pelo seu acesso ao mercado. O acesso eficiente e sustentando de medicamentos, dispositivos médicos e outras tecnologias de saúde é conseguido através da ATS, efetuada pela DATS (unidade orgânica com funções de negócio).

A nível nacional, a ATS de medicamentos é realizada desde 1999, no entanto só em 2015 com a criação do Sistema Nacional de Avaliação de Tecnologias de Saúde (SiNATS), é que os dispositivos médicos passaram a fazer parte da ATS.⁴ Como consta do artigo 3º, do Decreto-Lei n.º 97/2015, que visa à criação do SiNATS, “São objetivos do SiNATS:

- i. *Maximizar os ganhos em saúde e a qualidade de vida dos cidadãos;*
- ii. *Contribuir para a sustentabilidade do Serviço Nacional de Saúde (SNS);*
- iii. *Garantir a utilização eficiente dos recursos públicos em saúde;*
- iv. *Monitorizar a utilização e a efetividade das tecnologias;*
- v. *Reduzir desperdícios e ineficiências;*
- vi. *Promover e premiar o desenvolvimento de inovação relevante;*
- vii. *Promover o acesso equitativo às tecnologias.”*⁵

Antes de haver um pedido de financiamento, os respetivos medicamentos têm que ter um preço máximo estabelecido, e só assim é que a empresa poderá fazer um pedido de financiamento na plataforma do Sistema de Informação para a Avaliação das Tecnologias de Saúde (SIATS). Este preço máximo, para medicamento não genérico, é estabelecido com base num sistema de referenciação externo, onde os países de referência atuais são Espanha, França, Itália e Eslovénia.

O financiamento dos medicamentos pelo Estado, permite assegurar a acessibilidade aos utentes dos mesmos, face aos preços elevados muitas vezes praticados. Assim sendo, os pedidos de financiamento podem ser de comparticipação (mercado ambulatorio) ou de avaliação prévia hospitalar (mercado hospitalar). Os respetivos medicamentos são submetidos a uma avaliação farmacoterapêutica (AFT) e posteriormente a uma avaliação farmacoeconómica (AFE), onde se pretende comprovar a efetividade relativa e a relação custo efetividade, para que a aquisição e comparticipação das tecnologias de saúde seja feita de forma racional. A realização destas avaliações é da competência de peritos da DATS e da Comissão de Avaliação de Tecnologias de Saúde (CATS), onde encontramos farmacêuticos, clínicos e economistas.⁴

Na AFT é necessário selecionar um comparador, utilizado na prática clínica, de modo a proceder à avaliação do medicamento em análise. Desta análise, o medicamento poderá apresentar valor terapêutico acrescentada, equivalência terapêutica ou inferioridade terapêutica fase ao comparador. Na última situação, o medicamento não passa para a avaliação económica e o processo é indeferido. Na AFE, se o medicamento apresentar valor terapêutico acrescentado há uma análise comparativa de preços ou a apresentação de um estudo económico. Poderá haver lugar a uma análise de minimização de custos, se tivermos perante um medicamento com equivalência terapêutica.

Quando o medicamento se destina a uso hospitalar é obrigatório a celebração de um contrato. Os termos deste contrato são discutidos numa fase de negociação entre o INFARMED e a empresa.

Após a fase de negociação obtém-se uma decisão final de financiamento (deferimento ou indeferimento). Posteriormente, o resultado é divulgado através de um relatório público a profissionais de saúde, a hospitais, à Comissão Nacional de Farmácia e Terapêutica (CNFT), à Direção Geral de Saúde e aos Serviços Partilhados do Ministério da Saúde.

2. Análise SWOT

O meu relatório de estágio apresenta-se segundo uma análise SWOT, acrónimo derivado do inglês que significa *Strengths*, *Weaknesses*, *Opportunities* e *Threats*. Esta ferramenta de análise permite agrupar os aspetos relevantes do estágio em função de uma dimensão interna (Pontos Fortes e Pontos Fracos) e uma dimensão externa (Oportunidades e Ameaças).

2.1. Pontos Fortes

2.1.1. Acolhimento e integração

Desde o primeiro até ao último dia que o acolhimento e integração no INFARMED em geral, e na DATS em particular, foram um ponto fulcral no sucesso do estágio. No primeiro dia fomos recebidos pelo Dr. José Viana em representação da Direção de Recursos Humanos, Financeiros e Patrimoniais (DRHFP), que nos proporcionou uma visão global do funcionamento, organização e importância das atividades efetuadas no INFARMED. Nesta

sessão inicial foi atribuído a cada estagiário o número mecanográfico e o e-mail institucional, relevantes para as atividades a executar no restante estágio.

Posteriormente na DATS, a Dra. Cláudia Furtado apresentou-me toda a equipa de trabalho, instalações e atividades que inicialmente iria estar envolvida. A equipa da DATS, trata-se de uma equipa multidisciplinar constituída essencialmente por farmacêuticos, economistas e gestores. Estes tiveram o cuidado de integrar-me na equipa e colocar-me à vontade para interagir sempre que fosse necessário desde o primeiro dia. A disponibilidade da equipa para esclarecer e ajudar quando alguma dúvida surgia foi notória, tanto com os estagiários como entre colegas de trabalho.

2.1.2. Enquadramento legislativo

Tendo em conta que no início do estágio os meus conhecimentos à cerca da ATS eram escassos, parte inicial deste baseou-se na leitura e interpretação da legislação em vigor publicada no Diário da República, pois grande parte das atividades executadas na DATS têm por base um enquadramento legal, na qual destaco o Decreto Lei n.º 97/2015⁵ e respetivas portarias^{6,7,8}. Ainda assim, pude complementar este conhecimento com a leitura de informação que se encontra disponível no *site* do INFARMED.

Posto isto, o enquadramento legislativo constitui-o um passo fundamental no estágio pois permitiu o entendimento das atividades executadas nesta direção, sendo uma ferramenta essencial ao trabalho que vim a desenvolver.

2.1.3. Plano de integração / conhecimentos adquiridos

Ao longo dos três meses de estágio fui tendo várias sessões de formação promovidas pelos colaboradores da DATS, de várias áreas profissionais. Estas formações permitiram obter um enquadramento a cerca de várias vertentes de trabalho, sendo elas: avaliação farmacoterapêutica e económica de medicamentos genéricos e não genéricos, tanto em ambiente hospitalar como ambulatorio; formação de preços, revisão anual de preços e revisão excecional de preços; elaboração e monitorização de contratos; avaliação de dispositivos médicos; pedidos de Autorização de Utilização Excecional; e ainda aspetos organizacionais internos.

Assim sendo, o plano de integração foi um ponto forte deste estágio, pois permitiu a aquisição de competências relacionadas com as funções do departamento, e ainda a compreensão da dinâmica de trabalho desde a receção de pedidos de financiamento até à decisão final.

2.1.4. Atividades envolvidas

Grande parte do estágio foi ocupado com uma atividade que envolve a criação de um regime excecional de comparticipação para doenças hereditárias do metabolismo. Estas doenças têm um impacto significativo na saúde do doente, e como tal, tanto a componente farmacológica como a componente nutricional são relevantes para evitar múltiplas consequências dos efeitos metabólicos. Estes produtos não estão abrangidos pela tutela direta do INFARMED, uma vez que se trata de alimentos para fins medicinais específicos, ao abrigo da Direção Geral de Alimentação e Veterinária para a colocação no mercado. No entanto, estes produtos podem ser comparticipados pelo SNS, pois encontram-se segundo as atribuições e competências do SiNATS que prevê a avaliação de outras tecnologias de saúde para além dos medicamentos e dispositivos médicos. Atualmente estes produtos estão comparticipados segundo o Despacho n.º 14 319/2005 ⁹, mas existe a necessidade de clarificar os regimes de comparticipação, pois são produtos comparticipados a 100% com elevadas margens de comercialização devido à inexistência de preços de venda ao público máximos. Posto isto, as minhas tarefas passaram pela identificação, categorização e caracterização dos produtos que já se encontram abrangidos pela comparticipação. Procedi ainda à criação de uma nomenclatura, onde se possa incluir os produtos conforme as suas características, para facilitar a prescrição/dispensa no programa informático, à semelhança do que já existe com os medicamentos.

Determinadas atividades foram atribuídas como “casos práticos” no âmbito do plano de integração. Assim sendo, pude realizar a avaliação de pedidos de avaliação prévia hospitalar para medicamentos genéricos, onde procedi à verificação de determinadas condições do processo com base nas orientações de trabalho, e posterior preenchimento de uma *checklist* que permite a validação farmacêutica.

Após concluído a AFT e AFE procede-se à realização de um relatório público de avaliação, que será publicado no *site* do INFARMED, com o intuito de informar as razões pela qual o processo foi deferido ou indeferido. Tive a oportunidade de analisar os pareceres emitidos pela CATS e estudos clínicos disponibilizados pela empresa, de forma a auxiliar os

colaboradores da DATS na realização do relatório público de pedidos de avaliação prévia hospitalar de medicamentos não genéricos.

Outra das tarefas efetuadas consistiu na utilização da plataforma SIATS a nível da contratualização. Pude efetuar a introdução dos contratos de financiamento de avaliação prévia hospitalar e comparticipação na plataforma, e ainda proceder à monitorização dos mesmos juntamente com um colaborador da DATS.

Por vezes pode haver a necessidade de descomparticipação de um medicamento por motivos de reclassificação do estatuto de dispensa (passagem de MSRM para MNSRM ou MNSRM-EF) ou a pedido do titular de AIM. Estes pedidos de exclusão são analisados na DATS de modo a verificar que não existe comprometimento do arsenal terapêutico. Posto isto, tive a oportunidade de analisar pedidos de exclusão de ambas as naturezas, e elaborar a respetiva proposta para envio ao Conselho Diretivo para posterior aprovação.

As variadas funções descritas anteriormente em que tive oportunidade de colaborar, foram propostas e supervisionadas pelos colaboradores da DATS. Estas constituíram um dos pontos fortes do meu estágio, pelo contacto prático com áreas desconhecidas até à data, permitindo desenvolver competências de trabalho a nível farmacoterapêutico e farmacoeconómico. A possibilidade de conhecer o funcionamento do SIATS foi importante, pois trata-se de uma plataforma de trabalho em que os titulares de AIM ou os seus representantes utilizam na gestão da acessibilidade aos medicamentos.

2.1.5. Reuniões de farmacêuticos

As reuniões de farmacêuticos, que ocorrem todas as semanas, têm como objetivo o debate entre os colegas farmacêuticos dos processos de financiamento em curso. Permite a apresentação e discussão de processos mais complexos, de forma a obter novas perspetivas e opiniões por parte da equipa. Assim sendo, estas reuniões têm enorme importância na harmonização da AFT.

Estas reuniões funcionam ainda como uma oportunidade de apresentação de novas abordagens à melhoria das orientações de trabalho, de forma a otimizar o funcionamento das várias atividades.

A oportunidade de participação nestas reuniões internas levadas a cabo pelos farmacêuticos da DATS, foi um ponto importante na aprendizagem do estágio, devido à diversidade e relevância dos assuntos abordados.

2.1.6. Sessões de formação internas

As sessões de formação internas na qual assisti, foram apresentadas pela equipa da DATS e pela equipa da Direção de Informação e Planeamento Estratégico (DIPE).

Estas duas direções encontram-se interligadas, no sentido em que em determinadas situações a DATS necessita de pedir informações à DIPE para a resolução dos seus processos, tendo em conta que uma das funções da DIPE passa pela monitorização mensal do mercado para todos os medicamentos. Posto isto, estas sessões são fundamentais na formação dos colaboradores, permitindo também uma atualização/conhecimento dos trabalhos efetuados em cada direção.

Assim sendo, tive a oportunidade de assistir a várias apresentações na qual saliento aquelas que me despertou maior interesse: Financiamento público e consumo de medicamentos; Estudos da utilização na população geriátrica; Projetos de antibióticos.

O conhecimento do papel de uma nova direção foi um ponto forte no estágio. Para além disso, os estudos apresentados pela mesma foram extremamente importantes como futura profissional de saúde, aumentando a minha sensibilização para o uso racional do medicamento, pois cada vez mais a população idosa é polimedicada e o aumento das resistências aos antibióticos constitui um problema de saúde pública grave.

2.2. Pontos Fracos

2.2.1. Duração do estágio

O estágio realizado teve a duração de três meses na qual considero ter sido limitado, tendo em conta a vasta panóplia de atividades realizadas na DATS. Posto isto, a curta duração de estágio impossibilitou a expansão de mais conhecimentos em determinadas vertentes de trabalho do departamento.

Certas atividades concretizadas na DATS prolongam-se ao longo do tempo, onde a conclusão dessas tarefas seria irrealizável, daí a não atribuição das mesmas. Para além disso, devido à curta duração do estágio, não me foram atribuídos acessos aos documentos

disponíveis na base de dados informática, o que dificultou muitas vezes a execução na totalidade de tarefas que me eram pedidas. No entanto, as funções atribuídas ao longo do estágio permitiram a obtenção de uma visão global do funcionamento da ATS, bem como a aquisição de aptidões que ajudarão na minha futura prática profissional.

2.2.2. Formação académica insuficiente

O plano de estudos do MICEF confere aos seus estudantes conhecimentos científicos variados, de modo a formar profissionais de saúde de excelência. No entanto, estes conhecimentos encontram-se direcionados sobretudo para farmácia comunitária, por esta ser a saída profissional mais prevalente.

Não menosprezando a unidade curricular de Comunicação e Marketing Farmacêutico, que proporcionou algumas bases na área farmacoeconómica, estes conhecimentos foram insuficientes no contexto de todas as atividades praticadas. A legislação assente na ATS trata-se de algo mais específico ao funcionamento da DATS e em comum com a indústria farmacêutica, que não consta no plano de estudos do MICEF, tendo exigido um maior empenho da minha parte. Saliento a necessidade sentida para uma melhor adaptação dos estudantes de MICEF para saídas profissionais como a indústria farmacêutica, mais propriamente na área farmacoeconómica e acesso ao mercado das tecnologias de saúde.

Assim sendo, tive a hipótese de ingressar numa área até à data desconhecida, o que proporcionou a aquisição de novos conhecimentos, transmitidos através do plano de integração e da colaboração da equipa da DATS.

2.3. Oportunidades

2.3.1. Sessões informativas

O INFARMED realiza sessões informativas, de modo a esclarecer temas pertinentes na área regulamentar do medicamento e dispositivos médicos. Estas podem ser internas, somente para colaboradores da instituição, ou externas, tanto para colaboradores como para entidades externas. Posto isto, tive oportunidade de assistir a uma sessão informativa interna e externa, intituladas de Gestão da Indisponibilidade do Medicamento e Implementação Nacional dos Dispositivos de Segurança, respetivamente.

Cada vez mais ocorrem perturbações no abastecimento dos medicamentos ao mercado, havendo uma instabilidade do acesso dos medicamentos por parte do cidadão e consequente desequilíbrio do seu bem-estar. A sessão Gestão da Indisponibilidade do Medicamento, teve como objetivo a apresentação de conceitos relacionados com os diferentes tipos de indisponibilidade do medicamento e ainda, procedimentos e responsabilidades que envolvem tanto o INFARMED como entidades externas (titulares de AIM, fabricantes, intermediários, grossistas, farmácias de oficina e serviços farmacêuticos hospitalares) sobre as diferentes fases de gestão da indisponibilidade do medicamento.

A Implementação Nacional dos Dispositivos de Segurança, que entrou em vigor no passado dia 9 de fevereiro de 2019, definiu que os medicamentos sujeitos a receita médica e os medicamentos não sujeitos a receita médica comparticipados passam a possuir dois tipos de dispositivos de segurança: dispositivo de prevenção de adulterações e um identificador único. Estes sistemas de segurança permitem a deteção de falsificações de medicamentos no seu circuito legal através da identificação individual de cada embalagem, e garantem ainda a inviolabilidade das mesmas. Não tendo sido identificado até à data, a nível nacional, medicamentos falsificados no circuito do medicamento (distribuidores, farmácias comunitária ou hospitalar), este trata-se de um sistema de segurança extra de forma a garantir, uma vez mais, que a produção dos medicamentos foi realizada em instalações autorizadas pelas autoridades reguladoras.

Tendo em conta o impacto que tem a indisponibilidade de um medicamento, bem como o consumo de um medicamento falsificado na saúde do cidadão, estas sessões foram uma mais valia como futura profissional de saúde, na medida em que permitiu o conhecimento de conceitos e responsabilidades aquando de uma indisponibilidade do medicamento e ainda a familiarização com os dispositivos de segurança na qual passarei a contactar cada vez mais, tanto como farmacêutica como cidadã.

2.3.2. Reuniões da CNFT

As reuniões da CNFT são lideradas pelo Dr. Carlos Alves, presidente da CNFT, tendo lugar uma vez por mês. Nestas reuniões são debatidos diversos assuntos relacionados com o medicamento em ambiente hospitalar, onde médicos e farmacêuticos expõem as suas opiniões consoante a sua prática clínica.

Para um medicamento ser utilizado a nível hospitalar tem que haver a celebração de um contrato, decorrente da avaliação farmacoterapêutica e farmacoeconómica, por parte da DATS. Assim sendo, a DATS também tem um papel importante nestas reuniões no âmbito da comunicação e esclarecimento dos termos de aprovação de novos medicamentos, que poderão passar a constituir o arsenal terapêutico do hospital.

A possibilidade de assistir a estas reuniões foi uma experiência muito enriquecedora, pois permitiu entender o papel ativo dos farmacêuticos hospitalares com a área regulamentar, no que concerne à harmonização dos procedimentos de utilização dos medicamentos, bem como na preocupação em garantir a acessibilidade dos medicamentos aos utentes.

2.4. Ameaças

2.4.1. Pressão externa por parte dos stakeholders

Na DATS, procede-se à avaliação e decisão de financiamento das tecnologias de saúde. Tendo em conta a importância destas funções, este departamento constitui um alvo de pressão externa por parte dos *stakeholders* do setor farmacêutico, tais como o Ministério da Saúde, a indústria farmacêutica e os hospitais. O ministério da saúde estipula objetivos que deverão ser cumpridos pela DATS. As indústrias farmacêuticas têm interesse que a finalização dos processos de financiamento seja feita com celeridade. Por fim, os hospitais pretendem uma análise rápida dos pedidos de Autorização de Utilização Excecional, devido ao seu caráter urgente.

Assim sendo, a pressão constante nas diversas atividades efetuadas na DATS constituem um desafio permanente para os colaboradores deste departamento, tendo sido uma ameaça ao meu estágio, pelo facto de em determinadas semanas os colaboradores não se encontravam tão disponíveis para acompanhar e atribuir-me tarefas.

3. Conclusão

A oportunidade de estagiar numa área fora da farmácia comunitária, nomeadamente na Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P., e conhecer o contexto regulamentar do medicamento a nível nacional, foi sem dúvida uma experiência enriquecedora no meu percurso académico.

O acesso ao mercado das tecnologias de saúde é um passo fundamental no ciclo de vida do medicamento. O contacto com esta área foi uma mais valia na perceção do impacto que os medicamentos têm na qualidade de vida do utente, mas também sobre a sustentabilidade financeira do SNS.

O sucesso deste estágio advém sobretudo de três fatores: da diversidade de tarefas executadas, que permitiu a obtenção de noções de trabalho; do plano de integração, responsável pela formação/aprendizagem *on-job* de conceitos até à data pouco exploradas; e da equipa da DATS, pela partilha de conhecimentos.

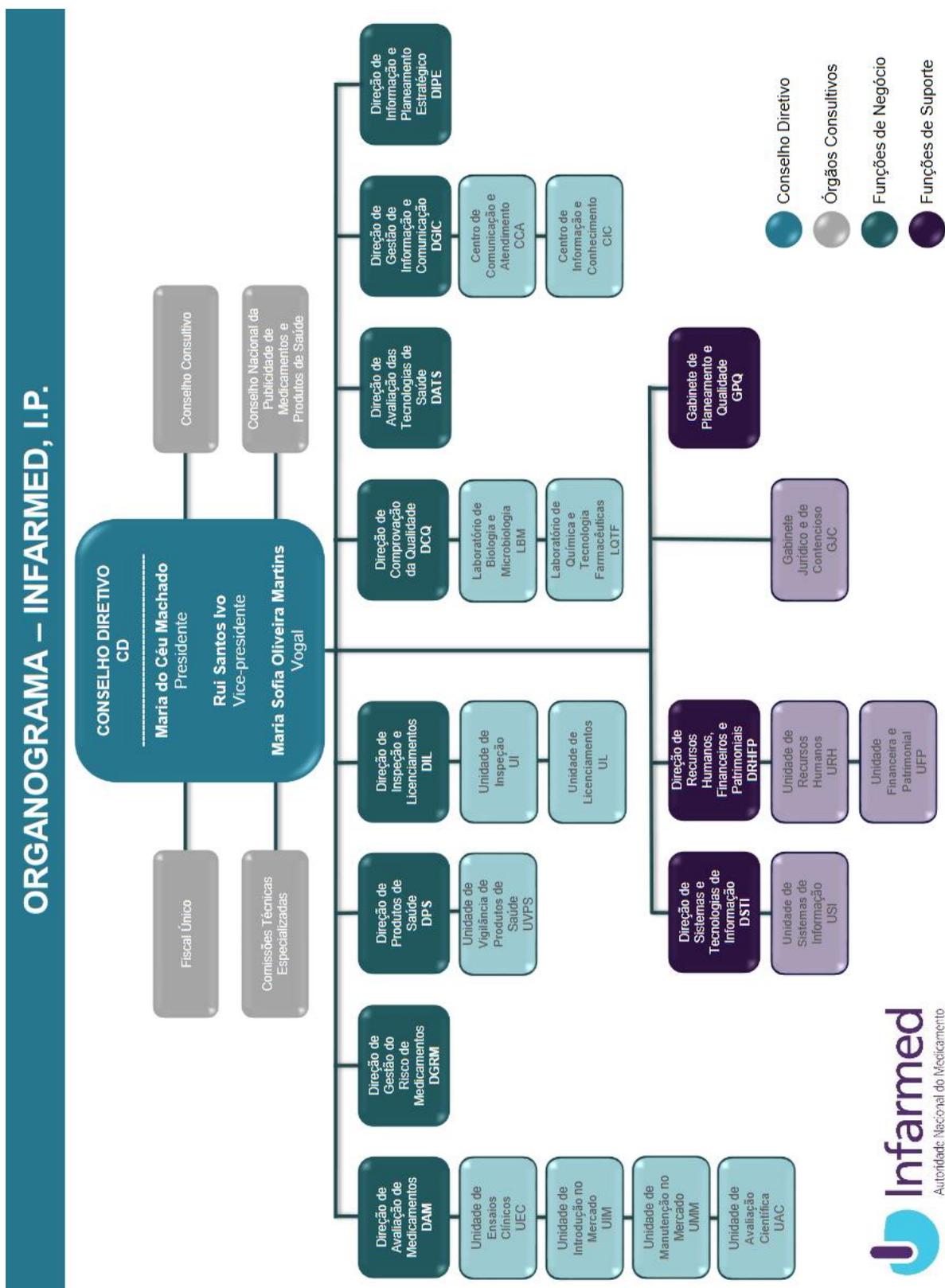
Posto isto, o estágio na DATS revelou-se uma experiência positiva tanto a nível profissional como pessoal, contribuindo certamente a longo prazo como futura profissional de saúde.

4. Referências Bibliográficas

- 1 - VALOR DO FARMACÊUTICO - **Farmacêutico. A profissão.** [Consultado a 7 de março de 2019]. Disponível na Internet: <http://www.valordofarmaceutico.com/>
- 2 - MINISTÉRIO DA SAÚDE - **Decreto-Lei n.º 46/2012.** Diário da República, 1.ª série - N.º40 - 24 de fevereiro de 2012, 884 - 890. [Consultado a 27 de fevereiro de 2019]. Disponível na Internet: <https://dre.pt/application/file/a/542523>
- 3 - INFARMED - **Estrutura e organização - Organograma.** [Consultado a 7 de março de 2019]. Disponível na Internet: <http://www.infarmed.pt/documents/15786/1269448/Organograma+2019/c8343cd0-df7f-490c-84ef-15db7d43dfc2>
- 4 - INFARMED, I.P. - **Avaliação de tecnologias de saúde.** [Consultado a 7 de março de 2019]. Disponível na Internet: <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/avaliacao-tecnologias-de-saude>
- 5 - MINISTÉRIO DA SAÚDE - **Decreto-Lei n.º 97/2015.** Diário da República, 1.ª série - N.º 105 - 1 de junho de 2015, 3453-3464. [Consultado a 7 de março de 2019]. Disponível na Internet: <https://dre.pt/application/conteudo/67356991>
- 6 - MINISTÉRIO DA SAÚDE - **1º Suplemento.** Diário da República, 1.ª série - N.º 125 - 30 de junho de 2015, 4542-(2) a 4542-(16). [Consultado a 11 de março de 2019]. Disponível na Internet: <https://dre.pt/application/file/a/67614426>
- 7 - MINISTÉRIO DA SAÚDE - **Portaria n.º 154/2016.** Diário da República, 1.ª série - N.º102 - 27 de maio de 2016, 1707-1708. [Consultado a 11 de março de 2019]. Disponível na Internet: <https://dre.pt/application/file/a/74548779>
- 8 - MINISTÉRIO DA SAÚDE - **Portaria n.º 314-A/2018.** Diário da República, 1.ª série - N.º 236 - 7 de dezembro de 2018, 5594-(4) a 5594-(5). [Consultado a 11 de março de 2019]. Disponível na Internet: <https://dre.pt/application/file/a/117327469>
- 9 - MINISTÉRIO DA SAÚDE - **Despacho n.º 14 319/2005.** Diário da República, 2.ª série - N.º 123 - 29 de junho de 2005, 9527. [Consultado a 22 de março de 2019]. Disponível na Internet: http://www.diagnosticoprecoce.org/Despacho143192005_29Junho_ProdutosHipoproteicos.pdf

5. Anexos

Anexo I – Organograma estrutural e organizacional do INFARMED. (Adaptado de ³)



Parte II

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Farmácia Nazareth

Lista de Abreviaturas

AIM - Autorização de Introdução no Mercado

DCI - Denominação Comum Internacional

FFUC - Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

INFARMED - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde

MICF - Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

MNSRM - Medicamento Não Sujeito a Receita Médica

MNSRM-EF - Medicamento Não Sujeito a Receita Médica de Dispensa Exclusiva em Farmácia

SNS - Sistema Nacional de Saúde

1. Introdução

A farmácia comunitária, muitas das vezes constitui o primeiro local que os utentes elegem aquando de um problema de saúde.¹ Como tal, o farmacêutico comunitário é dotado de competências técnico-científicas adquiridas através de uma formação contínua, de forma a promover o uso racional do medicamento. Este uso racional poderá passar pela recomendação de uma consulta médica, pela indicação de medidas não farmacológicas como pelo aconselhamento farmacêutico de medicamentos não sujeitos a receita médica (MNSRM) e medicamentos não sujeitos a receita médica de dispensa exclusiva em farmácia (MNSRM-EF).

A realização de um estágio curricular em farmácia comunitária, tem como objetivo colocar em prática os conhecimentos teóricos apreendidos ao longo do plano curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas (MICF) da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC), fornecendo os últimos conteúdos necessários para a formação de um profissional de saúde qualificado.

Posto isto, optei pela realização do estágio na Farmácia Nazareth, em Coimbra, com uma duração de 670 horas sob a orientação da Dra. Ana Patrícia David e colaboração de toda a equipa.

2. Análise SWOT

O meu relatório de estágio apresenta-se segundo uma análise SWOT, acrónimo derivado do inglês que significa *Strengths*, *Weaknesses*, *Opportunities* e *Threats*. Esta ferramenta de análise permite agrupar os aspetos relevantes do estágio em função de uma dimensão interna (Pontos Fortes e Pontos Fracos) e uma dimensão externa (Oportunidades e Ameaças).

2.1. Pontos Fortes

2.1.1. Equipa técnica

A equipa da Farmácia Nazareth é constituída por dois farmacêuticos (diretor-técnico e farmacêutica substituta) e por dois técnicos de farmácia. Estes profissionais de saúde foram um ponto forte do meu estágio, por terem demonstrado disponibilidade na partilha de conhecimentos de carácter técnico-científico (aconselhamento farmacêutico de MNSRM,

MNSRM-EF e produtos de saúde) e de carácter logístico (gestão de encomendas, gestão de devoluções, faturação de lotes, etc.). Para além disso, mostram-se sempre disponíveis a esclarecer dúvidas que iam surgindo, bem como a auxiliar em situações que não dominava, nomeadamente no atendimento ao balcão. Saliento ainda a presença de outra estagiária no início do meu estágio, que também contribuiu para a minha aprendizagem neste período.

Com o evoluir do estágio foram delegadas várias tarefas pela equipa, que permitiram desenvolver competências profissionais mais específicas, adquirindo uma maior autonomia e confiança nas tarefas que executava.

2.1.2. Localização da farmácia

A Farmácia Nazareth encontra-se situada numa zona residencial não rodeada por outras farmácias. Como tal, o atendimento de excelência desta farmácia permitiu a fidelização de muitos utentes desta zona residencial, o que possibilita a nós farmacêuticos a execução de um atendimento personalizado, segundo as preferências e características do utente em questão. Para além disto, a existência de outros locais de saúde nas mediações (Centro de Saúde de Celas, Maternidade Professor Bissaya Barreto, Ordem dos Médicos e uma clínica médica dentária), permitiu a amplificação da tipologia dos utentes que procuram a farmácia.

A heterogeneidade do público-alvo que advém da localização da farmácia, foi um ponto forte no meu estágio, pois permitiu contactar com variados casos práticos no âmbito do atendimento e aconselhamento farmacêutico.

2.1.3. Plano de estágio da Farmácia Nazareth

Numa fase inicial, o estágio foi focado em tarefas de *backoffice* de forma a entender a dinâmica de trabalho de uma farmácia. Como exemplo destas atividades saliento a receção de encomendas e arrumação das mesmas, a verificação de prazos de validade, a gestão e regularização de devoluções, o registo de temperaturas, a faturação dos lotes de receitas no final do mês e a conferência de resumos de faturas de encomendas dos fornecedores.

Outra das tarefas realizadas foi a análise do receituário médico. Hoje em dia grande parte das prescrições médicas são feitas através de receitas eletrónicas, no entanto podem surgir situações em que seja necessário a prescrição através de receitas manuais (falência informática, inadaptação do prescritor, prescrição ao domicílio ou até 40 receitas por mês).

Assim sendo, a análise do receituário foi um ponto forte do estágio, pois permitiu averiguar se as receitas estavam corretamente preenchidas (campos obrigatórios, prazos de validade da receita, número de medicamentos prescritos, etc.) e ainda treinar a percepção da “caligrafia médica”, preparando-me para o atendimento com este tipo de receitas.

Com o evoluir do estágio comecei a realizar atendimentos ao balcão, onde esta atividade foi sem dúvida um dos pontos fortes mais importantes e gratificantes do meu estágio. No atendimento tive a possibilidade de efetuar aconselhamentos farmacêuticos, de forma a garantir que o utente recebia as informações necessárias para o êxito da terapêutica, como exemplificado no ponto 3. Aqui consegui colocar em prática conhecimentos teóricos aprendidos ao longo curso, onde destaco a contribuição das unidades curriculares de Farmacologia, Tecnologia Farmacêutica, Indicação Farmacêutica e Fitoterapia. Para além disto, o facto de todos os dias aparecerem situações novas permitiu estar em constante aprendizagem em áreas que não dominava, através da partilha de novos conhecimentos por parte da equipa da farmácia.

De forma geral, o plano de estágio da Farmácia Nazareth foi fundamental para o sucesso do meu estágio, quer pela aplicação prática de conteúdos do plano do MIF e aprendizagem contínua, como também pela possibilidade de familiarização com procedimentos mais logísticos do quotidiano de uma farmácia.

2.1.4. Serviços farmacêuticos

Para além da dispensa de medicamentos e produtos de saúde, a farmácia é detentora de uma série de serviços farmacêuticos de forma a promover a saúde pública e o bem-estar da comunidade. O controlo de parâmetros fisiológicos e bioquímicos como a tensão arterial, glicémias, triglicéridos e colesterol total, torna-se importante de forma a evitar comorbilidades a longo prazo, no contexto das doenças crónicas.

A realização de medições da pressão arterial, glicémia, triglicéridos e colesterol total foi um dos pontos fortes do estágio. Tive a possibilidade de colocar conhecimentos teóricos aprendidos no MIF em prática, pois é necessário analisar os resultados obtidos de acordo com o perfil clínico, farmacológico e em que condições o utente efetuou a medição (por exemplo, se se trata de uma medição de glicémia em jejum ou após uma refeição). Ainda assim, com o decorrer do estágio houve a necessidade de aperfeiçoar as minhas medições em termos práticos.

Saliento ainda que a faixa etária idosa é a que apresenta maior dificuldade no controlo destes parâmetros, muitas vezes devido à incapacidade de manuseamento dos dispositivos de autocontrolo (por exemplo, glucosímetros). Como tal, merecem uma maior atenção da nossa parte de modo a promover a adesão da sua utilização. Assim sendo, a educação da população na utilização dos seus dispositivos de autocontrolo foi outro ponto forte no meu estágio.

2.2. Pontos Fracos

2.2.1. Nomes comerciais

Ao longo do plano curricular de MICF, são poucas as unidades curriculares que nos incentivam na familiarização dos nomes comerciais dos medicamentos. Ainda assim, destaco a unidade curricular de Farmacoterapia onde nos foi apresentado terapias farmacológicas para diversas patologias com o respetivo princípio ativo e designação comercial.

No início do meu estágio, verifiquei que esse conhecimento apreendido não foi suficiente, devido à elevada dimensão de medicamentos no mercado, tendo-se tornado um obstáculo no meu atendimento. De forma a contornar esta situação, em que o utente se deslocava à farmácia solicitando pelo nome comercial do medicamento ou um produto de saúde, auxiliava-me do programa informático de forma a obter a informação necessária ou solicitava pela ajuda dos meus colegas.

Com o evoluir do estágio constatei que esse conhecimento somente seria adquirido com a prática profissional, e como tal, vim ultrapassando gradualmente essa dificuldade, muito em parte à receção de encomendas, arrumação dos medicamentos e verificação de prazos de validade, o que permitia contactar com o nome comercial, aspeto físico e local de arrumação do medicamento/produto de saúde.

2.2.2. Lacunas do plano curricular do MICF

O MICF é um curso multidisciplinar com um plano curricular abrangente. Tem como objetivo preparar os alunos para as diversas áreas do medicamento, através da aquisição das bases necessárias, para no futuro poderem ser desenvolvidas competências mais específicas. A meu ver, o MICF encontra-se em grande parte direcionado para a farmácia comunitária por esta ser uma das saídas profissionais com mais farmacêuticos. No entanto, apresenta

algumas lacunas em determinadas áreas do aconselhamento farmacêutico, que me foram transpostas ao longo do estágio curricular. O escasso conhecimento nas áreas da dermocosmética, suplementação, veterinária e utilização de dispositivos médicos constituíram um ponto fraco no meu desempenho aquando do aconselhamento dos mesmos.

Houve a necessidade de apreender mais sobre estas áreas de forma a responder às necessidades dos utentes. Essa aprendizagem baseou-se na transmissão de conhecimentos técnico-científicos por parte da equipa da Farmácia Nazareth, de delegados de informação médica e formações externas. Como exemplo, destaco o facto de a Farmácia Nazareth apresentar uma vasta gama de produtos dermocosméticos de diferentes marcas, e por sua vez utentes que procuram por estes produtos e os seus respetivos aconselhamentos. Assim sendo, foi-me explicado os lineares de grande parte das marcas de forma a compreender a composição dos produtos, a que tipo de pele e situações mais se adequava. Tive ainda a oportunidade de complementar esta informação com a leitura de documentos disponíveis na farmácia com informação dos produtos.

De forma a melhorar a formação académica dos futuros farmacêuticos, na minha opinião é necessária uma melhor adaptação destas áreas ao dia-a-dia vivido numa farmácia, através de uma formação mais completa, incluindo uma vertente prática.

2.3. Oportunidades

2.3.1. SIFARMA 2000® e novo módulo de atendimento do SIFARMA®

Durante o meu estágio tive a oportunidade de trabalhar com o SIFARMA 2000®, *software* de eleição na maioria das farmácias em Portugal (90%).² Em adição, trabalhei com o novo módulo de atendimento do SIFARMA®, que futuramente será implementado nas farmácias, pelo facto da Farmácia Nazareth ser uma farmácia piloto no desenvolvimento dos novos módulos do SIFARMA®.

O SIFARMA 2000® pretende ajudar a atividade farmacêutica através do acompanhamento do produto desde a sua entrada até à sua saída.² A meu ver, a sua ação pode ser dividida em dois domínios, científico e logístico, onde tive a oportunidade de explorar as funcionalidades de ambos, mas trabalhando mais a vertente logística (*backoffice*). No domínio científico temos acesso a informações científicas sobre os produtos que nos auxilia no ato da dispensa, como interações medicamentosas, contraindicações, indicação

terapêutica e posologia. No domínio logístico, temos a possibilidade de efetuar encomendas diárias e instantâneas diretamente aos fornecedores e posterior receção, controlar *stocks*, prazos de validade, gerir devoluções, obter informações detalhadas sobre o histórico de vendas, entre outros.

O módulo de atendimento do SIFARMA[®], direcionado para o ato de dispensa do medicamento, trata-se de um programa ainda em desenvolvimento. O meu atendimento em grande parte foi efetuado neste programa, que na minha opinião, era mais fácil de operar e visualmente mais intuitivo. Este módulo apresenta algumas vantagens adicionais fase ao programa anterior como a criação de campanhas promocionais internas, a adição de novos componentes em qualquer fase do atendimento mesmo no menu de pagamento, possibilidade de gerir mais facilmente documentos de faturação (por exemplo, separar faturas por IVA, por nome de utente, ou por produtos), possibilidade de consultar o histórico terapêutico de um utente com ficha na farmácia de forma a perceber se se trata de uma terapêutica nova, ativa ou anteriormente feita.

Posto isto, a oportunidade de trabalhar com dois programas diferentes foi uma mais valia a longo prazo, pelo facto do SIFARMA[®] ser o sistema operativo mais comum nas farmácias. Para além disso, demonstraram ser ferramentas relevantes no meu atendimento, a nível da consulta da informação científica dos medicamentos, como na gestão de encomendas instantâneas, aquando da falta de um medicamento na farmácia.

2.3.2. Prescrição por DCI

A programa de prescrição por denominação comum internacional (DCI), iniciou-se a 1 de junho de 2012, com objetivo de incentivar o consumo de medicamentos genéricos.³ Os medicamentos genéricos, igualmente eficazes, seguros e providos de qualidade, são uma aposta mais sustentável tanto ao Sistema Nacional de Saúde (SNS) como ao utente.³ A farmácia deve possuir no seu arsenal terapêutico no mínimo três medicamentos dos cinco mais baratos do respetivo grupo homogéneo.³ Assim sendo, no ato da dispensa o utente pode optar por vários medicamentos, com preços distintos, mas sempre com a mesma substância ativa, dosagem e forma farmacêutica referente ao que foi prescrito.

Tive oportunidade de verificar que este tipo de prescrição permite garantir a acessibilidade do medicamento ao doente a dois níveis: económico - possibilidade de optar

por diferentes medicamentos em função do preço; terapêutico – não interrupção de um tratamento aquando de uma rutura de *stock*, isto é, medicamento esgotado.

2.3.3. Formação complementar

O mercado farmacêutico expande a um ritmo acelerado e como tal o farmacêutico tem a necessidade de estar em constante atualização, através de uma formação contínua. Esta formação contínua pode ser realizada de diferentes formas: ações de formação externas ao local de trabalho, visita de delegados de informação médica ou realização de formações *online*.

Posto isto, tive a oportunidade de assistir a formações externas na área da cosmética e suplementos alimentares (MartiDerm® e PharmNord®, respetivamente) e sobre a patologia do olho seco (Bausch & Lomb®). Nas visitas dos delegados de informação médica foram apresentados novos produtos no mercado e outros já existentes (Gurosan®, Procto-Glyvenol®, Aloclair®, Daflon®, Fluocaril®, Bourdalis®, etc.). Por fim, também tive a oportunidade de realizar formações *online*, fornecidas pelo grupo Angelini® sobre intolerâncias e alergias alimentares, doença venosa crónica e abordagens terapêuticas na diarreia.⁴

Nestas formações adquiri competências importantes que permitiram uma melhor análise dos casos práticos na farmácia e conseqüentemente um melhor aconselhamento destes produtos, complementado a minha atividade farmacêutica.

2.3.4. Programa VALORMED

O programa VALORMED tem como fim sensibilizar a população para a recolha de medicamentos (incluindo *blisters*, ampolas, frascos, bisnagas, cartonagens, etc.) que estejam fora de validade ou que já não sejam usados⁵.

Foi notável ao longo do estágio a elevada adesão de utentes que se dirigiam à farmácia para entregar este tipo de produtos. Tive ainda a oportunidade de constatar que a sociedade se encontra cada vez mais consciencializada do impacto de pequenos atos sobre a saúde ambiental e pública. Posto isto, tive a oportunidade de fazer parte deste projeto, onde o farmacêutico tem um papel ativo, na divulgação e sensibilização destas iniciativas de carácter ambiental junto da comunidade.

2.4. Ameaças

2.4.1. Medicamentos esgotados

Ao longo do estágio, foi constante a frequência de utentes de forma periódica à procura de medicamentos que se encontravam esgotados no mercado, como por exemplo Aspirina[®] 100 mg, Lasix[®] 40 mg, Adalat[®] CR 30, Eutirox[®] em várias dosagens, Zoely[®], entre outros. Muitos destes medicamentos são utilizados em terapêuticas prolongadas, onde a sua interrupção pode colocar em causa o bem-estar e a saúde do utente. Esta situação faz com que o utente tenha que percorrer farmácia a farmácia há procura do medicamento ou optar por outra alternativa terapêutica, se existir. Aquando da existência de alternativas terapêuticas (genérico ou outra molécula), explicava ao utente que existiam outras formas de contornar a situação, no entanto, foi notória a resistência por parte dos mesmos, com receio dessa alternativa “não ter o mesmo efeito”.

Na minha opinião, os medicamentos esgotados são uma ameaça à atividade farmacêutica, afetando a credibilidade e a relação dos profissionais de saúde com os utentes. Passa por nós farmacêuticos, explicar o conceito de medicamento genérico e dar conhecimento que os riscos inerentes à não toma de um medicamento alternativo serão maiores do que a sua toma.

2.4.2. Medicamentos retirados do mercado

Quando são detetadas irregularidades em relação aos medicamentos, dispositivos médicos ou outros produtos de saúde, surge uma circular informativa para proceder à retirada dos respetivos lotes do mercado. São diversos os tipos de irregularidades que podem originar uma recolha, deste o incumprimento das Boas Práticas de Fabrico até erros de impressão nas cartonagens. As recolhas podem ser requeridas pela Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde (INFARMED), titular de Autorização de Introdução no Mercado (AIM)/responsável ou outras entidades.

Por diversas vezes me foi atribuído a tarefa de verificar se possuíamos em *stock* os lotes dos produtos que deveriam ser devolvidos. Como exemplo destaco o Kemphor[®] Solução Bucal 240 ml, devolvido para o armazenista a pedido do INFARMED, devido à insolvência da empresa⁶. Outro exemplo foram os produtos da Urgo[®] contendo arnica, que a pedido da própria empresa foram devolvidos, devido à mudança de estatuto do produto para medicamento tradicional à base de plantas. No seguimento da recolha dos produtos da

Urgo[®] descritos anteriormente, surgiu na farmácia um utente que pretendia devolver outro produto contendo arnica (Thrombocid Arnica[®] Roll On 30ml), apresentando-se reticente com a utilização do mesmo.

Posto isto, quando um utente se apercebe que um determinado produto foi retirado do mercado, independentemente do seu motivo, este coloca logo em causa a segurança, eficácia e qualidade do mesmo e de outros semelhantes. Na minha opinião, estas recolhas são necessárias quando são detetadas inconformidades, mas por outro lado, causam desconfiança. A meu ver, este tipo de situações foram uma ameaça ao meu estágio, afetando a atividade farmacêutica, isto é, a credibilidade dos medicamentos e outros produtos de saúde no mercado a nível da segurança, eficácia e qualidade, sendo por vezes complicado de explicar ao utente o motivo da recolha.

3. Casos clínicos

3.1. Caso clínico I

Utente do sexo feminino, com cerca de 45 anos, dirige-se à farmácia queixando-se de infeção urinária e seguidamente solicitando por Fosfomicina Monuril[®] saquetas. Após questionar quais os sintomas que apresentava, a utente diz sentir um ligeiro de ardor ao urinar, um aumento da frequência à casa de banho e um desconforto no geral. Afirma ainda que estes foram os mesmos sintomas sentidos no ano anterior, tendo recorrido a uma consulta médica, onde foi receitado a Fosfomicina Monuril[®] na sequência de uma infeção urinária.

Assim sendo, disse à utente que os sintomas descritos se assemelham a um quadro clínico de infeção urinária, no entanto, o medicamento solicitado trata-se de um MSRM, e como alternativa, numa fase inicial de infeção urinária, apresentei o RoterCysti[®] 500 mg como uma das possibilidades de tratamento. Este medicamento trata-se de um “*medicamento tradicional à base de plantas utilizado no tratamento de sintomas de infeções ligeiras do trato urinário inferior (p. ex., infeção da bexiga), tais como sensação de ardor durante a micção e/ou micção frequente em mulheres.*”⁷ Assim sendo, aconselhei a toma de 2 comprimidos duas vezes ao dia⁷, algumas medidas não farmacológicas como a ingestão de água e evitar o uso de roupas muito justas e ainda a alertei para se não houvesse melhorias recorrer ao médico.

3.2. Caso clínico II

Utente do sexo feminino com cerca de 15 anos, desloca-se à farmácia para dispensa de uma receita eletrónica contendo os seguintes medicamentos: doxiciclina 100 mg (Vibramicina[®]), adapaleno 1 mg/g + peróxido de benzoílo 25 mg/g (Epiduo[®] gel), protetor solar de rosto com fator de proteção solar 30+ e um gel de limpeza de rosto

Após analisar a receita constatei que se tratava de uma situação de acne. O acne é uma das doenças de pele mais comuns, surgindo sobretudo entre os 10 e os 24 anos, caracterizada pelo excesso de gordura, células e bactérias nos folículos pilosos.⁸ Aquando da dispensa dos produtos, elucidei que o uso e renovação de 2 em 2 horas do protetor solar era extremamente importante, pois o peróxido de benzoílo trata-se de uma molécula fotossensível. Em relação à Vibramicina[®], aconselhei a utente a tomar o medicamento com água, pois o leite e sumos de fruto (por exemplo laranja e toranja) podem diminuir a absorção do medicamento e conseqüentemente a sua eficácia. Expliquei ainda à utente, que o Epiduo[®] gel tem como função eliminar a gordura que está acumulada no interior dos comedões, pelo que poderia notar no início do tratamento um ligeiro agravamento do estado patológico da sua pele.

4. Conclusão

O estágio curricular em farmácia comunitária foi uma etapa importante no meu percurso académico, isto é, na minha formação enquanto futura profissional de saúde. Permitiu conhecer o funcionamento de uma farmácia, com a execução de tarefas de *backoffice*, e ao mesmo tempo a aplicação prática de componentes teóricas do MICF. Nesta experiência estive em constante aprendizagem, permitindo alargar os meus conhecimentos científicos, através do aparecimento de novos casos clínicos que nunca antes tinha contactado.

Para além da parte técnico-científica, o estágio curricular permite desenvolver agentes de saúde pública capazes de adaptar o seu discurso conforme o utente em questão. Neste estágio tive a possibilidade de desenvolver competências a meu ver mais pessoais, como o saber ouvir e a forma de comunicação com as pessoas, sendo aspetos fundamentais para a prática profissional em farmácia comunitária.

Em suma, esta jornada supurou as minhas expectativas iniciais tanto a nível profissional como pessoal, devido em grande parte à equipa da Farmácia Nazareth pelo acompanhamento e disponibilidade ao longo do estágio.

5. Referências Bibliográficas

- 1- ORDEM DOS FARMACÊUTICOS - **Farmácia Comunitária**. [Consultado a 6 de julho de 2019]. Disponível na Internet em: <https://www.ordemfarmaceuticos.pt/pt/areas-profissionais/farmacia-comunitaria/>
- 2- GLINTT - **SIFARMA**. [Consultado a 6 de julho de 2019]. Disponível na Internet em: <https://www.glintt.com/pt/o-que-fazemos/ofertas/PhysicalDesignAutomation/GestaoeOperacao/Paginas/Sifarma.aspx>
- 3- MINISTÉRIO DA SAÚDE - **Portaria n.º 137-A/2012**. Diário da República, 1.ª série - N.º 92/2012 - 11 de maio de 2012, 2478-(2) a 2478-(7). [Consultado a 7 de julho de 2019]. Disponível na Internet em: <https://dre.pt/application/conteudo/668307>
- 4- EMFORMA COM ANGELINI - **Áreas de formação científico**. [Consultado a 7 de julho de 2019]. Disponível na Internet em: <https://emformacomangelini.pt/formacao/cientifico>
- 5- VALORMED - **Nova campanha institucional**. [Consultado a 7 de julho de 2019]. Disponível na Internet em: <http://www.valormed.pt/intro/home>
- 6- INFARMED - **Circular Informativa - Suspensão das Autorizações de Introdução no Mercado do titular Salusif –Produtos Farmacêuticos, S.A.** [Consultado a 16 de julho de 2019]. Disponível na Internet em: www.infarmed.pt/documents/15786/2897018/Circular+Informativa+N.º+098CD100.20.200/c7803ba6-a4d7-466b-b599-9da5ad9cec90
- 7- INFARMED, I.P. - **Resumo das Características do Medicamento RoterCysti 500 mg comprimidos revestidos por película**. [Consultado a 19 de julho de 2019]. Disponível na Internet em: http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=614422&tipo_doc=rcm
- 8- HOSPITAL CUF - **Acne**. [Consultado a 27 de julho de 2019]. Disponível na Internet em: <https://www.saudecuf.pt/mais-saude/doencas-a-z/acne>

Parte III

Monografia

O Vírus do Dengue: Novo Paradigma de Saúde Pública

Índice das Figuras

Figura 1- Casos de Dengue clinicamente suspeitos e confirmados laboratorialmente, desde 1990 até 2017	44
Figura 2 - Estrutura do vírus do dengue	45
Figura 3 - Organização genómica dos <i>Flavivirus</i>	46
Figura 4 - Ciclo de vida do vírus do dengue	49
Figura 5 - Ciclos de transmissão vetorial do dengue	53
Figura 6 - Evolução dos biomarcadores durante uma infeção primária e secundária do Dengue	61
Figura 7 - Genoma da vacina viva tetravalente contra o vírus do dengue, Dengvaxia [®] , produzida a partir da vacina YFV-17D	67

Lista de Abreviaturas

ADE - *Antibody-dependent Enhancement*

AMP - *Antimicrobial Peptides*

C - Proteína da Cápside

DC-SIGN - *Dendritic Cell-Specific ICAM-Grabbing Non-integrin*

DENV-1 - 4 - Serótipos do Vírus do Dengue do 1 ao 4

E - Proteína do Envelope

ELISA - *Enzyme-linked Immunosorbent Assay*

FHD - Febre Hemorrágica do Dengue

IFN - Interferão

IgG - Imunoglobulina G

IgM - Imunoglobulina M

JAK/STAT - *Janus Kinase/Signal Transducers and Activators of Transcription Pathway*

M - Proteína da Membrana

NS - Proteína Não Estrutural

NTPase - Nucleosídeo-Trifosfatase

OMS - Organização Mundial de Saúde

ORF - *Open Reading Frame*

PCR-RT - *Polymerase Chain Reaction – Reverse Transcriptase*

prM - Proteína Percursora de Membrana

RCI - Reguladores do Crescimento de Insetos

RE - Retículo Endoplasmático

RNA - *Ribonucleic Acid*

RpRd - RNA Polimerase RNA Dependente

RTP - RNA-trifosfatase

SCD - Síndrome do Choque do Dengue

sNSI - Proteína Não Estrutural I Solúvel

STAT - *Signal Transducer and Activator of Transcription Protein*

YFV-17D - Vacina Viva Atenuada da Febre-Amarela

1. Introdução

O Dengue é uma infeção causada pelo vírus do dengue, que alberga quatro serótipos bem caracterizados até à data (DENV-1 ao DENV-4).¹ O ciclo de vida deste vírus passa pela transmissão através do vetor (mosquito) ao principal hospedeiro (Homem), causando uma doença semelhante à gripe e por vezes com complicações associadas.²

Trata-se de uma doença reemergente que acarta inúmeras preocupações em termos de saúde pública. Determinados fatores como as alterações climáticas, as construções habitacionais não planeadas devido ao aumento populacional e consequente desflorestação, as resistências vetoriais e a rápida e fácil migração do vírus através da globalização dos transportes têm vindo a proporcionar melhores condições para o crescimento vetorial e consequente disseminação viral.^{1,3}

Atualmente, diversos países deparam-se com situações de crise socioeconómica, levando à saída dos seus habitantes para outros países em busca de melhores condições de vida. A Venezuela, por exemplo, um dos países endémicos de Dengue, possui inúmeros habitantes luso-descendentes, que perante esta situação retornaram ao seu país de origem. Há que ponderar a possibilidade de ocorrência de novo surto em Portugal, nomeadamente na Ilha da Madeira, onde a presença do vetor (*Aedes aegypti*) está instalada, segundo dados de janeiro de 2019 fornecidos pela *European Centre for Disease Prevention and Control*.⁴

Esta revisão bibliográfica tem como objetivo fornecer uma perspetiva global do vírus do dengue e da sua patologia, expondo os mais atuais desafios que este tema apresenta, de forma a clarificar a comunidade científica e não só.

2. O Dengue

2.1. História e epidemiologia

O Dengue ocorre principalmente em países com climas subtropicais e tropicais.⁵ Até à década de 70, apenas nove países tinham registado epidemias graves de Dengue. No entanto, nos dias de hoje, o Dengue é endémico em mais de 100 países espalhados por África, Mediterrâneo Oriental, Américas, Sudeste Asiático e Pacífico Ocidental, sendo as últimas três regiões as mais afetadas (Figura 1).⁶

Em 1970, em Jakarta (Indonésia), foi registado o primeiro surto de Dengue e desde então este vírus tornou-se um problema de saúde pública.⁷ A ocorrência de surtos tem vindo a aumentar, juntamente com o número de casos e novas áreas geográficas afetadas.⁵

Até ao final de 2016 foram registados 291.964 surtos, dos quais 50% ocorreram em áreas urbanas. O Pacífico Ocidental (72,4%), América (19,4%) e Sudeste Asiático (4,8%) foram as regiões que apresentaram maior registo de doentes.⁷

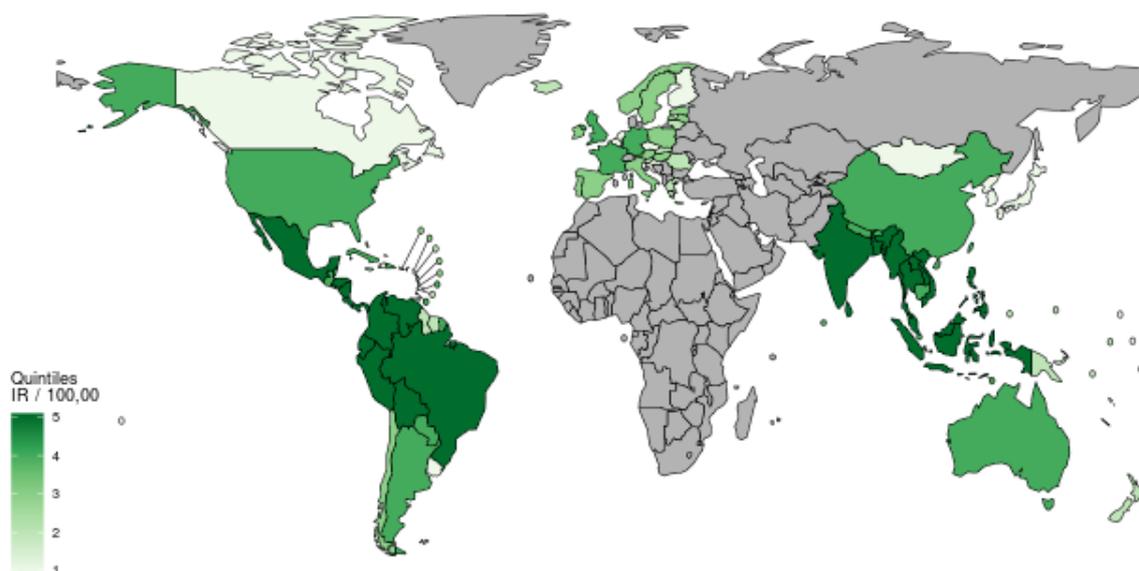


Figura 1 - Casos de Dengue clinicamente suspeitos e confirmados laboratorialmente, desde 1990 até 2017. Dados fornecidos pelos Ministérios da Saúde dos países afetados à Organização Mundial de Saúde (OMS) de cada região. (Adaptado de ⁹)

Nos últimos 50 anos a incidência do Dengue aumentou cerca de 30 vezes.² Segundo estimativas de 2013, ocorrem todos os anos cerca de 390 milhões de infeções provocadas pelo vírus do dengue, das quais 96 milhões apresentam manifestações clínicas.⁸

Apesar de na Europa não existirem países endémicos deste vírus, foram registados no passado dois surtos de Dengue.¹⁰ Torna-se expectável a ocorrência de um novo surto, devido à disseminação do vetor presente neste continente (*Aedes albopictus*).^{5,10} Em 2010 pela primeira vez, em França e na Croácia, verificou-se a transmissão local desta infeção, bem como a exportação de casos para outros países europeus.⁵ Em 2012, no Arquipélago da Madeira, em Portugal, a ocorrência de um surto, que se julga ter tido origem num caso importado da Venezuela, originou 2187 casos prováveis, dos quais 1084 foram confirmados laboratorialmente, não se tendo registado nenhum óbito.^{7,11} Este surto originou a ocorrência de 11 casos em Portugal Continental e 71 casos em treze países da Europa, a partir de viajantes que regressavam da Ilha da Madeira.¹²

3. O vírus do dengue

3.1. Classificação

A família *Flaviviridae* subdivide-se em três gêneros: *Flavivirus*, *Pestivirus* e *Hepacivirus*. Esta família de vírus é responsável por causar várias comorbilidades tanto em animais como no ser humano.¹³

O vírus do dengue encontra-se inserido no gênero *Flavivirus*, onde também estão incluídos outros vírus patogênicos para o Homem, tais como o vírus da febre amarela, o vírus do nilo ocidental, entre outros. Os vírus deste gênero são considerados arbovírus, uma vez que a sua principal forma de transmissão é realizada através de artrópodes como o mosquito.^{13, 14}

3.2. Estrutura e genoma viral

O vírus do dengue é um vírus esférico, com cerca de 50 nanômetros de diâmetro, com uma cápside icosaédrica envolvida por uma bicamada lipídica denominada de envelope viral, no qual se encontram inseridas glicoproteínas estruturais, nomeadamente proteínas da membrana (M) e proteínas do envelope (E), responsáveis pelas interações entre o vírus e a célula hospedeira (Figura 2).^{14, 15}

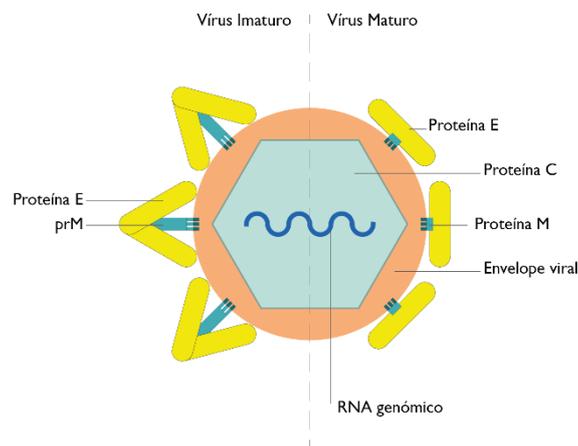


Figura 2- Estrutura do vírus do dengue. (Adaptado de ^{15,42})

Os *Flavivirus* possuem um genoma constituído por uma cadeia de ácido ribonucleico linear de polaridade positiva com cerca de 11 kilo-bases de comprimento. Este genoma apresenta uma *open reading frame* (ORF) ladeada por duas regiões não codificantes (5'UTR e 3'UTR). A ORF possui genes que codificam proteínas estruturais, nomeadamente a proteína da cápside (C), proteína M expressa como precursor de M (prM) e a proteína E, seguidos

pelos genes que vão dar origem às proteínas não estruturais (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5) (Figura 3).¹⁴ Nas regiões não codificantes, a extremidade 5'UTR do genoma é revestida por 7-metil-guanosina e a extremidade 3'-UTR não possui cauda poliadenilada.¹⁶

O genoma viral, por ser de polaridade positiva, é diretamente traduzido numa poliproteína de aproximadamente 3400 aminoácidos, que posteriormente sofre um processamento proteolítico originando as 10 proteínas com diferentes funcionalidades.¹⁴

As proteínas estruturais têm funções importantes na entrada, fusão e montagem viral.¹⁷ A proteína C encontra-se envolvida num dos primeiros eventos da montagem viral, a formação da nucleocápside. Esta formação ocorre quando múltiplas cópias de proteínas C se organizam em torno de uma única cópia de RNA genómico.¹³

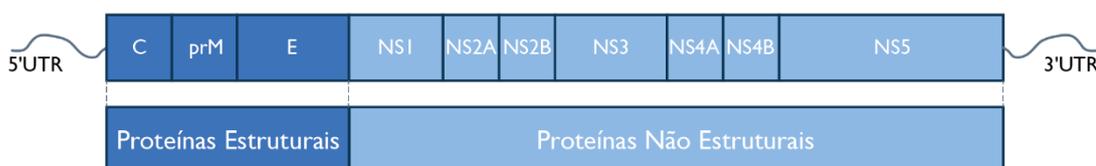


Figura 3- Organização genômica dos *Flavivirus*. (Adaptado de ¹⁴)

A proteína E permite a ligação do vírus à célula hospedeira e a fusão com as membranas celulares. A nível estrutural contém três domínios, onde o domínio II é constituído pelo peptídeo de fusão, o domínio III efetua a ligação ao recetor celular e o domínio I encontra-se posicionado entre os domínios anteriores.^{18,19} Esta proteína induz a produção de anticorpos neutralizantes e não neutralizantes, devido à presença de epítomos específicos do serótipo que está a causar infeção (domínios I e III), e epítomos comuns a todos serótipos do vírus do dengue (domínio II), respetivamente.¹⁸ Inúmeras mutações têm sido identificadas ao nível do domínio III, afetando a ligação desta proteína ao recetor celular.¹⁵

A proteína M inicialmente é encontrada sobre a forma prM (virião imaturo), que forma heterodímeros com a proteína E. Este precursor protege a proteína E de inativações irreversíveis que poderão ocorrer até à libertação do virião, funcionando como uma *chaperone*. Quando ocorre a clivagem de prM por uma protease celular, há libertação do peptídeo solúvel pr e a proteína M permanece associada à partícula viral.¹⁸

As proteínas não estruturais apresentam funções a nível da replicação e montagem viral, sendo constituintes do complexo de replicação viral (Anexo I).^{15,17} Por sua vez, os complexos de replicação viral associam-se a estruturas denominadas de vesículas de replicação, como resultado da alteração das membranas intracelulares.¹

A glicoproteína NS1 existe em 3 formas: na forma residente no retículo endoplasmático (RE), na forma associada à membrana e na forma secretada. Inicialmente é sintetizada como um monómero hidrofílico que após dimerização no lúmen do RE, se associa à membrana do mesmo. Posteriormente é transportada para a membrana citoplasmática, onde pode permanecer ou ser secretada na forma solúvel (sNS1).^{15,17} Esta proteína participa na replicação viral numa fase inicial, mas não se sabe em concreto qual a sua função.^{1,16} Acredita-se que esta vem facilitar a infeção viral e patogénese do vírus, pois a forma sNS1 apresenta um papel importante sobre a resposta imunológica. O sistema imunitário produz anticorpos contra a forma sNS1, que apresentam uma reatividade cruzada sobre proteínas do hospedeiro e células endoteliais, provocando uma disfunção endotelial.¹ Por outro lado, Avirutnan *et al*, demonstraram que a sNS1 apresenta capacidades antagonizantes sobre componentes da via do complemento (C4), enfraquecendo a resposta imunitária, e assim exercendo uma ação protetora sobre o vírus do dengue. Assim sendo, a via do complemento torna-se uma estratégia ineficaz por parte do organismo para a neutralização do vírus.²⁰ A forma sNS1 é detetada a partir do primeiro dia de sintomas, no sangue de doentes infetados.^{15,17}

A proteína NS3 juntamente com a proteína NS2B (cofator) apresenta atividade serina protease a nível do terminal-N, importante na clivagem da poliproteína viral. Por outro lado, o terminal-C funciona como helicase, nucleosídeo-trifosfatase (NTPase) e 5' RNA-trifosfatase (RTP). Esta proteína encontra-se envolvida na replicação viral, formando um complexo com a proteína NS5 e ajudando no desenrolamento e desfosforilação do genoma viral.¹

Em relação às proteínas NS4B, NS4A e NS2A, Munõz-Jordán *et al*. demonstrou que estas proteínas têm a capacidade de suprimir o sistema do interferão (INF), ao interferir com a função da proteína *Signal Transducer and Activator of Transcription I* (STAT). A proteína NS4B é a que apresenta maior potencial inibitório em relação às três proteínas.²¹

A proteína NS5 apresenta no terminal-N atividade metiltransferase (MTase) importante a nível do *capping* do genoma viral, enquanto que o terminal-C funciona como RNA polimerase RNA dependente (RpRd) essencial na replicação viral.²² Para além disso, NS5

consegue antagonizar a resposta do INF, ao associar-se à STAT 2, reduzindo os níveis desta proteína necessária a esta via de resposta do sistema imunitário.²³

3.3. Ciclo de replicação

Aquando da picada do vetor no hospedeiro suscetível (Homem), ocorre a inoculação do vírus na derme, epiderme e diretamente na corrente sanguínea. Células presentes na pele como macrófagos, células dendríticas e células de *Langerhans* constituem o primeiro alvo da infecção. A migração das células infetadas até aos nódulos linfáticos e sua disseminação, permite o recrutamento de monócitos e macrófagos constituindo novos alvos da infecção.¹⁵

O elevado número de células permissivas que o vírus apresenta sugere a ligação da proteína E a uma molécula de superfície celular omnipresente ou a utilização de vários recetores para mediar a infecção.^{13,19} Não se sabe ao certo quais os recetores celulares associados à infecção, no entanto têm sido identificados em sistemas *in vitro* vários recetores candidatos tais como, DC-SIGN (*Dendritic Cell-Specific ICAM-Grabbing Non-integrin*), *Heat Shock Protein 70*, *Heat Shock Protein 90*, *heparan sulfate*, e *macrophage mannose receptor I*.¹⁵ A informação estrutural acerca do mecanismo pelo qual o vírus do dengue, assim como outros do seu género, se liga aos seus recetores, permanece ainda por esclarecer.^{13,19}

Após o vírus estabelecer contacto com a superfície da célula hospedeira, este é internalizado através de endocitose mediada por recetores, levando à formação de um endossoma (Figura 4). No citoplasma ocorre a acidificação do endossoma, desencadeando-se alterações conformacionais irreversíveis a nível da proteína E, nomeadamente a projeção do domínio II e conseqüente exposição do peptídeo de fusão hidrofóbico perante a membrana celular, resultando na fusão de ambas. Deste modo, a nucleocápside é libertada para o citoplasma e as proteínas da cápside dissociam-se do RNA viral, dando início à tradução das proteínas virais, replicação viral, e posterior montagem.^{13,19}

No RE, o RNA genómico libertado para o citoplasma funciona como RNA mensageiro, ocorrendo a tradução nos ribossomas da ORF numa poliproteína.²⁴ Em seguida esta é processada por proteases celulares e virais, nomeadamente a proteína NS3/NS2B (serina protease), originando as três proteínas estruturais e as sete proteínas não estruturais.^{1,19} Algumas das proteínas formadas são alvos de reações de glicosilação importantes que serão discutidas mais adiante.¹⁹

Após tradução das proteínas virais, as proteínas NS iniciam a replicação do genoma viral.¹⁹ Este processo inicia-se com a síntese da cadeia de RNA de polaridade negativa, que serve de molde para a amplificação da cadeia de RNA de polaridade positiva. A reação enzimática é catalisada pela atividade da RpRd da proteína NS5, em associação com a protease/helicase da NS3 e outras proteínas NS virais. O RNA sintetizado pode ser usado para nova tradução ou então associa-se à proteína C, por um mecanismo que ainda não se conhece, formando a nucleocápside e passando a constituir o material genético dos novos vírus.^{19,24} A nucleocápside formada dirige-se para o lúmen do RE onde obtém a bicamada lipídica e as proteínas prM e E.²⁴ As proteínas prM e E encontram-se orientados para o lúmen do RE, sobre a forma de heterodímeros, e acredita-se que estas interações oligoméricas induzem uma estrutura de superfície curva que orienta a libertação do virião.¹⁹

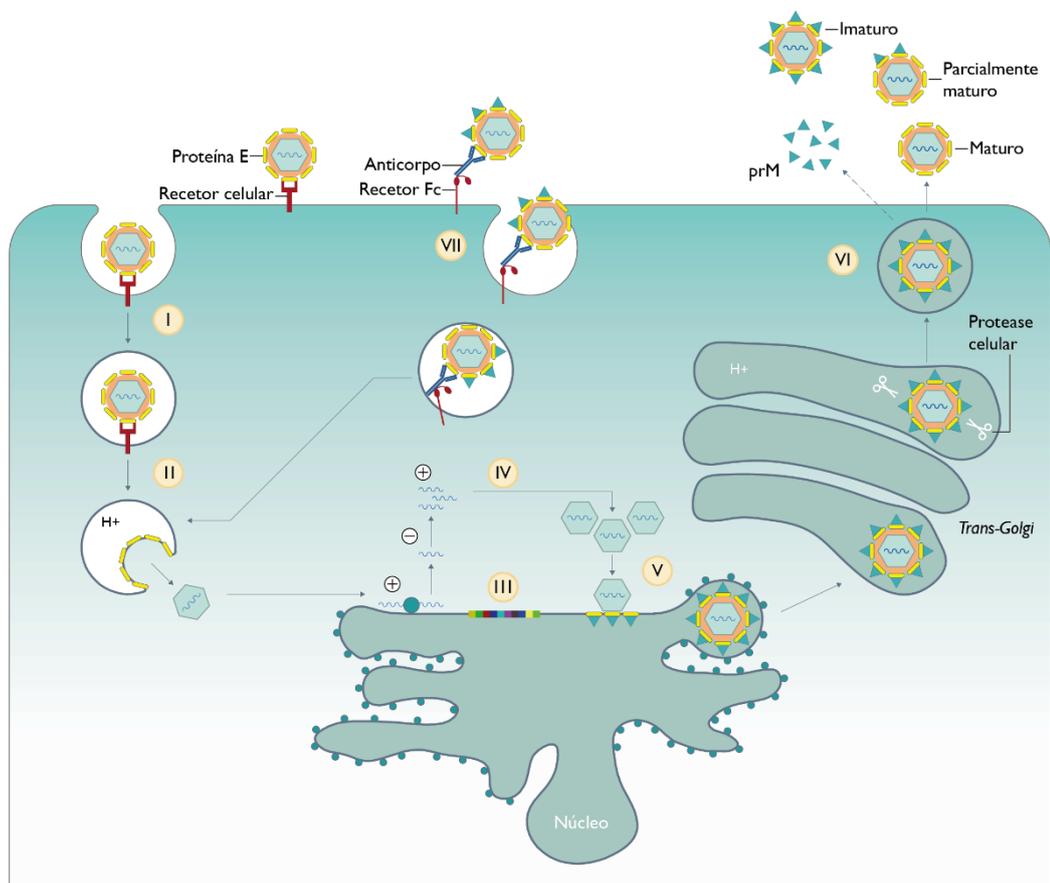


Figura 4 - Ciclo de replicação do vírus do dengue. I- Endocitose mediada por recetores; II- Acidificação do endossoma; III- Formação da poliproteína e posterior formação do complexo de replicação; IV- Formação da nucleocápside; V- Montagem viral; VI- Exocitose; VII- Via de entrada viral aquando de uma infeção secundária (*Antibody-dependent Enhancement*). (Adaptado de ¹⁵)

É de salientar que as partículas formadas ainda são imaturas, ou seja, não infecciosas.¹³ Estas vão sendo direcionadas para a rede *Trans-Golgi*, onde a presença de pH ligeiramente ácido (5,8-6,0) desencadeia a dissociação dos heterodímeros prM/E em dímeros, com prM cobrindo o péptido de fusão da proteína E. Esta reorganização estrutural permite que a endoprotease celular furina, clive o prM, gerando a proteína M e o peptídeo pr, como referido anteriormente. Tanto a proteína prM como o seu peptídeo desempenham funções importantes na estabilização da proteína E para que esta não sofra mudanças conformacionais prematuras, que poderiam levar à fusão precoce com a membrana celular.¹⁹ No entanto, estudos demonstraram que dependendo da extensão da clivagem de prM, o peptídeo pr poderá permanecer no virião até o vírus ser libertado por exocitose, altura em que se dissocia no meio extracelular formando viriões maduros, capazes de infetar novas células.^{18,25} Assim, as partículas virais libertadas pelas células infetadas podem ser classificadas como: maduras, quando contêm somente proteína M na superfície; imaturas, quando está presente prM intacta ou parcialmente clivada; ou parcialmente maduras quando contêm tanto proteína M como prM, podendo atuar como partícula infecciosa ou como partícula não infecciosa.¹⁵

Por outro lado, no RE também ocorre a formação de partículas subvirais, que contêm envelope e glicoproteínas (proteína M/prM e E), não sendo infecciosas, devido à ausência de proteínas C e genoma viral. Estas sofrem o mesmo destino que as partículas imaturas na rede *Trans-Golgi* e são libertadas juntamente com as partículas infecciosas por exocitose.¹³

3.4. Fatores de virulência

3.4.1. Reações de glicosilação

Após a tradução das proteínas virais E, NSI, prM/M estas podem ser alvo de reações de glicosilação no RE, o que contribuí para a virulência viral.^{19,26} Para que estas reações possam ocorrer, o vírus necessita de utilizar enzimas celulares, nomeadamente glicosiltransferases.²⁷

Quando falamos da proteína E, as reações de glicosilação (*N-linked*) ocorrem a nível das posições Asn153 (domínio I) e Asn67 (domínio II).²⁶ A glicosilação na posição Asn153 provoca uma oclusão parcial do peptídeo de fusão, funcionando como um “escudo”, de forma a estabilizar as interações entre os monómeros do seu dímero.^{19,26} A nível da posição Asn67, tem sido demonstrado que a glicosilação é uma etapa crucial para a produção de partículas virais em linhas celulares de mamíferos e mosquitos, pois verificou-se que esta região glicosilada interage diretamente com um dos recetores celulares responsáveis pela internalização do vírus (DC-SIGN), facilitando esta ligação.^{19,26} Assim sendo, estes grupos

adicionados permitem assegurar o correto enrolamento da proteína e promover a infecção viral nas células que possuídas do recetor DC-SIGN e consequente propagação viral.^{19,26}

Após clivagem da poliproteína, a proteína NSI é glicosilada (*N-linked*) nas posições Asn130 e Asn207, conferindo uma maior estabilidade.²⁶ A glicosilação na posição Asn130 permite uma secreção mais eficiente da NSI para o meio extracelular.^{19,26} Esta reação parece apresentar um papel importante na patogénese da doença, uma vez que doentes com Febre Hemorrágica do Dengue (FHD) apresentam elevados títulos sanguíneos desta proteína.¹⁹

A nível da proteína prM/M não se sabe ao certo o impacto das reações de glicosilação (*N-linked*) na função da proteína, no entanto sabe-se que ocorrem nas posições Asn7, Asn31 e Asn52, podendo estar relacionado com a sua função de *chaperone*. Sabe-se ainda que a ligação da proteína prM à proteína E dá-se através de uma glicosilação na posição Asn69.²⁷

3.4.2. Serótipos e genótipos

O dengue circula na natureza sobre a forma de quatro serótipos: DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4, partilhando entre si uma homologia de 65-70%. Esta é a espécie com maior taxa de mutação no género *Flavivirus*, devido à replicação de baixa fidelidade, que juntamente com processos de seleção natural proporcionam a formação de diferentes genótipos e linhagens dentro de cada serótipo. O DENV-1 apresenta cinco genótipos (I-V), o DENV-2 seis genótipos (Sudeste Asiático/Americano, Asiático I, Asiático II, Cosmopolita, Americano e Silvático), o DENV-3 quatro genótipos (I-IV) e o DENV-4 quatro genótipos (I, II, III e Silvático).^{16,19} Em outubro de 2013 foi anunciado a existência de um novo serótipo do vírus do dengue, DENV-5. Este serótipo foi detetado em 2007 a partir de amostras de sangue na Ásia, onde inicialmente se pensava ser uma variante de DENV-4.^{28,29}

Em 1970 no Pacífico Sul observou-se que na mesma região existiam surtos com graus de virulência diferentes. Alguns surtos apresentavam poucos ou nenhum caso de FHD, enquanto que outros apresentavam elevados casos de FHD, após infecção primária. Através da técnica de sequenciação do RNA genómico, conseguiu-se desenvolver árvores filogenéticas que permitiram obter uma visão evolutiva do vírus do dengue, verificando-se assim que alguns genótipos se encontravam mais associados a FHD do que outros, fazendo destes vírus mais virulentos.³⁰

Constatou-se ainda, em determinadas regiões, a substituição do genótipo em circulação por genótipos associados a FHD.³⁰ Por exemplo, o primeiro surto de FHD no continente americano coincidiu com a introdução do genótipo DENV-2 Sudeste Asiático. Isto sugere

que este novo genótipo é mais virulento do que o circulante naquela região, DENV-2 Americano.^{16,19}

O aumento da virémia durante a infecção, por parte de alguns genótipos, tem um forte impacto no aumento da transmissibilidade e no potencial do surto. Torna-se crucial nas regiões endêmicas, o conhecimento dos genótipos em circulação, devido ao deslocamento progressivo de genótipos menos virulentos para mais virulentos durante infecções em larga escala. Com este conhecimento prévio poderá agir-se de melhor forma na vigilância da doença, epidemiologia e desenvolvimento de vacinas. Habitualmente, a caracterização molecular dos genótipos do vírus do dengue, são feitas com base em segmentos de genes selecionados. No entanto, tem-se vindo a substituir esta estratégia pela análise do genoma completo, permitindo um melhor conhecimento da dinâmica da doença.¹⁶

Dos quatro serótipos do vírus do dengue, o DENV-1 circula em todos os países que apresentam uma elevada prevalência do Dengue.¹⁶ Entre 1990 e 2015 o DENV-2 foi o serótipo mais associado a surtos por monoinfecção, no entanto cerca de 50% dos surtos são provocados por coinfeção de vários serótipos, sendo comum na região do Sudeste Asiático a observação conjunta dos quatro serótipos.⁷

4. Transmissão

4.1. Transmissão vetorial

Um artrópode é considerado um vetor competente de um arbovírus ou outro agente patogénico, se a espécie em causa demonstrar que consegue adquirir naturalmente, ser infetada e transmitir o referido agente infeccioso. Os mosquitos são artrópodes que podemos encontrar em todo o mundo (exceto na Antártida), que conseguem viver nos mais variados ambientes, desde florestas tropicais até áreas urbanas. O dengue é um dos vírus que estes insetos conseguem transmitir, tanto a humanos como a animais.³¹

Os vetores principais responsáveis pela transmissão do dengue, *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, pertencem à família *Culicidae* que apresenta um comportamento hematófago, ajudando na inoculação do vírus nos vertebrados que irá infetar.^{31,32} Desenvolvem-se sobretudo em regiões onde possam encontrar a população humana, isto é, regiões urbanas e suburbanas.³¹

4.1.1. Ciclos de transmissão vetorial

Quando falamos em transmissão vetorial nos *Flavivirus*, em particular no dengue, temos que ter em atenção a existência de três ciclos de transmissão: ciclo silvático, ciclo rural e o ciclo urbano. Em África e na Ásia podemos observar o ciclo silvático e o ciclo rural. No ciclo silvático temos o envolvimento de um vetor artrópode (*Aedes luteocephalus*, *Aedes furcifer* e *Aedes niveus*) e um reservatório vertebrado não humano. No ciclo rural, as atividades humanas sobrepõem-se com o ciclo silvático, sendo o Homem infetado pelo mosquito vetor (*Aedes furcifer* em África e *Aedes albopictus* na Ásia). Por último, a adaptação dos mosquitos do ciclo silvático ao meio urbano, utilizando os humanos como fonte de alimentação, fez com que os ciclos urbanos aumentassem a incidência do dengue por todo o mundo, onde encontramos presente o *Aedes aegypti* e o *Aedes albopictus* (Figura 5).³²

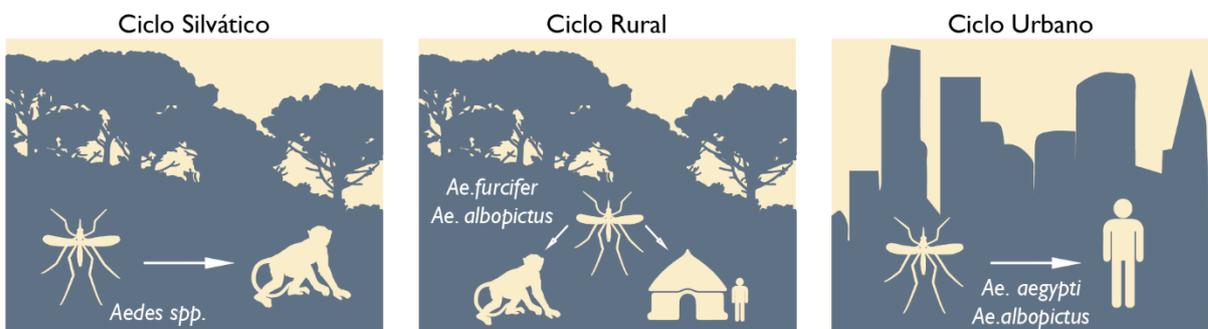


Figura 5 - Ciclos de transmissão vetorial do dengue. (Adaptado de ³²)

4.1.2. Replicação do vírus do dengue nas células do vetor

O dengue apresenta um ciclo de vida no vetor semelhante ao que acontece a nível das células humanas. Inicialmente, as fêmeas do vetor ingerem sangue infetado com o vírus proveniente de um hospedeiro virémico. O vírus encontra à superfície das células epiteliais intestinais recetores, entrando na célula por endocitose mediada por clatrina. Ocorre uma acidificação do endossoma resultando na fusão da membrana viral com a celular, com consequente libertação do genoma viral para ocorrer replicação, tradução, montagem, maturação e exocitose dos novos vírus formados.³³ Dá-se uma disseminação viral, onde através da hemolinfa o vírus do dengue consegue atingir vários tecidos e alcançar as glândulas salivares para que possa haver transmissão viral a um novo hospedeiro.³²

4.1.3. Transmissão viral

A transmissão viral depende sobretudo de três fatores: virulência do vírus, capacidade vetorial e competência vetorial. A capacidade vetorial consiste no número de picadas

potencialmente infecciosas que um hospedeiro vertebrado receberá por dia entre todos os vetores que se alimentam dele, relacionando assim a taxa de picada, a taxa de sobrevivência e a densidade do vetor.^{32,33}

O período de incubação extrínseco é uma característica crítica quando se avalia a transmissão do dengue. Consiste no tempo necessário para o mosquito se tornar infeccioso após exposição ao arbovírus, o que habitualmente varia entre 7 a 14 dias.³² A transmissão viral só ocorre se a longevidade do vetor for superior ao período de incubação extrínseco.³⁴ O número de vírus após ingestão cai consideravelmente entre as primeiras 24 a 48 horas, devido à distância entre o local de entrada e o local de replicação. Este período de “eclipse” é o mais importante pois irá determinar se o vetor se tornará competente na transmissão do vírus.³³

A competência vetorial, representa a capacidade do vetor obter, replicar e transmitir o vírus. Fatores como a resposta imune inata, microbioma intestinal do vetor, temperatura, padrões de alimentação, entre outros fatores bióticos/abióticos interferem de diferentes formas na aptidão e competência do vetor.³²

4.1.3.1. Resposta imune inata

Quando o vetor é infetado pelo vírus, desenvolve-se uma resposta imune inata que diminui a patogenicidade do vírus no mosquito, porém não impede necessariamente a transmissão viral.³² A resposta imune inata pode atuar a dois níveis: impedir a infecção do vírus nas células epiteliais intestinais ou se tiver ocorrido infecção e replicação a nível epitelial, impedir a saída de novos vírus e consequente disseminação para outros tecidos.³³

Aedes aegypti contém vias de sinalização imunológicas altamente conservadas, tais como a via Toll, a via Janus cinase/transdutores de sinal e ativadores de transcrição (JAK/STAT) e a via do RNA interferência que quando reguladas positivamente podem limitar a quantidade de vírus nas células do mosquito, através de mecanismos de melanização, encapsulação, fagocitose, apoptose e produção de *antimicrobial peptides* (AMP).^{3,32,33} Para que o vírus do dengue consiga sobreviver e replicar-se dentro do *Aedes aegypti*, este tem que apresentar estratégias que limitam ou alteram o sistema imune inato (por exemplo, indução da autofagia nas células do vetor).³²

4.1.3.2. Microbioma intestinal

O microbioma intestinal do vetor tem impacto sobre a nutrição, digestão, metabolismo, desenvolvimento e imunidade do mesmo. A presença de bactérias, adquiridas a partir do

habitat natural ou através da transmissão vertical, poderá diminuir a competência vetorial. Esta diminuição da competência vetorial por parte do microbioma intestinal dá-se devido à ativação do sistema imunitário, ou à competição por recursos que são essenciais à replicação viral e ao controlo da resposta imune do vetor por parte do vírus, ou ainda através da produção de compostos antivirais por determinadas bactérias.³

Foram identificados no microbioma intestinal do *Aedes Aegypti* e *Aedes albopictus* diversos grupos de microrganismos tais como: Actinobacteria (*Streptomycesm*, *Microbacterium* e *Micrococcus*), Firmicutes (*Bacillus*) e Proteobacteria (*Asaia*, *Chromobacterium*, *Enterobacter*, *Pantoea*, *Pseudomonas* e *Serratia*). A nível das glândulas salivares, órgãos reprodutores, cabeça, músculos e túbulos de Malpighi encontrou-se uma bactéria intracelular, a *Wolbachia sp.* Estudos demonstram que a presença da *Wolbachia sp.* nas glândulas salivares e órgãos reprodutores do vetor *Aedes albopictus*, confere resistência à infeção pelo dengue e permite a passagem da bactéria à descendência aquando da transmissão vertical, respetivamente.³ A *Wolbachia sp.* utiliza recursos limitados do vetor para conseguir replicar-se, nomeadamente lípidos, o que afeta a competência vetorial. Por outro lado, o vírus do dengue quando no meio intracelular necessita de utilizar estratégias que ajudem no processamento de proteínas, replicação e montagem viral, estratégias essas que envolvem a alteração da composição lipídica da célula hospedeira, da homeostase lipídica e das membranas intracelular através da ação sobre a expressão dos genes da síntese lipídica. Assim sendo a *Wolbachia sp.* compete com o vírus pela utilização dos lípidos celulares, impedindo a replicação viral.³

Por outro lado, *Chromobacterium sp.* é um género de bactérias entomopatogénica que produz metabolitos secundários (aminopeptidases) com atividade antiviral contra o dengue no *Aedes aegypti*, no estágio larval e adulto, reduzindo a competência vetorial.³ As aminopeptidases ligam-se à proteína E impedindo a entrada e replicação do vírus na célula hospedeira.³⁵ Estes compostos com atividade antiviral poderão, futuramente, representar uma abordagem viável ao desenvolvimento de novas abordagens de tratamento para o Homem.³

De modo a estudar a influência do microbioma intestinal no vírus do dengue, procedeu-se ao tratamento do *Aedes aegypti* com antibiótico para fins de eliminação do microbiota intestinal. Após o tratamento, verificaram-se níveis elevados do vírus a nível intestinal e baixa expressão do gene AMP, indicando uma menor ativação imunológica. A nível intestinal, foi também verificado que *Proteus sp.* contribuí para o aumento da expressão do gene AMP

levando a um aumento da resistência da infecção por dengue. Estes resultados parecem apontar para uma sobreposição entre as respostas imunológicas antibacterianas e antivirais.³

É de realçar que em certos casos o microbiota intestinal pode aumentar a competência vetorial, como por exemplo, a *Serratia odorifera* que aumenta a suscetibilidade da infecção por dengue no *Aedes aegypti*, possivelmente através da supressão da resposta imune.³

4.1.3.3. Temperatura

A incidência do dengue está dependente da presença dos vetores que por sua vez dependem da variação sazonal, sendo as estações quentes e chuvosas as preferenciais.³¹ A temperatura trata-se de um fator abiótico a ter em consideração quando falamos em competência vetorial, pois afeta o desenvolvimento e atividade do vetor, bem como desenvolvimento e transmissão viral.^{31,36}

Apesar de existir uma temperatura em que a sua atividade é máxima/ótima, os vetores conseguem operar dentro de um intervalo de temperatura.³¹ Tem-se observado transmissão viral a temperaturas entre os 13°C e os 35°C.³⁶

Temperaturas mais altas têm um impacto positivo no desenvolvimento do *Aedes aegypti* (32°C) e fazem com que o período de incubação extrínseco seja mais curto. Assim sendo, o aquecimento global permitirá uma melhor distribuição geográfica e uma transmissão viral mais rápida. As variações de temperatura sentidas durante o dia podem trazer impacto sobre a competência vetorial. Constatou-se que uma maior variação de temperaturas ($\Delta 20^\circ\text{C}$ vs $\Delta 10^\circ\text{C}$) traz um impacto negativo para a competência e sobrevivência do *Aedes aegypti*.³¹ Este vetor apresenta temperaturas ótimas de sobrevivência mais elevadas do que o *Aedes albopictus*.³⁶

Aedes albopictus atinge uma maior variedade de hospedeiros, pois é capaz de sobreviver a temperaturas mais frias atingindo regiões climáticas em que o *Aedes aegypti* tem mais dificuldade. Apresenta maior flexibilidade em termos de temperaturas tendo como temperatura ótima de desenvolvimento os 29,7°C. Por norma, *Aedes albopictus* não é encontrado conjuntamente com *Aedes aegypti*, fazendo deste um vetor secundário que permite a manutenção do dengue em áreas rurais e com menor importância na transmissão do dengue.³¹

4.1.3.4. Outros fatores bióticos/abióticos

Outro aspeto relevante para a competência vetorial é o tamanho das fêmeas adultas, que pode ser influenciado por determinados fatores durante o desenvolvimento larval. O

tamanho também tem impacto na capacidade vetorial e na sua natureza biológica, nomeadamente na longevidade, na continuidade da picada e no padrão de alimentação.³³ Tendo em conta que são efetuadas várias refeições de sangue por ciclo gonotrófico, estes padrões de alimentação permitem a transmissão eficiente do dengue por parte do *Aedes aegypti* e do *Aedes albopictus*.³²

No estudo realizado por Nasci *et al.*, verificou-se que quanto maior o tamanho do corpo adulto, maior a hipótese de atingir um segundo ciclo gonotrófico.³⁷ Por outro lado, quanto menor o tamanho do vetor, maior o número de refeições efetuados por ciclo gonotrófico. Assim, estes vetores de porte mais reduzido têm maior probabilidade de transmissão viral a um indivíduo não infetado durante o seu tempo de vida útil, tornando-se vetores com maior interesse a nível epidemiológico.³³

O meio aquático onde são depositados os ovos dos mosquitos influencia indiretamente a competência vetorial. Conforme a composição deste, alterações a nível do microbioma vetorial acontecem, influenciando a forma como este atua a nível da infeção pelo dengue.^{33,35}

4.2. Transmissão não vetorial

Mesmo em países endémicos, as infeções não vetoriais encontram-se subnotificadas. A transmissão através de derivados do sangue é provavelmente a via de infeção mais reportada, e por isso já existem recomendações para *screening* destes produtos derivados de sangue, em zonas endémicas.³⁸

A existência de dadores assintomáticos e um período de incubação intrínseco de 7-14 dias que antecede a virémia, aumenta o risco de transmissão viral através de transfusões sanguíneas e transplantes de órgãos. Alguns casos de Dengue na Colômbia têm sido associados a transplantes de órgão sólidos, no entanto não existem dados suficientes para estimar a incidência desta via de transmissão, pois não existem recomendações nas *guidelines* de transplantes de órgãos para a deteção precoce através de testes de diagnóstico de forma rotineira.³⁸

A transmissão nosocomial consiste sobretudo na transmissão do vírus aos profissionais de saúde através de picadas acidentais de agulhas usadas em doentes com dengue.³⁹ Esta via de transmissão do dengue é muito rara, pois maior parte das vezes é necessário uma quantidade de vírus superior ao necessário pela via vetorial. O doente deverá ter uma elevada carga viral e a quantidade de sangue contaminado que contacta a ferida tem que ser

significativa.⁴⁰ A aquisição do vírus através do vetor em ambiente hospitalar tem sido notificada como transmissão nosocomial.³⁸

A transmissão vertical é uma via rara de transmissão viral, com poucos casos relatados, o que dificulta o entendimento sobre o modo de transmissão.⁴¹ As mulheres grávidas podem ter infecção por dengue em duas fases: numa fase mais precoce ou numa fase mais tardia da gravidez. Só na última situação é que existe evidências de transmissão vertical resultando numa infecção congênita, pois não há a formação atempada de anticorpos protetores por parte da mãe e sua transferência ao recém-nascido, de forma a obter imunidade passiva.^{40,41} Esta transmissão intrauterina é confirmada com a presença do vírus em amostras de sangue fetal e cordão umbilical.⁴¹

5. Infecção

5.1. Infecção primária e secundária

A infecção primária consiste na exposição do indivíduo a um dos serótipos do vírus do dengue pela primeira vez. Devido à presença de um organismo estranho, há produção de imunoglobulina M (IgM) entre o 3º e 5º dia, e imunoglobulina G (IgG) entre o 6º e 10º dia, após o início da infecção. Posteriormente os títulos de IgM acabam por desaparecer, mas em contrapartida as IgG permanecem para a vida conferindo imunidade a longo prazo ao serótipo responsável pela infecção.⁴²

Quando um indivíduo no passado já vivenciou uma infecção pelo vírus do dengue e é novamente infetado, dizemos que está perante uma infecção secundária. Numa infecção secundária com um serótipo diferente da infecção primária, existe maior probabilidade de desenvolver FHD e conseqüentemente evoluir para Síndrome do Choque do Dengue (SCD). Isto acontece devido à presença de anticorpos não neutralizantes produzidos na infecção primária, que formam complexos imunológicos com o vírus, e que por sua vez se ligam aos recetores Fc presentes há superfície dos monócitos, levando à internalização do vírus e a um aumento da carga viral. Este fenómeno é denominado de *Antibody-dependent Enhancement* (ADE), que resulta no aumento da severidade da doença.⁴²

5.2. Fases da infecção

Após o período de incubação intrínseco (7-14 dias), o curso da infecção pode ser dividido em três fases: fase febril (aguda), fase crítica e fase de recuperação.^{38,43,44}

Na fase febril o doente apresenta febre elevada que persiste durante 2-7 dias, acompanhada pelos sintomas descritos posteriormente na Febre do Dengue (FD).⁴³ É de salientar que a maioria dos doentes recupera na totalidade após esta fase, com o restabelecimento dos níveis normais de temperatura corporal.^{43,45} No entanto, se evoluir para uma fase crítica, a febre baixa para níveis subnormais, sendo evidente a perda de plasma para a cavidade abdominal e pleural. Poderá ainda fazer-se acompanhar por sinais que alertem para uma manifestação mais grave, isto é, SCD.^{15, 45} Na fase de recuperação deixa de haver perda de plasma e há a reabsorção dos fluídos perdidos.¹⁵

6. Diagnóstico clínico

O diagnóstico clínico da doença do Dengue depende muito em que fase da infeção se encontra o doente.⁴³ Este diagnóstico é bastante desafiante tendo em conta a panóplia de sinais e sintomas que a doença apresenta, e ainda, a semelhança de quadros clínicos com outras patologias como: gripe, zika, febre amarela, malária, entre outros.⁴³ A OMS apresenta duas classificações de forma a auxiliar o diagnóstico da doença, sendo elas: doença assintomática ou sintomática e Dengue não severo ou Dengue severo.^{15,42}

6.1. Doença assintomática/sintomática

Grande parte das infeções provocadas pelo vírus do dengue são assintomáticas (70-80%).⁴³ Quando avaliamos o espectro clínico de um doente sintomático, este pode apresentar três tipos de manifestações: febre indiferenciada, FD, FHD com possível evolução para SCD.^{42,44}

A fase de febre indiferenciada é observada sobretudo durante a infeção primária, no entanto raramente o Dengue é diagnosticado neste estágio, por esta fase ser comum a muitas patologias virais.⁴⁵

A FD é a manifestação mais comum da doença do Dengue e aparece tanto em infeções primárias como secundárias.^{15,45} Trata-se de uma doença autolimitada (5-7 dias), caracterizada pela presença de febre altas (superior a 40°C) e outros sintomas que variam conforme a idade do doente. Em bebés e crianças o sintoma mais comum associado à febre, é erupção maculopapular, que aparece 3-4 dias após o início da febre. Em adolescentes e adultos cefaleias, dor retro-orbital, mialgias, artralgias, náuseas, vômitos e petéquias podem estar presentes. Poderão ocorrer, em certos casos, complicações hemorrágicas, como por exemplo sangramento gengival, sangramento gastrointestinal, hematórias, epistaxes e

menorragias. Em qualquer faixa etária poderão ocorrer também situações de leucopenias e trombocitopenias.^{42,43}

Uma pequena percentagem de doentes evolui para FHD, sendo esta evolução mais observada durante uma infeção secundária. No entanto na faixa etária mais jovem, esta evolução poderá acontecer durante uma infeção primária em situações de presença de anticorpos maternos.^{7,45} Esta manifestação conjuga os sintomas da FD com trombocitopenia (plaquetas $<100\ 000 /\mu\text{L}$), complicações hemorrágicas e perda de plasma devido ao aumento da permeabilidade capilar.^{42,43} A perda de plasma determina a gravidade da doença e permite diferenciar a FHD da FD.⁴² A FHD encontra-se classificada em quatro graus (I-IV) de acordo com a gravidade e manifestações clínicas apresentadas, onde o grau III e IV são designados de SCD.^{42,46} A SCD é uma situação grave que advém da perda crítica de plasma, podendo levar ao comprometimento de órgãos ou mesmo à morte em 12-24 horas, se não houver uma reposição de fluídos atempada. O doente com SCD apresenta-se com agitação, pulsação fraca e rápida, pressão de pulso < 20 mm de Hg, pele húmida e fria.⁴²

6.2. Dengue não severo/severo

Em 2009 foi proposto na *guideline* para diagnóstico, tratamento, prevenção e controlo do Dengue a classificação por níveis de severidade, com base em parâmetros clínicos e laboratoriais, de forma a simplificar e uniformizar os critérios usados na prática clínica.^{43,44} Segundo esta classificação a doença pode ser dividida em dois grandes grupos: Dengue não severo e Dengue severo. O Dengue não severo é aquele que ocorre em doentes com ou sem sinais de alerta, onde qualquer um destes poderá evoluir para Dengue severo (Anexo II).⁴⁴ O objetivo é conseguir a identificação mais atempada de casos de Dengue que apresentam manifestações mais graves, de modo a iniciar a terapia de suporte rapidamente.¹⁵ Sendo assim, um doente que apresente sinais de alerta, numa fase inicial é alocado para unidades de cuidados intermédios e só se houver confirmação clínico-laboratorial é que será colocado em unidades de cuidados intensivos.²⁹ Esta classificação, apesar de clinicamente mais vantajosa, não é fácil de colocar em prática em países endémicos, sobretudo durante surtos, devido à incompatibilidade com as instalações de saúde.⁴²

7. Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico laboratorial consiste na detecção de biomarcadores por métodos diretos ou métodos indiretos. Os métodos diretos permitem detetar partículas virais e componentes virais, enquanto que os métodos indiretos consistem na detecção de anticorpos específicos.⁴³ Conforme estejamos perante uma infeção primária ou secundária, o aparecimento e duração destes biomarcadores será diferente (Figura 6).⁴³

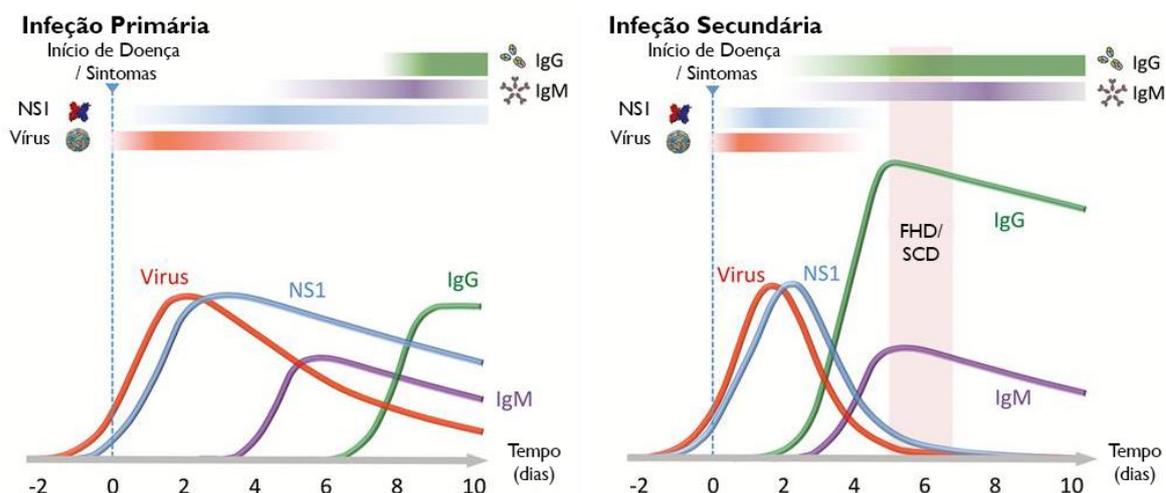


Figura 6 - Evolução dos biomarcadores durante uma infeção primária e secundária do Dengue. (Adaptado de ⁴³)

7.1. Métodos diretos

7.1.1. Isolamento do vírus

Neste método uma amostra de sangue do doente recolhida durante os primeiros seis dias de sintomas, durante a fase aguda, é inoculada em linhas celulares de mosquitos (AP-61 do *Aedes pseudoscutellaris*, TRA-284 do *Toxorhynchites amboinenses* e C6/36 do *Aedes albopictus*), mamíferos (LLC-MK2, VERO, BHK-21) ou diretamente no mosquito. Posteriormente recorre-se a uma técnica de imunofluorescência indireta, utilizando anticorpos monoclonais de todos os serótipos para identificação do vírus.⁴⁷

Atualmente não se trata do método mais utilizado devido há existência de outras técnicas mais rápidas e práticas. Para além disso, numa infeção secundária não será o mais indicado devido à rápida formação de complexos imunológicos (anticorpo-vírus) durante a fase aguda.⁴³

7.1.2. Detecção do genoma viral

A *Polymerase Chain Reaction – Reverse Transcription* (PCR-RT) é um método molecular que permite amplificar sequências específicas do RNA viral.⁴⁸ São utilizados *primers* direcionados para genes conservados dos quatro serótipos, nomeadamente os genes C e prM. Em seguida o produto amplificado (cDNA) é detetado através de uma eletroforese em gel de agarose. Se houver interesse em determinar a carga viral, realiza-se em alternativa uma PCR-RT em tempo real, por ser um método quantitativo.⁴⁷

A identificação do serótipo circulante pode ser efetuada através de uma segunda PCR-RT utilizando *primers* específicos de cada serótipo.^{47,48}

A PCR-RT trata-se de um método rápido, sensível, específico e prático, no entanto necessita de equipamento específico e operadores qualificados para análise dos resultados.⁴³

7.1.3. Detecção do antígeno NSI

A proteína NSI secretada pelas células infetadas apresenta características altamente conservadas em todos os serótipos.^{43,47} Pode ser encontrada no sangue em elevadas quantidades desde o primeiro dia de sintomas, permanecendo durante 9 dias ou mais, numa infeção primária.⁴³

A deteção deste biomarcador é feita através de um método de *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA).⁴⁷ ELISA é um método rápido e que apresenta maior sensibilidade em infeções primárias do que secundárias. Por exemplo, o kit Platelia™ Dengue NSIAg-ELISA (BIORAD®) apresenta uma sensibilidade de 94,0% numa infeção primária e de 54,1% numa infeção secundária. Isto advém do facto de numa infeção secundária a formação de complexos imunológicos ser mais rápida, e por isso o antígeno da NSI já não se encontra livre para formar complexo com o anticorpo do nosso método, levando a um resultado falso-negativo.⁴⁷

7.2. Métodos indiretos

7.2.1. Serologia

No diagnóstico do Dengue através da deteção de anticorpos produzidos contra o vírus (IgM e IgG), os métodos mais utilizados são: inibição da hemaglutinação (IH) e ELISA.^{49,50}

IH trata-se de um teste económico, simples e rápido que utiliza duas amostras de soro recolhidas em fases da infeção diferentes, de modo a verificar um aumento (em pelo menos

quatro vezes entre as duas amostras) dos títulos de anticorpos presentes no soro/produzidos pelo indivíduo, de forma a confirmar a infecção^{49,50}

O método ELISA para a detecção de anticorpos, consiste na detecção da IgM e da IgG através da IgM *antibody capture* (MAC ELISA) e da IgG *antibody capture* (GAC ELISA), respetivamente. O ratio IgM/IgG fornece informações acerca do tipo de infecção, pois se for um ratio superior a 1,2 estamos perante uma infecção primária, enquanto se for um ratio inferior a 1,2 estamos perante uma infecção secundária.⁵⁰

Estas técnicas de diagnóstico não deverão ser utilizadas isoladamente, devido à reatividade cruzada dos anticorpos de outros vírus do mesmo género (vírus da febre amarela, por exemplo).⁵⁰

8. Tratamento

Atualmente não existem tratamentos específicos para a infecção provocada pelo vírus do dengue. O tratamento baseia-se em medidas de suporte com analgésicos, fluidoterapia e repouso, conforme a fase da infecção em que o doente se encontra.^{48,51}

Na fase febril, o doente pode apresentar-se desidratado devido à febre alta e vômitos se for o caso, como tal, é recomendado a administração de líquidos por via oral e paracetamol para tratar a estado febril e aliviar outros sintomas que apresente.^{48,51} Este tratamento poderá ser realizado em regime ambulatorio, desde que seja efetuado diariamente um hemograma. Sempre que se evidenciem situações de diarreias, vômitos, prostração excessiva ou complicações hemorrágicas, deve-se recorrer a um hospital para observação específica.^{44,51}

A presença de um hematócrito superior ao normal e níveis de plaquetas inferiores a 100 000/ μ L indica o risco de o doente entrar na fase crítica dentro de 24 horas. Durante a fase crítica existe necessidade de avaliar regularmente o hematócrito e a contagem de plaquetas, efetuar a monitorização dos parâmetros vitais, manifestações hemorrágicas e avaliar evidências de choque hipovolémico. O tratamento baseia-se na administração criteriosa de líquidos por via intravenosa. O tipo de líquido, a dose ideal e a rapidez da infusão do líquidos são questões que se levantam devido à ausência de estudos comparativos nesta área. Como tal, o tratamento é feito com base nas práticas clínicas utilizadas em centros de cuidados com experiência no tratamento de doentes com Dengue e segundo a *guideline* de tratamento divulgada pela OMS.^{44,51}

Na fase de recuperação a permeabilidade vascular, anteriormente alterada, volta ao normal e por isso é necessário a redução da administração de fluídos, para evitar uma sobrecarga de líquido intravascular. Nesta fase a administração dos fluídos pode ser feita por via oral.⁵¹

9. Prevenção

9.1. Controlo do vetor

A prevenção da doença do Dengue passa sobretudo pelo controlo do vetor, no entanto em regiões endémicas esta abordagem não tem sido suficiente para impedir a transmissão viral.^{52,53} O controlo do vetor pode ser subdividido em três abordagens: controlo químico, controlo biológico e controlo físico.⁵²

9.1.1. Controlo químico

9.1.1.1. Inseticidas

Ao longo de várias décadas os inseticidas têm sido uma das estratégias mais usadas para controlar o vetor.^{52,54} Este método permitiu uma diminuição em cerca de 53% dos casos e mortes por Dengue, no entanto levanta uma série de questões quer a nível da saúde pública quer a nível ambiental.⁵⁴

Muitos dos produtos utilizados apresentam um longo período de degradação apresentando toxicidade residual, capacidade carcinogénica e/ou teratogénica, espermatotoxicidade e ainda capacidade de indução de desequilíbrio hormonal.⁵⁴

O impacto negativo a nível ambiental destes compostos fez com que fossem desenvolvidas novas abordagens mais ecológicas, através de inseticidas com base em derivados de plantas. Estes inseticidas naturais podem ser produzidos através de extratos de diferentes partes da planta (folhas, raízes e caules) de *Cipadessa baccifera*, *Callistemon rigidus*, *Erythrina indica* e *Asparagus racemosus*. Para além disto, estes componentes têm demonstrado ação repelente sobre o *Aedes aegypti*.⁵²

O uso prolongado destas substâncias levou ainda ao aparecimento das primeiras resistências por parte do vetor, inicialmente ao diclorodifeniltricloroetano e posteriormente aos organofosfatos e carbamatos.⁵⁴

9.1.1.2. Reguladores do crescimento de insetos

Os reguladores do crescimento de insetos (RCIs) são substâncias químicas usados sobre a população *Aedes aegypti*, de modo a impedir o desenvolvimento e crescimento do vetor. Como exemplo temos o diflubenzuron, as endotoxinas e o metopreno, obtidos a partir do *Bacillus spaeiricus* e *Bacillus thuringiensis israelensis* que quando utilizados em fases iniciais de desenvolvimento do vetor, induzem alterações que levam à morte, impedindo que se atinja a fase adulta.⁵⁴

9.1.1.3. Feromonas

As feromonas são uma das estratégias utilizadas em diversos controlos de pragas, pois estas atuam segunda uma estratégia de “*Attract-and-Kill*”.⁵² Nagpal et al. demonstrou que a ação conjunta das feromonas com os RCIs permite atrair fêmeas adultas para a deposição de ovos e consequente impedimento do crescimento larval.⁵⁵

9.1.2. Controlo biológico

9.1.2.1. *Wolbachia sp.*

Os métodos biológicos têm sido cada vez mais estudados e como tal, a bactéria *Wolbachia sp.* caracterizada anteriormente constitui um promissor candidato. Esta tem a capacidade de interferir em simultâneo com o vírus a nível da replicação viral, e com o vetor a nível da competência vetorial e reprodução, limitando a transmissão viral.^{52,53}

9.1.2.2. Peixes e crustáceos larvórios

Outra medida com custo-benefício positivo e ecológica consiste na utilização de peixes (*Poecilia reticulata*) e crustáceos (*Mesocyclops formosanus*) com a capacidade de ingestão do vetor no estágio larval.⁵² Um estudo levado a cabo por Seng et al. demonstrou uma redução da população larval de *Aedes aegypti* em cerca de 79% com a utilização do *Poecilia reticulata*, fase ao grupo controlo, tratando-se assim de um método eficiente para controlo do vetor em reservatórios domésticos de grandes dimensões.⁵⁶

9.1.3. Controlo físico

Para além das estratégias apresentadas anteriormente, existem medidas físicas que podem ser adotadas por parte da comunidade de modo a controlar a propagação do vetor. No entanto, o sucesso destas medidas encontra-se dependente do conhecimento, da educação e do comportamento da população.⁵²

Durante o surto de 2012 na Ilha da Madeira, a DGS lançou uma orientação no combate anti-vetorial contra o mosquito *Aedes aegypti*, onde inclui medidas de educação ambiental.

Estas medidas passam sobretudo pela identificação de potenciais criadouros e sua correta eliminação. Como exemplo temos: eliminação de possíveis locais de acumulação de água e seu esvaziamento (latas, pratos de vasos de plantas, etc.); correta drenagem das águas, através da remoção de potenciais barreiras ou através de um relevo adequado; oclusão de contentores de água; inspeção recorrente de potenciais locais de desenvolvimento/crescimento vetorial (jardins, espaços externos às habitações, caleiras, etc.); uso de *Poecilia reticulata* de água fria, de modo a diminuir os estádios larvais do mosquito.⁵⁷

A educação da população passou pela divulgação nas escolas (ensino básico e secundário) e nas vias de comunicação físicas (cartazes, folhetos, etc.), exibindo uma linguagem de fácil compreensão, exata e não alarmista.⁵⁷

9.2. Vacinação

Outra estratégia de prevenção consiste na vacinação. No entanto, a incompreensão de como o vírus interage com o sistema imunitário, o facto de certas respostas imunológicas agravarem o estado patológico e ainda a presença de vários serótipos, vêm constituir obstáculos ao desenvolvimento de uma vacina. Uma vacina ideal contra o vírus do dengue terá que conferir imunidade duradoura contra os quatro serótipos em simultâneo para ser considerada segura e eficaz.⁴⁸

Atualmente existe uma vacina licenciada no mercado, Dengvaxia[®], por parte da Sanofi Pasteur. Trata-se de uma vacina quimérica tetravalente viva atenuada, tendo por base a vacina viva atenuada da febre amarela (YFV-17D). O genoma presente nos vírus atenuados (enfraquecidos) da vacina contém os genes para a proteína prM e E dos quatro serótipos do vírus do dengue, e ainda os genes das proteínas NS e da proteína C da YFV-17D (Figura 7).⁵⁸ Esta vacina demonstrou ter menor virulência neurológico comparativamente à YFV-17D e não desencadeia a produção de anticorpos neutralizantes para o vírus da febre amarela (devido à ausência do gene que codifica a proteína E deste vírus).⁵⁸

Dengvaxia[®] passou por uma fase pré-clínica extensiva com a utilização de modelos animais (murganhos e primatas), onde posteriormente atingiu ensaios clínicos de fase 1, fase 2 e fase 3 multicêntricos.⁵⁸ Nos ensaios de fase 1 e 2 observou-se a produção de anticorpos para os quatro serótipos, mas com a presença de títulos mais elevados em indivíduos que no passado já tinham sido expostos ao vírus.⁵⁹ Posteriormente, foram realizados dois ensaios de fase 3, o ensaio CYD14 que envolveu indivíduos dos 2-14 anos de idade na região Pacífico-

Ásia e o ensaio CYD15 que envolveu indivíduos dos 9-16 anos de idade na região da América Latina. Em ambos foram efetuadas administrações aos 0, 6 e 12 meses seguidos de monitorização até completar 25 meses. Nesta fase observou-se eficácia da vacina na prevenção do Dengue sintomático, de hospitalizações e de Dengue severo na ordem dos 60%, 73% e 79%, respetivamente. Uma análise mais detalhada demonstrou que os indivíduos vacinados com idade inferior aos 9 anos apresentam um risco mais elevado de desenvolvimento de Dengue severo e consequente hospitalização, comparativamente ao grupo controlo.⁵⁹ Verificou-se ainda, um aumento do número de hospitalizações aquando de uma infeção por dengue, em indivíduos que tinham sido vacinados sem antes terem sido infetados, isto é, seronegativos no momento da vacinação, (como constatado pelos títulos de anticorpos na fase 2).^{59,60}

É importante salientar que a vacinação de indivíduos seronegativos leva a que a primeira

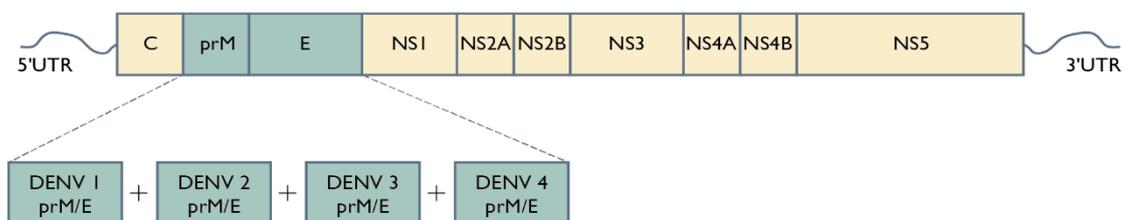


Figura 7 – Genoma da vacina viva atenuada tetravalente contra o vírus do dengue, Dengvaxia[®], produzida a partir da vacina YFV-17D. (Adaptado de ⁵⁸)

infeção natural por dengue tenha uma gravidade superior ao normal, isto é, na mesma ordem de gravidade de uma infeção secundária verificada em pessoas não vacinadas, sugerindo que os anticorpos produzidos pela vacina promovem a infeção do vírus (*Antibody-dependent Enhancement*).^{60,61} Esta vacina deverá ser utilizada somente em países que apresentem uma seroprevalência de pelo menos 70%, segundo recomendações da OMS, o que restringe a sua aplicação somente a países endémicos.^{42,61} A OMS recomenda ainda o *screening* da população antes da vacinação para identificar a presença de anticorpos contra o vírus.⁶² O *screening* tem como objetivo vacinar somente indivíduos seropositivos, garantindo uma relação custo-eficácia favorável e minimizando os efeitos colaterais da vacinação de seronegativos.^{61,62}

A administração da Dengvaxia[®] apresenta benefícios em todos aqueles indivíduos em risco de Dengue severo, isto é, em risco de infeção secundária. Em exposições subsequentes

à infecção secundária é raro o desenvolvimento de Dengue severo, sendo sugerido que a imunidade é amplamente garantida após a infecção secundária.⁶² Assim sendo, não existe vantagem de administração da Dengvaxia[®] em indivíduos que já sofreram uma infecção secundária ou terciária.⁶¹

Atualmente a Dengvaxia[®] encontra-se aprovada no Paraguai, México, Brasil, El Salvador, Costa Rica, Filipinas, Guatemala, Peru, Indonésia, Tailândia e Singapura para administração em indivíduos com idade compreendida entre os 9-45 anos.⁶⁰

Tendo em conta as limitações da Dengvaxia[®], a demanda por uma melhor vacina continua. Como tal, existem duas vacinas tetravalentes vivas atenuadas em ensaios de fase III atualmente: DENVax da Takeda e TetraVax TV003/TV005 desenvolvida pelo *United States National Institute of Health*.⁶¹ DENVax tem na sua base o genoma do DENV-2 atenuado. De modo a constituir uma vacina tetravalente, procedeu-se à substituição dos genes prM e E do DENV-2 pelos respetivos genes dos restantes serótipos.⁵⁸ TetraVax é uma vacina em que o vírus é atenuado através de uma mutação de deleção no genoma do DENV-1, -3, -4 na região 3'UTR. A mutação no genoma do DENV-2 não é suficiente para atenuar este serótipo, sendo assim, utilizou-se como base o genoma do DENV-4 atenuado onde se procedeu à substituição dos genes prM e E pelos respetivos genes do DENV-2.⁵⁸ Ambas as vacinas demonstraram resultados positivos em ensaios de fase II, no entanto ainda não se encontra disponível dados de imunidade a longo prazo.⁶³

10. Conclusão

A reemergência de doenças como o Dengue, tem sido cada vez mais comum e com sérias implicações na saúde pública, tanto em regiões endêmicas como fora destas, através da globalização dos transportes. Uma melhor compreensão deste vírus é exigida, de forma a desenvolver novas abordagens terapêuticas e estratégias preventivas e assim diminuir o número de surtos.

Na minha opinião são necessários avanços científicos sobretudo a quatro níveis:

- Hospedeiro: melhor compreensão da interação do vírus tanto com os recetores celulares como com o sistema imunitário, permitindo desenvolver moléculas antivirais;
- Diagnóstico: novas *guidelines* mais uniformizadas e direcionadas para a realidade das instalações de saúde vividas em grande parte dos países endémicos;
- Transmissão vetorial: investigação das interações ocorridas entre a diversidade de microrganismos presente no microbioma do vetor e o vírus, podendo constituir estratégias para controlo vetorial (por exemplo, *Wolbachia sp.*) como a nível de tratamento terapêutico (por exemplo, moléculas antivirais produzidas por *Chromobacterium sp.*);
- Prevenção: desenvolvimento de uma vacina ideal que não apresente as limitações observadas com a Dengvaxia®.

11. Referências Bibliográficas

- 1- BÄCK, A.T., ÅKE, L. - **Dengue viroses - an overview.** Infection Ecology & Epidemiology. 3 (2013) 1-2.
- 2- WORLD HEALTH ORGANIZATION - **Dengue control: What is dengue?.** [Consultado a 10 Fevereiro de 2019] Disponível na Internet: <https://www.who.int/denguecontrol/disease/en/>
- 3- JUPATANAKUL, N., SIM, S., DIMOPOULOS, G. - **The Insect Microbiome Modulates Vector Competence for Arbovirus.** Viruses. 6 (2014) 4294-4313.
- 4- EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. **Aedes aegypti - current known distribution: January 2019.** [Consultado a 2 de junho de 2019] Disponível na Internet: <https://ecdc.europa.eu/en/publications-data/aedes-aegypti-current-known-distribution-january-2019>
- 5- WORLD HEALTH ORGANIZATION - **Dengue and severe dengue.** [Consultado a 10 Fevereiro de 2019] Disponível na Internet: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>
- 6- WORLD HEALTH ORGANIZATION - **Dengue control: Epidemiology.** [Consultado a 10 Fevereiro de 2019] Disponível na Internet: <https://www.who.int/denguecontrol/epidemiology/en/>
- 7- GUO, C., ZHOU, Z., WEN, Z., LIU, Y., ZENG,C., XIAO, D., OU, M., HAN, Y., HUANG, S., LIU, D., YE. X., ZOU, X., WU, J., WANG, H., ZENG, W.Y., JING, C., YANG, G. - **Global Epidemiology of Dengue Outbreaks in 1990-2015: A Systematic Review and Meta-Analysis.** Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 7 (2017) 1-11.
- 8- BHATT, S., GETHING, P.W., BRADY, O.L., MESSINA, J.P., FARLOW, A.W., MOYES, C.L, DRAKE, J.M., BROWNSTEIN, J.S., HOEN, A.G., SANKOH, O., MYERS, M.F., GEORGE,D.B., JAENISCH, T., WILLIAM,W., SIMMONS, C.P., SCOTT, T.W., FARRAR, J.J., HAY, S.I. - **The global distribution and burden of dengue.** Nature. 496 (2013) 504-507.
- 9- WORLD HEALTH ORGANIZATION - **Dengue control: Dengue data application.** [Consultado a 10 Fevereiro de 2019] Disponível na Internet: https://www.who.int/denguecontrol/epidemiology/dengue_data_application/en/
- 10- BRADY, O.J., GETHING, P.W., BHATT, S., MESSINA, J.P., BROWNSTEIN, J.S., HOEN, A.G., MOYES, C.L, FARLOW, A.W., SCOTT, T.W., HAY, S.I. - **Refining the Global**

- Spatial Limits of Dengue Virus Transmission by Evidence-Based Consensus.** PLoS Neglected Tropical Diseases. 6 (2012) 1-15.
- 11- DIREÇÃO GERAL DE SAÚDE - **Informação mensal sobre dengue na Ilha da Madeira. Situação em 01/09/2013.** [Consultado a 25 Fevereiro de 2019]. Disponível na Internet: <https://www.dgs.pt/saude-publica/febre-de-dengue.aspx>
- 12- DIREÇÃO GERAL DE SAÚDE - **Informação mensal sobre dengue na Ilha da Madeira. Situação em 07/04/2013.** [Consultado a 25 Fevereiro de 2019]. Disponível na Internet: <https://www.dgs.pt/saude-publica/febre-de-dengue.aspx>
- 13- MUKHOPADHYAY, S., KUHN, R.J., ROSSMANN, M.G. - **A structural perspective of the flavivirus life cycle.** Nature Reviews Microbiology. 3 (2005) 13–22.
- 14- ZANOTTO, P.M.A, LEITE, L.C.C. - **The Challenges Imposed by Dengue, Zika, and Chikungunya to Brazil.** Frontiers in Immunology. 9 (2018) 1-6.
- 15- GUZMAN, M.G., GUBLER, D.J., IZQUIERDO, A., MARTINEZ, E., HALSTEAD, S.B. - **Dengue infection.** Nature Reviews Disease Primers. 2 (2016) 1-25.
- 16- ANOOP, M., MATHEW, A.J., JAYAKUMAR, B., ISSAC, A., NAIR, S., ABRAHAM, R., ANUPRIYA, M.G., SREEKUMAR, E. - **Complete genome sequencing and evolutionary analysis of dengue virus serotype I isolates from and outbreak in Kerala, South India.** Virus Genes. 45 (2012) 1-13.
- 17- XIE, X., GAYEN, S., KANG, C., YUAN, Z., SHI, P. - **Membrane Topology and Function of Dengue Virus NS2A Protein.** Journal of Virology. 87 (2013) 4609-4622.
- 18- GUZMAN, M.G., VAZQUEZ, S. - **The Complexity of Antibody-Dependent Enhancement of Dengue Virus Infection.** Viruses. 2 (2010) 2649-2662.
- 19- RODENHUIS-ZYBERT, I.A., WILSCHUT, J., SMIT, J.M. - **Dengue virus life cycle: viral and host factors modulating infectivity.** Cellular and Molecular Life Sciences. 67 (2010) 2773-2786.
- 20- AVIRUTNAN, P., FUCHS, A., HAUHART, R.E., SOMNUKE, P., YOUN, S., DIAMOND, M.S., ATKINSON, J.P. - **Antagonism of the complement component C4 by flavivirus nonstructural protein NS1.** Journal of Experimental Medicine. 4 (2010) 793-806.
- 21- MUÑOZ-JORDÁN, J.L., SÁNCHEZ-BURGOS, G.G., LAURENT-ROLLE, M., GARCIA-SASTRE, A. – **Inhibition of interferon signaling by dengue virus.** Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 100 (2003) 14333-14338.

- 22- SAHILI, A.E., LESCAR, J. - **Dengue Virus Non-Structural Protein 5**. *Viruses*. 9 (2017) 1-10.
- 23- ASHOUR, J., LAURENT-ROLLE, M., SHI, P., GARCÍA-SASTRE, A. - **NS5 of Dengue Virus Mediates STAT2 Binding and Degradation**. *Journal of Virology*. 83 (2009) 5408-5418.
- 24- GEBHARD, L.G., FILOMATORI, C.V., GAMARNIK, A.V. - **Functional RNA elements in the dengue virus genome**. *Viruses*. 3 (2011) 1739-756.
- 25- YU, I.M., ZHANG, W., HOLDAWAY, H. A., LI, L., KOSTYUCHENKO, V. A., CHIPMAN, P. R., KUHN, R.J., ROSSMANN, M.G., CHEN, J. - **Structure of the Immature Dengue Virus at Low pH Primes Proteolytic Maturation**. *Science*. 319 (2008) 1834-1837.
- 26- YAP, S.S.L., NGUYEN-KHUONG, T., RUDD, P.M., ALONSO, S. – **Dengue Virus Glycosylation: What Do We Know?** - *Frontiers in Microbiology*. 8 (2017) 1-16.
- 27- IDRIS, F., MUHARRAM, S.H., DIAH, S. - **Glycosylation of dengue virus and their interactions with carbohydrate receptors: possible targets for antiviral therapy**. *Archives of virology*. 7 (2016) 1751-1760.
- 28- MUSTAFA, L.C.M.S., RASOTGI, C.V., JAIN, C.S., GUPTA, L.C.V. - **Discovery of fifth serotype of dengue virus (DENV-5): A new public health dilemma in dengue control**. *Medical Journal Armed Forces India*. 71 (2015) 67-70.
- 29- SILVANO, J., ABREU, C., - **Dengue nos Países da Lusofonia: Que Ligações Epidemiológicas Poderemos Traçar?**. *Revista Científica da Ordem dos Médicos*. 27 (2014) 503-510.
- 30- RICO-HESSÉ, R. - **Dengue vírus virulence and transmission determinants**. *Current topics in microbiology and immunology*. 338, (2010), 45-55.
- 31- REINHOLD, J.M., LAZZARI, C.R., LAHONDÈRE, C. - **Effects of the Environmental Temperature on *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* Mosquitoes: A Review**. *Insects*. 9 (2018) 1-17.
- 32- VALDERRAMA, A., DÍAZ, Y., LÓPEZ-VERGÈS, S. - **Interaction of Flavivirus with their mosquito vectors and their impact on the human health in Americas**. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 492 (2017) 541-547.
- 33- SEVERSON, D.W., BEHURA, S.K. - **Genome Investigations of Vector Competence in *Aedes aegypti* to Inform Novel Arbovirus Disease Control Approaches**. *Insects*. 7 (2016) 1-15.
- 34- BRADY, O.J., GOLDING, N., PIGOTT, D.M., KRAEMER, M.U.G., MESSINA, J.P., JR, R.C.R., SCOTT, T.W., SMITH, D.L., GETHING, P.W., HAY, S.I. - **Global temperature**

- constraints on *Aedes aegypti* and *Ae. Albopictus* persistence and competence for dengue virus transmission. *Parasites & Vectors*. 7 (2014) 1-17.
- 35-SOUZA-NETO, J.A., POWELL, J.R., BONIZZONI, M. - *Aedes aegypti* vector competence studies: A review. *Infection, Genetics and Evolution*. 67 (2019) 191-209.
- 36-TSAI, C., CHEN, T., LIN, C., SHU, P., SU, C., TENG, H. - The impact of the temperature and *Wolbachia* infection on vector competence of potential dengue vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in the transmission of dengue virus serotype I in Southern Taiwan. *Parasites & Vectors*. 10 (2017) 1-11.
- 37-NASCI, R.S. - The size of emerging and host-seeking *Aedes aegypti* and the relationship of size to blood-feeding success in the field. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 2 (1986) 61-62.
- 38-ROSSO, F., PINEDA, J.C., SANZ, A.M., CEDANO, J.A., CAICEDO, L.A. - Transmission of dengue virus from deceased donors to solid organ transplant recipients: case report and literature review. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2 (2018) 63-69.
- 39-WAGNER, D., WITH, K., HUZLY, D., HUFERT, F., WEIDMANN, M., BREISINGER, S., EPPINGER, S., KERN, W.V., BAUER, T.M. - Nosocomial Acquisition of Dengue. *Emerging Infectious Diseases*. 10 (2004) 1872-1873.
- 40-WIWANITKIT, V. - Non vector-borne transmission modes of dengue. *Journal of Infection in Developing Countries*. 4 (2010) 51-54.
- 41-YIN, X., ZHONG,X., PAN,S. - Vertical transmission of dengue infection: the first putative case reported in China. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 58 (2016) 1-4.
- 42-KHETARPAL, N., KHANNA, I. - Dengue Fever: Causes, Complications, and Vaccine Strategies. *Journal of Immunology Research*. 2016 (2016) 1-14.
- 43-MULLER, D.A., DEPELSENAIRE, A.C.I., YOUNG, P.R. - Clinical and Laboratory Diagnosis of Virus Infection. *The Journal of Infectious Diseases*. 2 (2017) 89-95.
- 44-WORLD HEALTH ORGANIZATION - Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. [Consultado a 23 de Abril de 2019]. Disponível na Internet: <https://www.who.int/rpc/guidelines/9789241547871/en/>
- 45-HASAN, S., JAMDAR, S.F., ALALOWI, M., BEAJI, S. - Dengue virus: A global human threat: Review of literature. *Journal of International Society of Preventive and Community Dentistry*. 6 (2016) 1-6.

- 46- GUO, C., ZHOU, Z., WEN, Z., LIU, Y., ZENG, C., XIAO, D., OU, M., HAN, Y., HUANG, S., LIU, D., YE, X., ZOU, X., WU, J., WANG, H., ZENG, E.Y., JING, C., YANG, G. - **Global Epidemiology of Dengue Outbreaks in 1990-2015: A Systematic Review and Meta-Analysis.** *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology.* 7, (2017), 1-11.
- 47- CORDEIRO, M.T. - **Laboratory diagnosis for dengue.** *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo.* 54 (2012) 10-12.
- 48- POOJA, C., AMRITA, Y., VINEY, C. - **Clinical implications and treatment of dengue.** *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.* 14 (2014) 169-178.
- 49- DUTRA, N.R., PAULA, M.B., OLIVEIRA, M.D., OLIVEIRA, L.L., PAULA, S.O. - **The Laboratorial Diagnosis of Dengue: Applications and Implications.** *Journal of Global Infectious Diseases.* 1, (2009), 38-44.
- 50- SUBEDI, D., TAYLOR-ROBINSON, A.W. - **Laboratory Diagnosis of Dengue Infection: Current Techniques and Future Strategies.** *Open Journal of Clinical Diagnostics.* 4 (2014) 63-70.
- 51- RAJAPAKSE, S., RODRIGO, C., RAJAPAKSE, A. - **Treatment of dengue fever.** *Infection and Drug Resistance.* 5 (2012) 103-112.
- 52- RATHER, I.A., PARRAY, H.A., LONE, J.B., PAEK, W.K., LIM, J., BAJPAI, V.K., PARK, Y. - **Prevention and Control Strategies to Counter Dengue Virus Infection.** *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology.* 7 (2017) 1-8.
- 53- HERMANN, L.L., GUPTA, S.B., MANOFF, S.B., KALAYANAROOJ, S., GIBBONS, R.V., COLLIER, B.G. - **Advances in the understanding, management, and prevention of dengue.** *Journal of Clinical Virology.* 64 (2015) 153-159.
- 54- ABBAS, A., ABBAS, R.Z., KHAN, J.A., IQBAL, Z., BHATTI, M.M.H., SINDHU, Z., ZIA, M.A. - **Integrated Strategies for the Control and Prevention of Dengue Vectors with Particular Reference to *Aedes aegypti*.** *Pakistan Veterinary Journal.* 34(2014) 1-10.
- 55- NAGPAL, B.N., GHOSH, S.K., EAPEN, A., SRIVASTAVA, A., SHARMA, M.C., SINGH, V.P., PARASHAR, B.D., PRAKASH, S., MENDKI, M.J., TIKAR, S.N., SAXENA, R.I., GUPTA, S., TIWARI, S.N., OJHA, V.P., RAVINDRAN, K.J., GANESAN, K., RAO, A.N., SHARMA, R.S., TULI, N.R., YADAV, N.K., VIJAYARAGHAVAN, R., DUA, V.K., DASH, A.P., KAUSHIK, M.P., JOSHI, P.L., VALECHA, N. - **Control of *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*, the vectors of dengue and chikungunya, by using pheromone C21**

- with an insect growth regulator: Results of multicentric trials from 2007-12 in India.** Journal of vector borne diseases. 52 (2015) 224-231.
- 56- SENG, C.M., SETHA, T., NEALON, J., SOCHEAT, D., CHANTHA, N., NATHAN, M.B. - **Community-based use of the larvivorous fish *Poecilia reticulata* to control the dengue vector *Aedes aegypti* in domestic water storage containers in rural Cambodia.** Journal of Vector Ecology. 33 (2008) 139-144.
- 57- DIREÇÃO GERAL DE SAÚDE - **Luta anti vetorial contra *Aedes aegypti*.** [Consultado a 26 de maio de 2019]. Disponível na Internet: <https://www.dgs.pt/saude-publica1/febre-de-dengue.aspx>
- 58- TORRESI, J., EBERT, G., PELLEGRINI, M. - **Vaccines licensed and in clinical trials for the prevention of dengue.** Human Vaccines & Immunotherapeutics. 13 (2017) 1059-1072.
- 59- ROBINSON, M.L., DURBIN, A.P. - **Dengue vaccines: implications for dengue control.** Current Opinion in Infectious Diseases. 30 (2017) 449-454.
- 60- AGUIAR, M., STOLLENWERK, N., HALSTEAD, S.B. - **The Impact of the Newly Licensed Dengue Vaccine in Endemic Countries.** PLOS Neglected Tropical Diseases. 10 (2016) 1-23.
- 61- DEEN, J. - **The Dengue Vaccine Dilemma: Balancing the Individual and Population Risks and Benefits.** PLOS Medicine. 13 (2016) 1-4.
- 62- CLAPHAM, H.E., WILLS, B.A. - **Implementing a dengue vaccination programme - who, where and how?.** Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 112 (2018) 367-368.
- 63- KUDLACEK, S.T., METZ, S.W. - **Focused dengue vaccine development: outwitting nature's design.** Pathogens and Disease. 77 (2019) 1-9.

Anexos

Anexo I - Características e principais funções das proteínas não estruturais do vírus do dengue. (Adaptado de ¹⁵)

Proteína	Características	Funções
NSI	Apresenta-se segundo 3 formas diferentes	Envolvida na replicação viral inicial sNSI ativa o sistema imune inato
NS2A	Proteína hidrofóbica	Envolvida na replicação viral
NS2B	Proteína hidrofóbica	Co-fator da NS3
NS3	Proteína com múltiplas funções e vários domínios catalíticos	Envolvido na síntese de RNA, com funções de helicase, NTPase, RTP e serina protease
NS4A	Proteína hidrofóbica	Formação das vesículas de replicação
NS4B	Proteína hidrofóbica	Suprime os sinais IFN β e IFN γ
NS5	Trata-se da maior proteína do vírus do dengue e mais conservada	Envolvida na síntese de RNA e no bloqueio do sistema IFN

Anexo II - Critérios de classificação do Dengue não severo e Dengue severo. (Adaptado de ^{15,44})

