

## **A importância do diagnóstico laboratorial na identificação da febre chikungunya associada com doenças reumatológicas**

**The importance of laboratory diagnosis in the identification of chikungunya fever associated with rheumatological diseases**

**La importancia del diagnóstico de laboratorio en la identificación de la fiebre chikungunya asociada con enfermedades reumatológicas**

Recebido: 02/06/2022 | Revisado: 11/06/2022 | Aceito: 12/06/2022 | Publicado: 25/06/2022

**Ana Vitória Bezerra Silva**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3582-5101>

Centro Universitário Unifavip Wyden, Brasil

E-mail: [anavitoriabezerra60@gmail.com](mailto:anavitoriabezerra60@gmail.com)

**Moises Thiago de Souza Freitas**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5299-6610>

Centro Universitário Unifavip Wyden, Brasil

E-mail: [moises.freitas@professores.unifavip.edu.br](mailto:moises.freitas@professores.unifavip.edu.br)

### **Resumo**

A febre chikungunya é uma doença viral ocasionada pelo vírus CHIK, essa patologia propaga-se por intermédio de do vetor pertencente ao gênero *Aedes* spp. Esse vírus pertence ao grupo das arboviroses, comumente encontradas em lugares de climas tropicais, foi isolado na Tanzânia no ano de 1952. Contudo apresenta sintomas semelhantes a outros arbovírus ocasionando confusão dificultando sua identificação, os sintomas observados com frequência em paciente com essa viremia são cefaleia, artralgia, mialgia, tenossinovite, em alguns casos evolui para forma crônica da doença provocando danos persistentes nas articulações. O objetivo desse trabalho foi compreender o funcionamento do diagnóstico laboratorial da febre chikungunya associados a danos reumatológicos. Este estudo trata-se de uma revisão de literatura desenvolvida utilizando pesquisas publicadas em bases de dados diversos, na SciELO e no MEDLINE, utilizando os descritores chikungunya, CHIK, arbovírus, diagnóstico laboratorial, febre chikungunya. Neste estudo pudemos mostrar a importância do diagnóstico laboratorial na identificação da chikungunya e sua associação com as doenças reumatológicas. Por fim, concluímos que o diagnóstico laboratorial contribui na identificação da doença de forma precoce e eficaz e proporciona no tratamento eficiente, e por meio deste auxilia na conscientização da população das precauções a serem tomadas para evitar a infecção.

**Palavras-chave:** Chikungunya; Reumatológico; Arbovírus; Diagnóstico laboratorial.

### **Abstract**

Chikungunya fever is a viral disease caused by the CHIK virus, this pathology spreads through the vector belonging to the genus *Aedes* spp. This virus belongs to the group of arboviruses, commonly found in places in tropical climates, it was isolated in Tanzania in 1952. However, it has symptoms similar to other arboviruses causing confusion, making it difficult to identify, the symptoms frequently observed in patients with this viremia are headache, arthralgia, myalgia, tenosynovitis, in some cases it evolves to a chronic form of the disease causing persistent damage to the joints. The objective of this work was to understand the functioning of the laboratory diagnosis of chikungunya fever associated with rheumatological damage. This study is a literature review developed using research published in several databases, SciELO and MEDLINE, using the descriptors chikungunya, CHIK, arbovirus, laboratory diagnosis, chikungunya fever. In this study, we were able to show the importance of laboratory diagnosis in the identification of chikungunya and its association with rheumatologic diseases. Finally, we conclude that the laboratory diagnosis contributes to the identification of the disease in an early and effective way and provides an efficient treatment, and through this it helps in the awareness of the population of the precautions to be taken to avoid infection.

**Keywords:** Chikungunya; Rheumatological; Arbovirus; Laboratory diagnosis.

### **Resumen**

La fiebre chikungunya es una enfermedad viral causada por el virus CHIK, esta patología se propaga a través del vector perteneciente al género *Aedes* spp. Este virus pertenece al grupo de los arbovirus, comúnmente encontrados en lugares de climas tropicales, fue aislado en Tanzania en 1952. Sin embargo, presenta síntomas similares a otros arbovirus causando confusión, dificultando su identificación, los síntomas frecuentemente observados en pacientes con esta viremia son cefalea, artralgia, mialgia, tenosinovitis, en algunos casos evoluciona a una forma crónica de la

enfermedad provocando daño persistente en las articulaciones. El objetivo de este trabajo fue comprender el funcionamiento del diagnóstico de laboratorio de la fiebre chikungunya asociada a daño reumatológico. Este estudio es una revisión de la literatura desarrollada a partir de investigaciones publicadas en varias bases de datos, SciELO y MEDLINE, utilizando los descriptores chikungunya, CHIK, arbovirus, diagnóstico de laboratorio, fiebre chikungunya. En este estudio pudimos mostrar la importancia del diagnóstico de laboratorio en la identificación del chikungunya y su asociación con enfermedades reumatológicas. Finalmente, concluimos que el diagnóstico de laboratorio contribuye a la identificación de la enfermedad de manera temprana y eficaz y brinda un tratamiento eficiente, y a través de esto ayuda en la concientización de la población de las precauciones a tomar para evitar la infección.

**Palabras clave:** Chikungunya; Reumatológico; Arbovirus; Diagnóstico de laboratorio.

## 1. Introdução

A chikungunya é uma arbovirose, essa denominação é utilizada para um grupo de vírus que são transmitidos através de artrópodes, essa virose é conhecida por causar quadros febris e dores articulares (Hilgenfeld, 2018). Contudo, CHIKV é classificado taxonomicamente em gênero *Alphavirus*, e pertencente à família *Togaviridae* (Markoof, 2015; Kuhn & Charrel, 2018).

O vírus foi isolado a primeira vez na Tanzânia no ano de 1952. A denominação chikungunya, advém da palavra em Makodone língua nativa de povos que vivem no sudeste da Tanzânia e no norte de Moçambique. A palavra tem o significado: “aqueles que se dobram”, fazendo uma alusão aos sinais e sintomas da doença onde as pessoas acometidas sofrem com dores articulares (Rampal & Meena, 2007).

Desde o isolamento viral por volta do ano de 1952, essa doença é considerada um problema de saúde pública, pela possibilidade de vasta dispersão do vetor (Powers & Logue, 2007). Após os surtos que foram causados em diversos países do mundo, o vírus CHIKV é detectado nas Américas em 2013 causando uma epidemia nas ilhas caribenhas. Posteriormente no segundo semestre de 2014 foi confirmado a transmissão autóctone no Brasil (Faria, 2017).

Os principais vetores para a transmissão do vírus CHIKV, são os insetos da espécie *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. Estes podem ser diferenciados pela preferência de locais, onde o *A. aegypti* é encontrado em lugares de clima tropical, em contrapartida, o *A. albopictus* consegue ter uma maior resistência climática podendo ser encontrados em lugares com o clima mais frio, acarretando em disseminação do vírus para áreas não endêmicas (Morens & Fauci, 2016).

Os sinais e sintomas da febre chikungunya surgem em até três dias após a picada do mosquito infectado (Markoof, 2015). O paciente infectado apresenta febre intensa, mialgia, artralgia, cefaleia, vômitos, indisposição e exantemas. Em alguns casos esses sintomas permanecem por vários meses podendo levar a cronicidade da doença causando possíveis danos articulares (Hu et al., 2015).

A infecção do vírus CHIKV pode ocorrer de forma simultânea ou cruzada com o vírus da dengue, e por apresentarem sinais e sintomas semelhantes dificulta seu diagnóstico clínico (Hu et al., 2015). Por essas semelhanças o diagnóstico clínico não se faz tão eficaz, levando a necessidade de um diagnóstico preciso através de exames laboratoriais específicos. No intuito de identificar o patógeno, e possíveis danos que venham a causar cronicidade da doença (Paty et al., 2014).

Os exames utilizados para diagnóstico laboratorial da febre chikungunya, se faz mediante testes moleculares, cujo objetivo é buscar fragmentos do genoma através da metodologia de qRT-PCR e RT-PCR. Todavia, é comumente investigado também pela presença de anticorpos, o qual a sua produção é induzida pela infecção, resultando na presença de imunoglobulinas M e G onde respectivamente uma indica a infecção aguda, quando avaliado através da técnica de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) e por testes imunocromatográficos (Santos et al., 2004; Faria et al., 2017).

Uma das dificuldades relatadas em alguns locais está relacionada à falta de estrutura e pessoas capacitadas no diagnóstico laboratorial para identificação da chikungunya (Randrianasolo et al., 2010). Sendo assim, este estudo irá buscar

através da realização de uma revisão de literatura evidenciar como funciona o diagnóstico laboratorial para febre chikungunya associados a danos articulares.

## 2. Metodologia

Este trabalho trata-se de uma revisão de literatura aconteceu por meio de coleta de dados realizada, a partir de fontes secundárias, através de levantamento bibliográfico. Essa revisão é fundamentada em dados que tem por objetivo apresentar e pleitear suporte para designar esta revisão (Rother, 2007). O levantamento bibliográfico foi realizado em bases de dados diversos, no SciELO e também na Medline. Para realizar o levantamento de toda revisão de literatura foi empregado os Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) e suas combinações nas línguas portuguesa, espanhola e inglesa: chikungunya, Reumatológico, Arbovírus, Diagnóstico laboratorial e febre chikungunya. Na Tabela 1 pode ser verificada a seção temática, autores/ano de publicação, título e a revista dos estudos selecionados para compor este manuscrito.

**Tabela 1.** Síntese geral dos artigos selecionados para composição desta revisão.

SEÇÃO TEMÁTICA	AUTORES / ANO	TÍTULO	REVISTA
<b>ETIOLOGIA E EPIDEMIOLOGIA DA FEBRE CHIKUNGUNYA</b>	Figueiredo; Figueiredo, 2014	Emerging alphaviruses in the Americas: Chikungunya and Mayaro	Revista da Sociedade Brasileira
	Estrela et al., 2017	Estrutura e patogênese das principais arboviroses humanas no Brasil	Repositório UNICEUB
	Dias, 2021	Estudo epidemiológico e molecular do vírus chikungunya no Rio Grande do Norte nos anos 2019 e 2020.	Repositório UFRN
	Souza, 2016	Vigilância do vírus chikungunya na atual tríplice epidemia de arbovírus no Brasil: investigação de casos suspeitos e genotipagem dos vírus circulantes	Arca Fiocruz
	Will, 2020	Chikungunya: doença emergente no Brasil	Revista de Saúde Dinâmica
	Vieira et al., 2018	Características epidemiológicas, clínicas e abordagem terapêutica de pacientes com febre chikungunya atendidos no IMIP: dados de uma coorte	IMIP
	Flórez-Álvarez; Cardona-Arias., 2017	Metanálisis sobre la utilidad de ELISA, PCR e inmunocromatografía en el diagnóstico de chikungunya	Revista Panamericana de Salud Pública
	Medeiros et al., 2022	Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas causados por vírus transmitidos pelo mosquito <i>Aedes</i> (dengue, chikungunya e zika), semanas epidemiológicas 1 a 7, 2022	<a href="http://plataforma.saude.gov.br/">http://plataforma.saude.gov.br/</a>
<b>FISIOPATOLOGIA</b>	Paiva, 2018	Avaliação das respostas de células t reguladoras (treg) em fases aguda e crônica da chikungunya em humanos	CDEBEM BIOTECNOLOGIA
	Will et al., 2020	Chikungunya: doença emergente no Brasil	Revista Brasileira de Epidemiologia
	Castro et al., 2016	Chikungunya: vision of the pain clinician	Revista Dor

	Santos, 2019	Resposta imune inata ao vírus chikungunya: subpopulações de monócitos e fatores antivirais	Arca Fiocruz
	Burt et al., 2017	Chikungunya virus: an update on the biology and pathogenesis of this emerging pathogen	The Journal of clinical investigation
	Kohler et al., 2018	Perfil epidemiológico dos pacientes com evolução subaguda e crônica da chikungunya em humanos	The Journal of Infectious Diseases
	Silva; Dermody 2017	Chikungunya virus: epidemiology, replication, disease mechanisms, and prospective intervention strategies	The Journal of clinical investigation
	Debbo, 2019	Manifestações musculoesqueléticas persistentes pós-febre chikungunya: uma série de casos em um estado do Nordeste brasileiro	Repositório Institucional USF
	Bello, D. E. V. 2021	Análise do processo de adesão e o acompanhamento dos participantes nas pesquisas clínicas sobre chikungunya: revisão de escopo	Arca Fiocruz
	Will et al.,2020	Chikungunya: doença emergente no Brasil	Revista Brasileira de Epidemiologia
<b>SINTOMATOLOGIA</b>	Burt et al., 2017	Chikungunya virus: an update on the biology and pathogenesis of this emerging pathogen	Emerging Infectious Diseases
	Faria et al., 2017	Chikungunya: Manejo Clínico	Revista Brasileira de Epidemiologia
	Silva; Dermody 2017	Chikungunya virus: epidemiology, replication, disease mechanisms, and prospective intervention strategies	The Journal of Clinical Investigation
	Licínio et al.,2021	The use of real time PCR for arboviruses diagnostics: integrative review	Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial
	Burt et al., 2017	Chikungunya virus: an update on the biology and pathogenesis of this emerging pathogen	Revista Brasileira de Epidemiologia
	Will et al., 2020	Chikungunya: Doença emergente no Brasil	Arca Fiocruz
<b>CHIKUNGUNYA X DENGUE</b>	Kohler et al .,2018	Perfil epidemiológico dos pacientes com evolução subaguda e crônica de infecção por Chikungunya	The Journal of Infectious Diseases
	Souza, 2016	Vigilância do vírus chikungunya na atual tríplice epidemia de arbovírus no Brasil: investigação de casos suspeitos e genotipagem dos vírus circulantes	Sociedade Brasileira De Clínica Médica
	Yactayo et al., 2016	Epidemiology of chikungunya in the Americas	Emerging Infectious Diseases
<b>DIAGNOSTICO</b>	Oliveira, 2018	Revisão integrativa sobre os testes diagnósticos da febre de chikungunya	Arca Fiocruz

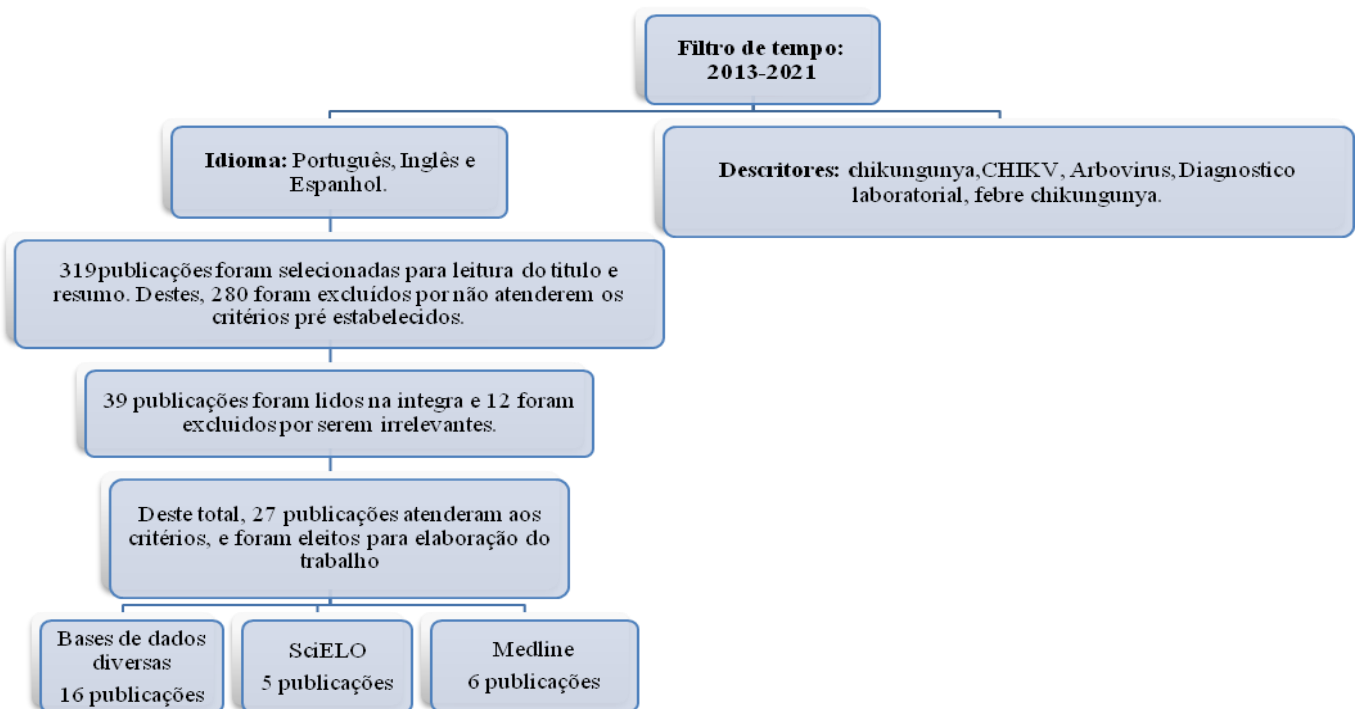
<b>DIFERENCIAL</b>			
	Souza, 2016	Vigilância do vírus chikungunya na atual tríplice epidemia de arbovírus no Brasil: investigação de casos suspeitos e genotipagem dos vírus circulantes	Arca Fiocruz
	Silva, 2019	Desenvolvimento de RT-PCR em tempo real para diagnóstico diferencial de chikungunya, dengue e Zika	TESES USP
	Licinio e Ayres, 2021	The use of real time PCR for arboviruses diagnostics: integrative review	Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial
	Donalisio e Freitas, 2015	Chikungunya no Brasil: um desafio emergente	Revista Brasileira de Epidemiologia
	Araujo, 2018	<i>Aedes aegypti</i> , uma realidade global com urgências laboratoriais preconizadas para diagnósticos da dengue, zika e chikungunya	Repositório Institucional da Fiocruz
	Mahendradas et al., 2013	Chikungunya and the eye: a review	Journal of Ophthalmic Inflammation and Infection
	Gasque et al., 2016	Chikungunya Pathogenesis: From Clinics to Bench	The Journal of Infectious Diseases
	Debbo, 2019	As manifestações musculoesqueléticas persistentes pós-febre chikungunya: uma série de casos em um estado do Nordeste brasileiro	Repositório Institucional da Universidade Federal de Sergipe - RI/UFS
<b>DOENÇAS REUMATOLÓGICAS ASSOCIADAS A FEBRE CHIKUNGUNYA</b>	Marques et al., 2017	Recomendações da Sociedade Brasileira de Reumatologia para diagnóstico e tratamento da febre chikungunya. Parte 1 – Diagnóstico e situações especiais	Revista Brasileira de Reumatologia
	Nasci, 2014	Movement of chikungunya virus into the western hemisphere	Emerging Infectious Diseases
	Gomes e Amorim, 2021	Características epidemiológicas, clínicas e abordagem, assistência fisioterapêutica nas queixas osteoarticulares apresentadas em pacientes portadores de chikungunya em Nanuque - MG.	RECIMA21
	Vieira et al., 2018	Características epidemiológicas, clínicas e abordagem terapêutica de pacientes com febre chikungunya atendidos no IMIP: Dados de uma coorte	IMIP

Fonte: Autoria própria

Os artigos selecionados para compor esta pesquisa estão datados entre os períodos de 2013 a 2021. Os critérios de inclusão utilizados para este trabalho foram: artigos na íntegra que retratassem a temática referente à revisão narrativa e artigos publicados e indexados nos referidos bancos de dados, nos idiomas inglês, espanhol e português. Artigos indisponíveis, e também aqueles que fugiram da temática abordada neste estudo ou não apresentavam uma maneira de acessá-los foram descartados.

Neste manuscrito foi realizada uma avaliação detalhada para designação dos dados selecionados. Primeiramente, chegou-se a um total de 319 publicações. Posteriormente, após leitura do título e resumo, excluíram-se 280 publicações por não atenderem aos critérios de elegibilidade. Em seguida, 39 publicações foram analisadas na íntegra, e destas 12 foram excluídas por serem irrelevantes para temática abordada nesse artigo. Em conclusão, totalizou-se 27 estudos que atenderam os critérios de seleção para compor este artigo (Figura 1).

**Figura 1.** Fluxograma com os critérios de elegibilidade



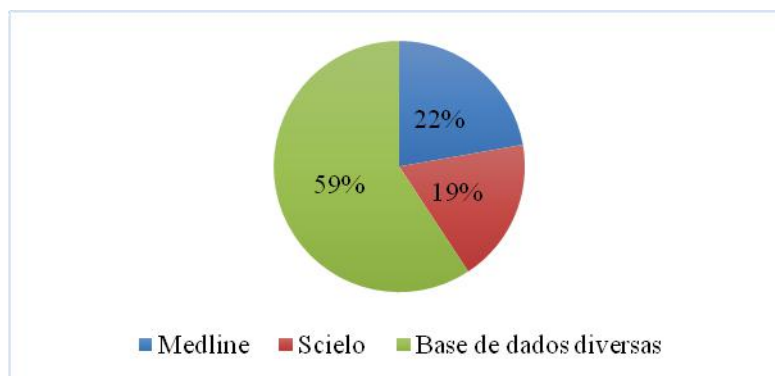
Fonte: Autoria própria.

### 3. Resultados e Discussão

Integrando a idealização deste trabalho foram utilizadas 27 publicações, o maior número sendo de fontes de base de dados diversas 59% (n=16), seguido pelo SciELO 19% (n=5), Medline 22% (n=6) (Figura 2), quanto aos idiomas abordados nos estudos, encontraram-se 67% em português (n= 18), 29% (n=08) de estudos em inglês e 4% em espanhol (n=01).

Para designação da elaboração os estudos foram publicados entre os anos de 2013 e 2021, subdividido em uma frequência que demonstra uma predominância de estudos publicados entre os anos de 2014 a 2021 que compõem o corpus de análise deste artigo.

**Figura 2.** Descrição das principais bases de dados selecionadas para estruturação desta revisão.



Fonte: Autoria própria

### Etiologia e Epidemiologia da Febre Chikungunya

O vírus do causador da febre chikungunya possui um genoma composto por RNA positivo com cerca de 12 kb que conseguem codificar proteínas não estruturais e estruturais que são expressas no seu RNA subgenômico sintetizado nas células infectadas pelo mesmo (Paul; Bartenschlager, 2013). O genoma é acondicionado em vírions que são iguais ao do Flavivírus e adentram as células do hospedeiro por meio da endocitose. O vírus CHIKV pertence ao gênero *Alphavirus* e a família *Togaviridae* (Ozden et al., 2007).

A palavra chikungunya advém do idioma Makonde língua falada por um povoado que mora no sudeste da Tanzânia e no norte de Moçambique. Essa palavra significa aqueles que se dobram, fazendo alusão a fortes dores na articulação ocasionada pela doença acometendo a postura do paciente (Pialoux et al., 2007).

No Ano de 1952-1953 o vírus CHIKV foi isolado no Continente Africano, especificamente na Tanzânia, após essa descoberta os surtos da doença aconteciam de forma esporádica em países da África e Ásia (Ross, 1956). Os vetores responsáveis pela transmissão do agente etiológico são das espécies *A. aegypti* comumente encontrado em locais de clima tropical. Já a espécie *A. albopictus* tornou-se um vetor após o surgimento de mutações nos genes E1 e E2 na proteína do envelope viral, acometendo lugares de clima temperados (Faria, 2017).

Após vários surtos epidêmicos da febre chikungunya na Ásia, Europa, Américas, Ilhas do pacífico em decorrência da mutação viral, foi isolado quatro linhagens do vírus CHIKV, classificadas como Asiático, Africano Ocidental, Oriental/Sul Africano (ECSA) e por fim, a linhagem do oceano Índico (IOL) (Wahid et al., 2017). Contudo, no ano de 2014 foram registrados os primeiros casos da febre chikungunya autóctones no Brasil, nos estados do Amapá e Bahia, e hoje está presente em todos os Estados (Faria, 2017).

Desde o início dos casos autóctones no país, os casos de chikungunya vêm se mostrando reemergente preocupando as autoridades da saúde podendo ocasionar uma nova epidemia devido às condições climáticas favoráveis para o desenvolvimento do *A. aegypti* o principal transmissor da febre chikungunya no Brasil (Silva et al., 2008). No ano de 2021 foi observado um aumento de 31,3% totalizando em 93.403 mil casos da doença, comparado com o ano de 2020 teve uma elevação na taxa de incidência que ficou cerca de 44 casos por 100 mil habitantes pacientes que evoluíram para caso grave da doença levando a 13 óbitos constatados através de exames laboratoriais (Brasil, 2021).

De acordo com o boletim epidemiológico emitido pelo Ministério da saúde no ano de 2021, a região Nordeste contém o maior índice de novos casos febre chikungunya possuindo uma incidência de casos de 111,7 por 100 mil habitantes, seguida do Sudeste com 29,1 casos por 100 mil habitantes e por fim o Centro-oeste com 6,9 casos por 100 mil habitantes (Brasil, 2021).

## **Fisiopatologia**

O CHIKV representa o grupo das arboviroses de caráter artrítogênico, transmitido através de um artrópode do gênero *Aedes* spp. (Schilte et al., 2010; Bennett et al., 2019). A inoculação do vírus ocorre após a picada da fêmea deste grupo que ocorre para seu repasto sanguíneo (Ghildiyal; Gabrani, 2020). Após a sua inserção nos capilares sanguíneos o vírus infiltra as células como macrófagos e fibroblastos, por intermédio delas o vírus alcança órgãos-alvo utilizando como meio de transporte as vias sanguíneas ou linfáticas (Kelvin et al., 2011; Hoarau et al., 2010).

No processo de infiltração celular mediada pelo vírus CHIKV são ativadas por várias citocinas provocando reações inflamatórias. Com a produção de citocinas pró-inflamatórias (interferon- $\gamma$ , interleukin-6 e outros), citocinas anti-inflamatórias (interleukin-1, interleukin-4 e 10) se faz presente também as quimiocinas como IP-10 e a proteína quimiotática promovendo inflamação no local da viremia (Teng et al., 2015; Chirathaworn et al., 2013; Reddy et al., 2014).

Através de estudos em animais foram observadas que a resposta da imunidade inata ativada devido à intensa replicação viral resulta em processos inflamatórios em órgãos e tecidos, acarretando em lesões nas articulações, músculos, tendões e tecidos ósseos. Em decorrência desse processo o paciente virêmico desenvolve fortes dores, interferindo de forma prejudicial na qualidade de vida (Broeckel et al., 2015; Teo et al., 2013).

O vírus propaga-se de forma direcionada dentro do organismo, sendo este levado até os tecidos musculares e articulares (Kelvin et al., 2011). Nestes locais ocorre intensa reprodução viral e em seguida infiltração de células mononucleares em conjunto dos macrófagos teciduais, provocando diversas alterações patológicas. No fígado causa apoptose dos hepatócitos, inflamação dos gânglios linfáticos, a nível muscular, ósseo e articular promovendo o efeito citopático induzindo o processo de apoptose ocasionando lesão tecidual direta, resultando em danos articulares e até o desenvolvimento de doença erosiva (Nayak et al., 2017; Labadie et al., 2010).

## **Sintomatologia da Febre Chikungunya**

O período de incubação de um microrganismo está relacionado a quantidade de dias a partir da inoculação do vírus e o surgimento do primeiro sintoma, que no caso da febre chikungunya leva de três a seis dias, e o primeiro sintoma apresenta-se entre o quarto e sétimo dia (Castro et al., 2016). Nesta patogenia, o início do sintoma ocorre repentinamente resultando em diversos sintomas muitas vezes deixando o paciente debilitado.

Os sintomas iniciais da febre chikungunya são comuns entre arbovirose, por exemplo, a dengue (Donalisio et al., 2015). Portanto os sintomas podem ser classificados em três fases, a primeira é a fase aguda, cerca de 80 a 97% dos pacientes viremos são sintomáticos, e apresentam febre intensa de 39°C, cefaleia, mialgia, poliartralgia, prostração e exantema, em alguns casos podem surgir náuseas, vômitos, diarreias e rash cutâneo, podem perdurar em média sete dias (Margarid & Rivviti, 2005). Na fase aguda ocorrem processos inflamatórios causados pelas citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias (Teng et al., 2015).

Na fase subaguda os sintomas podem ocorrer após o décimo dia da infecção aguda, podendo chegar por volta do terceiro mês após o início da viremia. Nesta fase os demais sintomas cessam, portanto, há persistência dos sintomas que acometem o sistema locomotor principalmente o agravamento das dores articulares, e inflamações dos tendões. Os membros mais afetados são mãos, punhos e tornozelos cerca de 50% dos pacientes passam para essa fase que pode ser acompanhado por edema (Donalisio, 2015; Faria et al., 2017).

A terceira fase é caracterizada pela cronicidade da doença, os sinais e sintomas da doença ultrapassam terceiro mês, onde há a permanência da artralgia e desenvolvimento de artropatia induzida pela infecção do CHIKV (Hoarau et al., 2010; Gardner et al., 2012). Os fatores que influenciam na fase crônica são a idade >45 anos, pacientes do sexo feminino, pessoas



com problemas articulares preexistentes, ou pacientes que tiveram uma alta carga viral que ocasionou danos intensos nas articulações no período agudo da infecção (Faria et al., 2017).

Neste período nota-se uma elevação de linfócitos T ativados e efetores na corrente sanguínea, esse aumento também é observado em pacientes com artrite induzida pela febre chikungunya. Devido a esses fatores supõe-se que essas células de defesa estejam correlacionadas no desenvolvimento da cronicidade da patologia (Miner et al., 2015; Teo et al., 2013).

### **Febre Chikungunya X Dengue**

Dentre os grupos das arboviroses, a febre chikungunya e a dengue possuem diversas semelhanças clínicas, e são comumente confundidas de forma oportuna devido às manifestações sintomatológicas apresentadas no período agudo da doença (Giry et al., 2017). Devido a essas singularidades, corrobora para um diagnóstico errôneo quando limitadas apenas a sinais e sintomas, tornando importante o diagnóstico diferencial através de exames laboratoriais específicos (Brito, 2016). Essa confusão advém desde o fim da década de 70, no qual registrou surto referente ao vírus da dengue de forma equivocada, visto que na verdade era a febre chikungunya (Azevedo et al., 2015; Halstead, 2015).

Após a publicação do manual Manejo clínico da chikungunya em 2015 observou-se que a regularidade dos sintomas em alguns pontos das doenças não possui os mesmos parâmetros mostrando-se mais frequente em uma delas (Donalísio et al., 2015). Segundo Brito (2016), os principais sinais e sintomas mostram que a cefaleia e dores musculares, e que o estado febril perdura por mais tempo em pacientes com dengue. Por outra vertente os pacientes acometidos pela febre chikungunya apresentam com frequência dores articulares, diminuição na série leucocitária e intensa artralgia (Brito, 2016).

O diagnóstico não é limitado a distinguir as arboviroses, mas faz-se imprescindível para a terapêutica da patologia em casos graves, e na identificação de prováveis surtos/epidemias (Balmaseda et al., 2017). As técnicas para o reconhecimento viral mais utilizado é o RT-PCR (Reação em Cadeia da Polimerase com Transcriptase Reversa), o PCR em tempo real que são consideradas pesquisa direta onde vai isolar o RNA viral. Em controvérsia, a pesquisa indireta é uma metodologia que faz o reconhecimento dos anticorpos neutralizantes desenvolvidos pela infecção resultando nas Imunoglobulinas IgM e IgG a técnica utilizada e o imunoenzimático metodologia de ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) (Cerol et al., 2020; Seymour et al., 2015).

Esses métodos diagnósticos possuem algumas recomendações visto que para identificar o patógeno o paciente manifesta sintomas e se orienta que as pesquisas direta do patógeno deve ser realizado do primeiro dia de sintoma até o quinto dia na fase aguda da doença (Cerol et al., 2020) Contando essas técnicas do RT-PCR e PCR em tempo real são extremamente seguras por possuírem, elevada sensibilidade, especificidade aos microrganismos investigados e não há interferência de possíveis de reações cruzadas identificando o agente etiológico precocemente (Hu et al., 2015).

A pesquisa indireta através de anticorpos deve acontecer na fase aguda da doença onde se faz presente a Imunoglobulina M podendo ser realizado a partir do sexto dia da viremia, mostrando-se em algumas situações persistência dessa imunoglobulina após o término do período agudo (Cerol et al., 2020). A imunoglobulina G está presente após a segunda semana da infecção perdurando por até 21 meses, os anticorpos neutralizantes são extremamente essenciais para eliminação da carga viral e age como imunidade antiviral reduzindo os sintomas em casos de futuras infecções pelos mesmos. Por fim a pesquisa indireta ela é suscetível à reação cruzada entre as arboviroses supracitadas (Hu et al., 2015; Kam, et al., 2012).

## Diagnóstico Diferencial

O diagnóstico laboratorial se faz necessário em situações que há manifestações dos sinais e sintomas e circulação em conjunto com outras arboviroses artritogênicas. Essa detecção é relevante para que ocorra o controle do vetor, e na prevenção de possíveis surtos e epidemias (Kucharz et al., 2012). Os testes utilizados com frequência para diagnóstico da febre chikungunya são testes laboratoriais de isolamento viral, sorologia, e técnicas moleculares. Dentre esses se considera padrão ouro a metodologia molecular por apresentar alta especificidade e sensibilidade como RT-PCR (Reação da Cadeia Polimerase Via Transcriptase) esse exame é realizado através de diversas amostras sangue total, plasma, liquor, urina (Hu et al., 2015). Contudo recomenda-se a realização do primeiro ao quinto dia por haver grande disseminação viral nas vias sanguíneas (Padmamalini et al., 2013).

O RT-PCR visa à extração de uma região do RNA do vírus e amplificá-la de forma exponencial, os produtos provenientes dessa primeira fase, irão funcionar como padrão para as seguintes ampliações (Pabbaraju et al., 2016). Portanto esse mecanismo inicia selecionando a parte do genoma a ser ampliado, em seguida o isolamento viral através de soro ou plasma do paciente virêmico. Posteriormente purifica e em seguida transforma o RNA viral em cDNA, para finalizar a primeira parte da reação é utilizado a enzima transcriptase reversa juntamente dois primers (Santos et al., 2004).

O produto da transcriptase reversa resulta na formação do cDNA, sendo assim a técnica de PCR consiste em desnaturação das fitas por meio do rompimento das pontes de hidrogênio do DNA convertendo em fitas únicas. A próxima fase é onde ocorre o anelamento, onde os primers irão ligar-se as partes correspondentes do DNA molde de fita simples. E finalizando a reação ocorre a extensão das fitas de DNA devido à elevação da temperatura através da ação da enzima Taq polimerase (Reddy et al., 2012).

O RT-PCR possuem duas variações a convencional citada anteriormente, e o PCR em tempo real onde utiliza sondas fluorescentes que controlam a amplificação genética durante a suas fases e chama-se tempo real porque ocorre a amplificação e a quantificação em sincronia (Vo et al., 2007). E com a inovação da técnica pode detectar outros vírus ao mesmo tempo, apenas com a mudança da cor na fluorescência dos reagentes (Oliveira et al., 2018). A pesquisa de anticorpos e antígenos provenientes da infecção viral pode ser analisada através de exames imunológico após o quinto dia com a pesquisa de IgM (Donalisio et al., 2015).

A investigação por meio da produção de anticorpos é verificada através da técnica de ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assays) esse método busca determinar a quantidade de anticorpos, por meio da reação do complexo antígeno- anticorpo. Para sanar essa busca, existem dois mecanismos que se resumem em Elisa Indireto, nesta técnica o antígeno purificado é depositado na placa de ELISA, em seguida adiciona o soro ou plasma do paciente, se existir anticorpos específicos para o CHIKV naquela amostra, ocorre à ligação entre o antígeno da placa e o anticorpo (Shukla et al., 2009; Araújo et al., 2018). Posteriormente é utilizado um composto de Imunoglobulinas sinalizada coma enzima peroxidase, quando expostas aos anticorpos específicos ligam-se resultando em anticorpo conjugado em complexo, será observado como substancia cromogênea, mediada pela ação enzimática do ácido sulfúrico, ocorre a alteração da cor em casos de positividade para a infecção viral (Araújo et al., 2018).

O teste rápido por imunocromatografia pertence aos testes sorológicos, seu funcionamento para identificação do anticorpo, o teste possui tiras que são cobertas por antígeno, no mesmo local é orientado que deposite a matriz que é o soro ou sangue total do paciente a reação entre o antígeno e o anticorpo irá resultar em uma linha colorida na região sensibilizada. Os testes diferem entre si, porque na pesquisa de anticorpos os testes contem antígenos para o CHIKC, em contrapartida, a pesquisa de antígeno o teste vem com anticorpos para o CHIKV, os testes têm a mesma funcionalidade, porém possuem finalidades diferentes (Kay et al., 2014).

### **Doenças Reumatológicas Associadas com Quadro Crônico da Febre Chikungunya**

Pela ótica epidemiológica e sintomas clínicos cerca de 14% a 87% dos pacientes com a infecção mostram prevalência em dores nas articulações, já as queixas de dores persistente podem variar entre 20-40%, e aos pacientes que apresentam melhoras e posteriormente recaem, é relatado cerca de 60-80% (Schilte et al., 2013; Essackjee et al., 2013). As dores manifestam-se em uma ou mais articulações, sendo referidos oligo ou poliartralgia e pode acometer as grandes e pequenas articulações, de forma simétrica ou não, acompanhada por edemas e rigidez matinal (Schilte et al., 2013).

Devido aos sintomas semelhantes com outras arboviroses se faz relevante o diagnóstico diferencial (Cabral-Castro et al., 2018) portanto como há relatos que com a cronicidade da febre chikungunya pode corroborar para o desenvolvimento de doenças reumatológicas preexistentes, como artrite reumatoide, e ocasionar inflamação nas articulações desencadeando artrite crônica (Sissoko et al., 2009).

Mediante a possibilidade de desenvolvimento ou indução de doenças de caráter reumatológico na fase crônica, faz-se necessário o diagnóstico diferencial dos autoanticorpos (Staples et al., 2009; Weaver et al., 2015). Através do estudo de casos realizado pelo grupo de pesquisa ChikBrasil foi possível detectar resultados positivos de autoanticorpos em 430 pacientes que apresentaram a febre chikungunya. Neste grupo de pacientes também foi possível constatar através do exame fator reumatoide, a presença de pouco mais de 113 pacientes com diagnóstico positivo, e apenas uma paciente para o anticorpo anti-peptídeo citrulinado (Anti-CCP). O fator antinúcleo também foi analisado, e este indicou cerca de 33% dos pacientes com resultado positivo. Todavia, esses dois últimos exames só devem ser solicitados em casos de sinovite prolongadas nas articulações presente na fase crônica, e o FAN deverá ser realizado após 12 semanas desses sintomas persistentes seguidos de ausência de diagnóstico (Marques, 2017).

O prognóstico da artrite crônica em decorrência da febre chikungunya, não se sabe ao certo o que pode ocasionar, porém em alguns relatos supõe que são consequências da intensa reprodução viral resultando em danos tecidual e celular ocasionado pela reação da resposta imune em tecidos alvos (Burt et al., 2017). Juntamente com esses mecanismos acredita-se que pode corroborar para conicidade da doença fatores como idade >40 anos, sexo, comorbidades e doenças articulares preexistentes (Shilte et al., 2013; Thiberville et al., 2013; Sissoko et al., 2009).

### **4. Considerações Finais**

Conclui-se que o diagnóstico laboratorial na identificação da chikungunya pode auxiliar na distinção das demais arboviroses circulantes que possuem sinais e sintomas semelhantes, ocasionado em confusão quando avaliado clinicamente. A técnica utilizada considerado padrão ouro com o RT-PCR que busca partículas genômicas do vírus auxiliando no diagnóstico precoce, em seguida a técnica mais utilizada é a sorologia buscando as imunoglobulinas de fase aguda ou de cura considerada a mais utilizada devido a seu baixo custo e rápido resultado.

Contanto, a febre chikungunya no seu quadro crônico em alguns casos pode induzir ou agravar problemas preexistentes prejudicando a qualidade de vida do paciente, devido a fortes dores nas articulações proveniente dos resquícios virais presentes nesses tecidos promovendo a inflamação em decorrência da reação com o sistema imune. Todavia para descarte de doenças preexistentes, e até mesmo na investigação de sequelas provocadas, devido ao agravamento da infecção, ou cronicidade é solicitado exames reumatológicos devido à persistência da dor incapacitante nestes pacientes. Contudo esse trabalho mostra a importância do diagnóstico laboratorial para auxiliar no diagnóstico do paciente, no tratamento eficaz, e na identificação danos articulares com causas desconhecidas.

Por fim se faz relevante o estudo dos métodos diagnóstico laboratorial em doenças virais como a febre chikungunya, por ser recorrente em vários países do mundo, principalmente os que possuem climas tropicais. Devido às mutações que o CHIKV sofreu ao longo do tempo, precisa-se que os exames laboratoriais sejam eficazes que possuam sensibilidade e

especificidade na detecção do patógeno, na presença de outras infecções por arbovírus, auxiliando no prognóstico e no tratamento da doença em longo prazo. Logo por intermédio desse auxilia na orientação, na prevenção e decisões clínicas sobre a infecção.

## Referências

- Azevedo, R. do S. da S., Oliveira, C. S., & Vasconcelos, P. F. da C. (2015). Chikungunya risk for Brazil. *Revista de Saude Publica*, 49(0), 58. <https://doi.org/10.1590/S0034-8910.2015049006219>
- Balmaseda, A., Stettler, K., Medialdea-Carrera, R., Collado, D., Jin, X., Zambrana, J. V., Jaconi, S., Camerini, E., Saborio, S., Rovida, F., Percivalle, E., Ijaz, S., Dicks, S., Ushiro-Lumb, I., Barzon, L., Siqueira, P., Brown, D. W. G., Baldanti, F., Tedder, R., & Corti, D. (2017). Antibody-based assay discriminates Zika virus infection from other flaviviruses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(31), 8384–8389. <https://doi.org/10.1073/pnas.1704984114>
- Bennett, J. E., Dolin, R., & Blaser, M. J. (2019). *Mandell, Douglas, and bennett's principles and practice of infectious diseases* (9th ed.). Retrieved from <https://books.google.at/books?id=8pKqDwAAQBAJ>
- Brasil.(2021). Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas causados por vírus transmitidos pelo mosquito Aedes (dengue, chikungunya e zika), semanas epidemiológicas 1 a 44, 2021, v. 52. Disponível em: [https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/boletins-epidemiologicos/edicoes/2021/boletim\\_epidemiologico\\_svs\\_41-2.pdf](https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/boletins-epidemiologicos/edicoes/2021/boletim_epidemiologico_svs_41-2.pdf)
- Brito, C. A. A. de, & Cordeiro, M. T. (2016). One year after the Zika virus outbreak in Brazil: from hypotheses to evidence. *Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 49(5), 537–543. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0328-2016>
- Broeckel, R., Haese, N., Messaoudi, I., & Streblow, D. N. (2015). Nonhuman primate models of Chikungunya virus infection and disease (CHIKV NHP model). *Pathogens*, 4(3), 662–681. <https://doi.org/10.3390/pathogens4030662>
- Burt, F. J., Chen, W., Miner, J. J., Lenschow, D. J., Merits, A., Schnettler, E., Kohl, A., Rudd, P. A., Taylor, A., Herrero, L. J., Zaid, A., Ng, L. F. P., & Mahalingam, S. (2017). Chikungunya virus: an update on the biology and pathogenesis of this emerging pathogen. *The Lancet Infectious Diseases*, 17(4), e107–e117. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30385-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30385-1)
- Cabral-Castro, M. J., Cavalcanti, M. G., Peralta, R. H. S., & Peralta, J. M. (2016). Molecular and serological techniques to detect co-circulation of DENV, ZIKV and CHIKV in suspected dengue-like syndrome patients. *Journal of Clinical Virology: The Official Publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 82, 108–111. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2016.07.017>
- Castro, A. P. C. R. de, Lima, R. A., & Nascimento, J. dos S. (2016). Chikungunya: vision of the pain clinician. *Revista Dor*, 17(4), 299–302. <https://doi.org/10.5935/1806-0013.20160093>
- Castro, A. P. C. R. de, Lima, R. A., & Nascimento, J. dos S. (2016). Chikungunya: vision of the pain clinician. *Revista Dor*, 17(4), 299–302. <https://doi.org/10.5935/1806-0013.20160093>
- Cerol, M., Cezarino, G., Ferrinho, P., & Teodósio, R. (2020). Infecção por vírus chikungunya: revisão para clínicos. *Revista da Sociedade Portuguesa de Medicina Interna*, 1, 55–64.
- Chirathaworn, C., Poovorawan, Y., Lertmaharit, S., Nunes, M., Faria, N. R., & De Vasconcelos, J. M. (2013). Cytokine Levels in Patients With Chikungunya Virus Infection. *Asia Pac J Trop Med*, 13, 631–634.
- Donalisio, M. R., & Freitas, A. R. R. (2015). Chikungunya in Brazil: an emerging challenge. *Revista Brasileira de Epidemiologia [Brazilian Journal of Epidemiology]*, 18(1), 283–285. <https://doi.org/10.1590/1980-5497201500010022>
- Donalisio, M. R., & Freitas, A. R. R. (2015). Chikungunya in Brazil: an emerging challenge. *Revista Brasileira de Epidemiologia [Brazilian Journal of Epidemiology]*, 18(1), 283–285. <https://doi.org/10.1590/1980-5497201500010022>
- Essackjee, K., Goorah, S., Ramchurn, S. K., Cheeneebash, J., & Walker-Bone, K. (2013). Prevalence of and risk factors for chronic arthralgia and rheumatoid-like polyarthritis more than 2 years after infection with chikungunya virus. *Postgraduate Medical Journal*, 89(1054), 440–447. <https://doi.org/10.1136/postgradmedj-2012-131477>
- Faria, A. C., Santelli, S., de Brito, C. A. A., Luz, K. G., & Neto, J. C. (2017) Chikungunya: Manejo Clínico. v. Disponível em: [https://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/publicacoes/chikungunya\\_manejo\\_clinico.pdf](https://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/publicacoes/chikungunya_manejo_clinico.pdf)
- Fauci, A. S., & Morens, D. M. (2016). Zika Virus in the Americas--Yet Another Arbovirus Threat. *The New England journal of medicine*, 374(7), 601–604. <https://doi.org/10.1056/NEJMp1600297>
- Gardner, C. L., Burke, C. W., Higgs, S. T., Klimstra, W. B., & Ryman, K. D. (2012). Interferon-alpha/beta deficiency greatly exacerbates arthritogenic disease in mice infected with wild-type Chikungunya virus but not with the cell culture-adapted live-attenuated 181/25 vaccine candidate. *Virology*, 425(2), 103–112.
- Ghildiyal, R., & Gabrani, R. (2020). Antiviral therapeutics for chikungunya virus. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 30(6), 467–480. <https://doi.org/10.1080/13543776.2020.1751817>
- Giry, C., Roquebert, B., Li-Pat-Yuen, G., Gasque, P., & Jaffar-Bandjee, M.C. (2017). Simultaneous detection of chikungunya virus, dengue virus and human pathogenic *Leptospira* genomes using a multiplex TaqMan® assay. *BMC Microbiology*, 17(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-017-1019-1>

- Halstead, S. B. (2015). Reappearance of chikungunya, formerly called dengue, in the Americas. *Emerging Infectious Diseases*, 21(4), 557–561. <https://doi.org/10.3201/eid2104.141723>
- Hilgenfeld, R. (2018). *Dengue and Zika: control and antiviral treatment strategies* (Vol. 1062). Springer.
- Hoarau, J. J., Jaffar Bandjee, M. C., Krejbich Trotot, P., Das, T., Li-Pat-Yuen, G., Dassa, B., Denizot, M., Guichard, E., Ribera, A., Henni, T., Tallet, F., Moiton, M. P., Gauzère, B. A., Bruniquet, S., Jaffar Bandjee, Z., Morbidelli, P., Martigny, G., Jolivet, M., Gay, F., Grandadam, M., & Gasque, P. (2010). Persistent chronic inflammation and infection by Chikungunya arthritogenic alphavirus in spite of a robust host immune response. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 184(10), 5914–5927. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.0900255>
- Hu, S.-F., Li, M., Zhong, L.-L., Lu, S.-M., Liu, Z.-X., Pu, J.-Y., Wen, J.-S., & Huang, X. (2015). Development of reverse-transcription loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection and differentiation of dengue virus serotypes 1–4. *BMC Microbiology*, 15(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-015-0595-1>
- Kam, Y.-W., Lee, W. W. L., Simarmata, D., Harjanto, S., Teng, T.-S., Tolou, H., Chow, A., Lin, R. T. P., Leo, Y.-S., Rénia, L., & Ng, L. F. P. (2012). Longitudinal analysis of the human antibody response to Chikungunya virus infection: implications for serodiagnosis and vaccine development. *Journal of Virology*, 86(23), 13005–13015. <https://doi.org/10.1128/JVI.01780-12>
- Kay, N. S., Peeling, R. W., & Mabey, D. C. (2014). State of the art syphilis diagnostics: rapid point-of-care tests. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 12(1), 63–73. <https://doi.org/10.1586/14787210.2014.860356>
- Kelvin, A. A. (2011). Inflammatory cytokine expression is associated with chikungunya virus resolution and symptom severity. *PLoS Negl Trop Dis*, 5(8).  
Kucharz, E. J., & Cebula-Byrska, I. (2012). Chikungunya fever. *European Journal of Internal Medicine*, 23(4), 325–329. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2012.01.009>
- Kuhn, J. H., Charrel, R. N., & Jameson, J. L. (2018). *Arthropod-borne and rodent-borne virus infection*. McGraw-Hill.
- Labadie, K., Larcher, T., Joubert, C., Mannioui, A., Delache, B., Brochard, P., Guigand, L., Dubreil, L., Lebon, P., Verrier, B., de Lamballerie, X., Suhrbier, A., Cherel, Y., Le Grand, R., & Roques, P. (2010). Chikungunya disease in nonhuman primates involves long-term viral persistence in macrophages. *The Journal of Clinical Investigation*, 120(3), 894–906. <https://doi.org/10.1172/JCI40104>
- Lumsden, W. H. R. (1955). General description and epidemiology. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, v. 49, n. 1. *Tanganyika territory, in 1952-1953 II. General description and epidemiology. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 319–327.
- Markoff, L. Alphaviruses. In: Bennett, J. E., Dolin, R., & Blaser, M. J. (2015). Mandell, Douglas, and Bennett's *Principles and Practice of Infectious Diseases* Filadélfia: Elsevier Saunders, p. 1865-1874.
- Marques, C. D. L., Duarte, A. L. B. P., Ranzolin, A., Dantas, A. T., Cavalcanti, N. G., Gonçalves, R. S. G., Rocha Junior, L. F. da, Valadares, L. D. de A., Melo, A. K. G. de, Freire, E. A. M., Teixeira, R., Bezerra Neto, F. A., Medeiros, M. M. das C., Carvalho, J. F. de, Santos, M. S. F., Océa, R. A. de L. C., Levy, R. A., Andrade, C. A. F. de, Pinheiro, G. da R. C., & Christopoulos, G. (2017). Recomendações da Sociedade Brasileira de Reumatologia para diagnóstico e tratamento da febre chikungunya. Parte I – Diagnóstico e situações especiais. *Revista brasileira de reumatologia*, 57, 421–437. <https://doi.org/10.1016/j.rbr.2017.05.004>
- Marston, H. D., Folkers, G. K., Morens, D. M., & Fauci, A. S. (2014). Emerging viral diseases: confronting threats with new technologies. *Science translational medicine*, 6(253), 253ps10. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3009872>
- Miner, J. J., Yeang, A., & Fox, H. X. (2015). Breve relatório: artrite viral de chikungunya nos Estados Unidos: uma imitação de artrite reumatóide soronegativa. *Artrite Reumatol*, 67, 1214–1220.
- Nayak, T. K., Mamidi, P., Kumar, A., Singh, L. P., Sahoo, S. S., Chattopadhyay, S., & Chattopadhyay, S. (2017). Regulation of Viral Replication, Apoptosis and Pro-Inflammatory Responses by 17-AAG during Chikungunya Virus Infection in Macrophages. *Viruses*, 9(1), 3. <https://doi.org/10.3390/v9010003>
- Ozden, S., Huerre, M., Riviere, J.-P., Coffey, L. L., Afonso, P. V., Mouly, V., de Monredon, J., Roger, J.-C., El Amrani, M., Yvin, J.-L., Jaffar, M.-C., Frenkiel, M.-P., Sourisseau, M., Schwartz, O., Butler-Browne, G., Desprès, P., Gessain, A., & Ceccaldi, P.-E. (2007). Human muscle satellite cells as targets of Chikungunya virus infection. *PLoS One*, 2(6), e527. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000527>
- Pabbaraju, K., Wong, S., Gill, K., Fonseca, K., Tipples, G. A., & Tellier, R. (2016). Simultaneous detection of Zika, Chikungunya and Dengue viruses by a multiplex real-time RT-PCR assay. *Journal of Clinical Virology: The Official Publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 83, 66–71. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2016.09.001>
- Padmamalini, :, Kavitha, :, Rohit, :, & Marston, H. (2013). Emerging Viral Diseases: Confronting Threats with New Technologies. *Science Translational Medicine*, 35, 1–9.
- Paty, M. C., Six, C., Charlet, F., Heuzé, G., Cochet, A., Wiegandt, A., Chappert, J. L., Dejour-Salamanca, D., Guinard, A., Soler, P., Servas, V., Vivier-Darrigol, M., Ledrans, M., Debruyne, M., Schaal, O., Jeannin, C., Helyncq, B., Leparç-Goffart, I., & Coignard, B. (2014). Large number of imported chikungunya cases in mainland France, 2014: a challenge for surveillance and response. *Euro Surveillance: Bulletin Européen Sur Les Maladies Transmissibles [Euro Surveillance: European Communicable Disease Bulletin]*, 19(28), 20856. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es2014.19.28.20856>
- Paul, D., & Bartenschlager, R. (2013). Architecture and biogenesis of plus-strand RNA virus replication factories. *World journal of virology*, 2(2), 32–48. <https://doi.org/10.5501/wjv.v2.i2.32>
- Pialoux, G., Gaüzère, B. A., Jauréguiberry, S., & Strobel, M. (2007). Chikungunya, an epidemic arbovirolosis. *The Lancet. Infectious diseases*, 7(5), 319–327. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(07\)70107-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(07)70107-X)
- Powers, A. M., & Logue, C. H. (2007). Changing patterns of chikungunya virus: re-emergence of a zoonotic arbovirus. *The Journal of General Virology*, 88(Pt 9), 2363–2377. <https://doi.org/10.1099/vir.0.82858-0>

- Rampal, Sharda, M., & Meena, H. (2007). Neurological complications in Chikungunya fever. *The Journal of the Association of Physicians of India*, 55, 765–769.
- Randrianasolo, L., Raelina, Y., Ratsitorahina, M., Ravolomanana, L., Andriamandimby, S., Heraud, J.-M., Rakotomanana, F., Ramanjato, R., Randrianarivo-Solofoniaina, A. E., & Richard, V. (2010). Sentinel surveillance system for early outbreak detection in Madagascar. *BMC Public Health*, 10(1), 31. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-10-31>
- Reddy, V., Mani, R. S., Desai, A., & Ravi, V. (2014). Correlação das cargas virais plasmáticas e presença de anticorpos Chikungunya IgM com citocina/Níveis de quimiocinas durante a infecção aguda pelo vírus chikungunya. *J Med Virol*, 86, 1393–1401.
- Reddy, V., Ravi, V., Desai, A., Parida, M., Powers, A. M., & Johnson, B. W. (2012). Utility of IgM ELISA, TaqMan real-time PCR, reverse transcription PCR, and RT-LAMP assay for the diagnosis of Chikungunya fever. *Journal of Medical Virology*, 84(11), 1771–1778. <https://doi.org/10.1002/jmv.23406>
- Margarido, L.C., & Rivviti, E.A. (2005). *Tratado de infectologia*. 3ª ed. São Paulo: Atheneu; p.939-72.
- Ross, R. W. (1956). The Newala epidemic: III. The virus: isolation, pathogenic properties and relationship to the epidemic. *The Journal of Hygiene*, 54(2), 177–191. <https://doi.org/10.1017/s0022172400044442>
- Santos, C. F. (2004). Reverse transcription and polymerase chain reaction: principles and applications in dentistry. *Journal of Applied Oral Science*, 1, 1–11.
- Schilte, C., Couderc, T., Chretien, F., Sourisseau, M., Gangneux, N., Guivel-Benhassine, F., Kraxner, A., Tschopp, J., Higgs, S., Michault, A., Arenzana-Seisdedos, F., Colonna, M., Peduto, L., Schwartz, O., Lecuit, M., & Albert, M. L. (2010). Type I IFN controls chikungunya virus via its action on nonhematopoietic cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 207(2), 429–442. <https://doi.org/10.1084/jem.20090851>
- Schilte, C., Staikowsky, F., Couderc, T., Madec, Y., Carpentier, F., Kassab, S., Albert, M. L., Lecuit, M., & Michault, A. (2013). Chikungunya virus-associated long-term arthralgia: a 36-month prospective longitudinal study. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7(3), e2137. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002137>
- Seymour, R. L., Adams, A. P., Leal, G., Alcorn, M. D., & Weaver, S. C. (2015). A Rodent Model of Chikungunya Virus Infection in RAG1 <sup>-/-</sup> Mice, with Features of Persistence, for Vaccine Safety Evaluation. *PLoS neglected tropical diseases*, 9(6), e0003800. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003800>
- Shukla, J., Khan, M., Tiwari, M., Sannarangaiah, S., Sharma, S., Rao, P. V., & Parida, M. (2009). Development and evaluation of antigen capture ELISA for early clinical diagnosis of chikungunya. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 65(2), 142–149. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2009.06.017>
- Silva, J. S., Mariano, Z. de F., & Scopel, I. (2008). A dengue no Brasil e as políticas de combate ao *Aedes aegypti*: da tentativa de erradicação às políticas de controle - The dengue fever in brazil and combat dengue fever to the *Aedes aegypti*: of the try eradication to control policies. *Hygeia - Revista Brasileira de Geografia Médica E Da Saúde*, 4(6). <https://seer.ufu.br/index.php/hygeia/article/view/16906>
- Sissoko, D., Malvy, D., Ezzedine, K., Renault, P., Moscetti, F., Ledrans, M., & Pierre, V. (2009). Post-epidemic Chikungunya disease on Reunion Island: course of rheumatic manifestations and associated factors over a 15-month period. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 3(3), e389. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0000389>
- Staples, J. E., Breiman, R. F., & Powers, A. M. (2009). Chikungunya fever: an epidemiological review of a re-emerging infectious disease. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 49(6), 942–948. <https://doi.org/10.1086/605496>
- Teng, T.-S., Kam, Y.-W., Lee, B., Hapuarachchi, H. C., Wimal, A., Ng, L.-C., & Ng, L. F. P. (2015). A systematic meta-analysis of immune signatures in patients with acute Chikungunya virus infection. *The Journal of Infectious Diseases*, 211(12), 1925–1935. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv049>
- Teo, T. H., Her, Z., Tan, J. J., Lum, F. M., Lee, W. W., Chan, Y. H., Ong, R. Y., Kam, Y. W., Leparc-Goffart, I., Gallian, P., Rénia, L., de Lamballerie, X., & Ng, L. F. (2015). Caribbean and La Réunion Chikungunya Virus Isolates Differ in Their Capacity To Induce Proinflammatory Th1 and NK Cell Responses and Acute Joint Pathology. *Journal of virology*, 89(15), 7955–7969. <https://doi.org/10.1128/JVI.00909-15>
- Teo, T.-H., Lum, F.-M., Claser, C., Lulla, V., Lulla, A., Merits, A., Rénia, L., & Ng, L. F. P. (2013). A pathogenic role for CD4+ T cells during Chikungunya virus infection in mice. *The Journal of Immunology*, 190(1), 259–269. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1202177>
- Thiberville, S.-D., Boisson, V., Gaudart, J., Simon, F., Flahault, A., & de Lamballerie, X. (2013). Chikungunya fever: a clinical and virological investigation of outpatients on Reunion Island, South-West Indian Ocean. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 7(1), e2004. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002004>
- Vo, T. K. D., Bigot, P., Gazin, P., Sinou, V., De Pina, J. J., Huynh, D. C., Fumoux, F., & Parzy, D. (2007). Evaluation of a real-time PCR assay for malaria diagnosis in patients from Vietnam and in returned travellers. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 101(5), 422–428. <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2006.09.004>
- Wahid, B., Ali, A., Rafique, S., & Idrees, M. (2017). Global expansion of chikungunya virus: mapping the 64-year history. *International Journal of Infectious Diseases: IJID: Official Publication of the International Society for Infectious Diseases*, 58, 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2017.03.006>
- Weaver, S. C., & Lecuit, M. (2015). Chikungunya virus and the global spread of a mosquito-borne disease. *The New England Journal of Medicine*, 372(13), 1231–1239. <https://doi.org/10.1056/NEJMr1406035>