

Uma nova ameaça à nossa porta: consequências da dispersão do vírus da dengue num mundo em constante mudança

A new threat at our doorstep: consequences of dengue dispersal in a constantly changing world

Ricardo Manuel Soares Parreira

Grupo de Virologia, Unidade de Ensino e Investigação de Microbiologia Médica/UPMM,
Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Universidade Nova de Lisboa
Ricardo@ihmt.unl.pt

Jorge Luís Marques da Silva de Atouguia

Unidade de Ensino e Investigação de Clínica Tropical, Instituto de Higiene e Medicina Tropical,
Universidade Nova de Lisboa

Carla Alexandra Sousa

Unidade de Ensino e Investigação de Parasitologia Médica/UPMM, Instituto de Higiene e Medicina Tropical,
Universidade Nova de Lisboa

Resumo

Dos arbovírus transmitidos por mosquitos, o vírus da dengue (DENV) é aquele que maior impacto exerce sobre a saúde humana. Ainda que a sua dispersão esteja, em parte, dependente das condições ambientais que determinam a dispersão do seu principal vetor (*Aedes aegypti*), a sua distribuição pelo planeta tem sido imparável. Embora essencialmente circunscrito a ambientes tropicais e subtropicais, este vírus afeta cerca de 1/3 da população mundial. A inexistência de uma vacina eficaz ou de terapêutica especificamente dirigida contra este vírus tornam o controlo dos seus principais vetores a principal arma de que dispomos para limitar a sua circulação. No entanto, a maioria das infeções são inaparentes e a maior parte das manifestações clínicas são indistintas, sendo genericamente englobadas na categoria das síndromes febris. Assim, a presença deste vírus nem sempre é fácil de detetar. Adicionalmente, o estabelecimento de populações vectoriais em ambientes urbanos abre oportunidade à aproximação entre vírus e humanos, e ao estabelecimento de epidemias em locais, *a priori*, pouco prováveis para que tal acontecesse. O surto de dengue na Madeira em 2012-2013 foi disso exemplo. Mais do que o impacto na saúde e economia locais, esta situação veio revelar o quão difícil é o controlo de circulação de arbovírus patogénicos, numa Europa parcialmente colonizada por outro dos seus principais vetores (*Ae. albopictus*) se poderá revelar.

Palavras Chave:

Dengue, flavivírus, mosquito, febre de dengue, *Aedes*.

Abstract

Dengue virus (DENV) is the mosquito-borne arbovirus with the widest impact on human health. Although its dispersal is partially conditioned by the environmental constraints that limit the distribution of its main vector (*Aedes aegypti*), DENV has been relentlessly taking over the planet, especially in the last decades. Despite the fact that it is mainly associated with the tropical and subtropical regions, it affects up to 1/3 of the world population. In the absence of any prophylactic vaccine or specific therapeutics, vector control remains the best alternative to restrain its circulation. However, most viral infections are either clinically silent, or expressed as a non-specific fever syndrome. Therefore, viral activity may remain undetected. Moreover, the establishment of thriving vector populations in periurban environments brings humans and viruses closer together, and opens the possibility for the occurrence of unexpected outbreaks. Such was the case of Madeira in 2012-2013. In addition to its impact on the health of the local population, health services and economy, this outbreak revealed how difficult it may be to control the circulations of pathogenic arboviruses, especially taking into considerations that Europe is already partially colonized by another DENV vector (*Aedes albopictus*).

Key Words:

Dengue, flavivirus, mosquito, dengue fever, *Aedes*.

Introdução

Anualmente, entre 50 a 100 milhões de pessoas são infetadas por um dos quatro serotipos do vírus da Dengue (DENV), estimando-se que mais de 2,5 mil milhões de indivíduos possam viver sob risco de virem a ser infetadas por este vírus (WHO, 2008). De entre os vírus do género *Flavivirus* (família *Flaviviridae*) que são transmitidos por artrópodes hematófagos, e em particular por mosquitos, o DENV é o arbovírus (do Inglês *arthropode-borne virus*) que mais rapidamente se tem dispersado

pelo planeta, especialmente durante os últimos 50 anos. Para tal, têm contribuído dois fatores essenciais. Por um lado, a degradação ambiental, que funciona como elemento facilitador da multiplicação do vetor na vizinhança das habitações humanas, consequentemente aumentando as probabilidades de contacto entre humanos e mosquitos; por outro, a intensificação do tráfego (humano e mercadorias), que permite transportar o DENV e os seus vetores a longas distâncias.

O DENV afeta, especialmente, centros urbanos, não poupando, no entanto, zonas rurais e atinge todos os níveis sociais. No en-

tanto, e em termos globais, o seu peso faz-se sentir, em especial, nas comunidades com baixos recursos e que vivem, frequentemente, em densos agregados populacionais sem infraestruturas sanitárias adequadas, condições estas favoráveis à multiplicação do seu principal mosquito-vetor (ver secções seguintes).

O número de infeções pelo DENV varia substancialmente de ano para ano, sendo difícil estimar o seu real impacto na saúde humana devido a sub-notificação das infeções e erros no seu correto diagnóstico (Suaya *et al.*, 2007). Este aspeto é particularmente relevante e impede, até hoje, a correta avaliação do impacto das infeções pelo DENV em África. De facto, e em virtude da incapacidade de confirmação laboratorial da etiologia das síndromes febris, mais de 70% deste são tratados como malária, especialmente nas zonas onde esta última é endémica (Amarasinghe *et al.*, 2011).

Ciclo epidemiológico

Contrariamente à maioria dos arbovírus, a circulação do DENV não está associada a ciclos de manutenção (enzoóticos) e amplificação (epizootico). Nestes casos, as infeções dos humanos são acidentais, e não contribuem para a manutenção do vírus na natureza já que os níveis de virémia não parecem ser suficientemente elevados para garantir a infeção persistente do vetor hematófago. Ao contrário destes, o DENV subsiste na natureza através da infeção de primatas não humanos e do Homem em ambientes ecológicos distintos. Enquanto os primeiros são os hospedeiros do vírus em ambiente silvático, o Homem é o hospedeiro de manutenção e amplificação preferencial das estirpes epidémicas de DENV, mantidas em ambiente urbano num ciclo que envolve exclusivamente humanos e mosquitos.

Normalmente, o DENV não é transmitido diretamente entre humanos infetados, a não ser em condições excepcionais, por exemplo, através de transfusões sanguíneas ou transplantes de órgãos ou de medula óssea (PAHO, 2009; Wiwanitkit, 2009). Na grande maioria dos casos a transmissão do DENV ao Homem implica uma picada de um mosquito persistentemente infetado com o vírus.

As espécies *Aedes luteocephalus* (*Stegomyia*) (Newstead 1907), *Aedes furcifer* (*Diceromyia*) (Edwards, 1913) e espécies do complexo *Aedes niveus* (*Finlaya*) (Ludlow, 1903) são as mais frequentemente incriminadas na transmissão silvática do vírus em África e no Sudeste Asiático. *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti*, subespécie *aegypti* (Linnaeus, 1762) é considerado o vetor mais eficiente em ciclo humano.

O vírus

À semelhança da generalidade dos flavivírus, o DENV é geneticamente diverso. No entanto, e ao contrário dos restantes membros deste género, o que conhecemos como DENV é, de facto, um conjunto de 5 vírus geneticamente distintos (Nomile, 2013). Apesar de partilharem um ancestral comum, os diferentes vírus da dengue agrupam-se em linhagens geneticamente distintas (revisito por Vasilakis & Weaver, 2008). Ainda que a caracterização genética dos vírus do serotipo 5 não tenha sido, ainda, apresentada na literatura, vírus deste serotipo foram encontrados em amostras de sangue e soro humanas colhidas durante um surto que assolou o estado Malaio de Sarawak em 2007 (Nomile, 2013). Estes vírus são capazes de replicar sem aparentes restrições em macacos previamente imunizados contra DENV dos serotipos 1, 2 e 3, sendo a sua replicação limitada em macacos imunes contra DENV-4. Tal facto sugere semelhanças antigénicas entre os vírus dos serotipos 4 e 5 (Nomile, 2013). Cada uma das quatro linhagens que foram, até hoje, caracterizadas do ponto de vista genético, agrupa um conjunto de vírus que partilha características antigénicas semelhantes, isolando-os em serotipos. No seu conjunto, os 5 serotipos

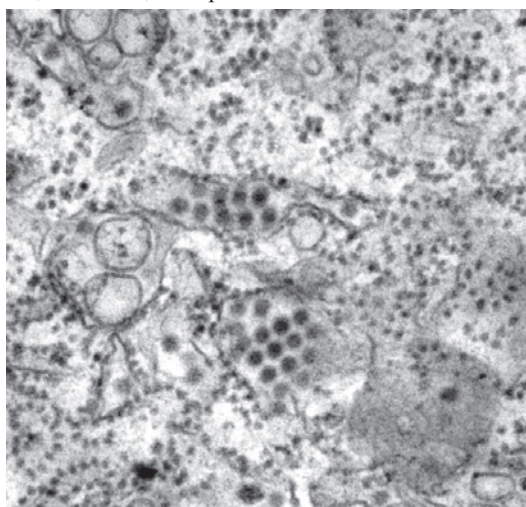


Fig. 1. Observação de partículas do vírus da dengue em cisternas do retículo endoplasmático (créditos: Frederick Murphy, Cynthia Goldsmith; disponível em <http://phil.cdc.gov/phil/>).

do DENV parecem formar um serocomplexo, onde a divergência antigénica entre estirpes virais (definida pelas características da proteína E dos serotipos 1 a 4) pode atingir os 40% (Heinz & Stiasny, 2012). Incluídas em cada um dos serotipos de DENV podemos encontrar linhagens virais quer silváticas quer epidémicas (estas últimas circulantes em ambiente sinantrópico), e para cada uma delas têm sido descritos inúmeros genótipos (Vasilakis & Weaver, 2008). As estirpes silváticas e epidémicas parecem estar isoladas quer do ponto de vista evolutivo quer ecológico. Ainda que as estirpes silváticas tenham sido, até hoje, muito menos bem estudadas que as epidémicas ambas são dotadas de potencial infecioso

para os humanos. Ainda que a actividade do DENV se faça registar especialmente em meio urbano, a circulação em ambiente silvático de 4 dos 5 serotipos do DENV foi já descrita na Ásia (apenas a circulação de DENV-2 foi descrita em África), levando Wang e colaboradores a sugerir que o DENV tenha tido uma origem asiática (Wang *et al.*, 2000). [57]

As partículas virais infeciosas (ou viriões) do DENV apresentam uma simetria icosaédrica e uma forma aproximadamente esférica, sendo limitadas externamente por um invólucro lipídico que inclui duas glicoproteínas virais (M e E). Internamente, a nucleocápside, de estrutura ainda não totalmente definida, e constituída pela proteína C, encerra uma molécula de RNA em cadeia simples e de polaridade positiva, com cerca de 10.800 nucleótidos (revisito por Mukhopadhyay *et al.*, 2005). Este genoma, com um

cap no extremo 5' mas sem cauda de poly-A, é limitado em ambas os extremos por regiões não traduzidas, as quais desempenham papéis regulatórios importantes durante a replicação, transcrição e tradução virais (Harris *et al.*, 2006). As diferentes proteínas virais são codificadas numa única grelha de leitura aberta (ORF, do Inglês *Open Reading Frame*), sendo que as sequências que codificam as proteínas estruturais [C, prM (percursor da proteína M) e E] ocupam a região 5' do genoma, enquanto que as 7 proteínas não-estruturais (NS1, NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b e NS5) são codificadas pela região 3'. Todas estas proteínas são sintetizadas ao nível do retículo endoplasmático (Fig 1) sob a forma de uma única poliproteína, a qual é processada por proteases virais (complexo NS2b/NS3) e celulares (furina e, provavelmente, outras). A função das diferentes proteínas virais ainda não é totalmente conhecida. No entanto, duas delas têm sido extensamente estudadas. Numa delas, designada NS3, podem ser identificados domínios funcionais responsáveis pela sua atividade de protease serínica e helicase de RNA. Por seu turno, a proteína NS5, caracterizada pela presença na região N-terminal de um domínio de transferase de grupos metilo, é a proteína responsável pela replicação do genoma viral, atuando como polimerase de RNA dependente de RNA. Esta replicação ocorre no interior de um conjunto de vesículas (*vesicle packets*) que proliferam na região perinuclear e que parecem conter os complexos de replicação viral (revisto por Welsch *et al.*, 2009).

O vetor

O conhecimento em relação aos ciclos silváticos do DENV, assim como as espécies vectoras implicadas na sua transmissão, é relativamente escasso.

Baseados em estudos efetuados iniciados na década de 1970, no Senegal, *Ae. fuscifer*, *Aedes (Diceromyia) taylori* (Edwards, 1936) e *Ae. luteocephalus* são apontadas como principais espécies responsáveis, em África, pela transmissão silvática de DENV (Diallo *et al.*, 2005). Estas espécies, típicas das galerias florestais exploram habitats arbóreos. No entanto, algumas destas, como por exemplo *Ae. fuscifer*, apresentam um comportamento oportunista e, em caso de introdução humana na sua área de distribuição, podem funcionar como vetores ponte originando *foci* silváticos de doença.

Na Ásia, mosquitos do complexo *Ae. niveus* parecem ser os responsáveis pela transmissão de DENV em ambientes silváticos. Esta espécie primatófila é abundante na copa das florestas malaicas e, tal como *Ae. fuscifer*, apresenta a capacidade de descer ao nível do solo e alimentar-se em humanos quando as circunstâncias o permitem, facilitando a transferência de DENV silváticos, oriundos da

floresta, para o ambiente rural (Vasilakis *et al.*, 2011). Nestas áreas rurais de emergência, *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse, 1894) (Fig. 2) é uma das espécies prováveis capazes manter a transmissão do DENV em ciclo urbano. A existência de um ciclo de transmissão silvático de DENV nas Américas ainda não foi demonstrada. Embora estudos serológicos em populações humanas isoladas em áreas remotas, distantes da área de distribuição de *Ae. aegypti aegypti* (Fig. 2), apontem para um contacto com DENV silvático, nenhum dos isolados de DENV do Novo Mundo apresenta evidências filogenéticas de uma linhagem silvática (Roberts *et al.*, 1984).

Em ambiente urbano, *Ae. aegypti aegypti*, é o principal vetor do DENV, enquanto que outras espécies do mesmo género, tais como *Ae. albopictus* e *Ae. polynesiensis* atuam, geralmente, como vetores secundários. Embora *Ae. albopictus* seja apontado como o vetor original através do qual se estabeleceu, em ambiente urbano, a

transmissão do DENV entre humanos e presente, de facto, maior competência vectora que *Ae. aegypti aegypti*, este último é, em regra, o responsável pela ocorrência dos grandes surtos de dengue. Para a elevada capacidade de transmissão desta espécie contribuem a sua manifesta antropofilia, a sua preferência por ambientes peridomésticos, a tendência para efetuar prospeção (*probing*) em diferentes indivíduos antes de efetuar uma refeição sanguínea, e o facto de estas poderem ocorrer múltiplas vezes durante um único ciclo gonotrófico, até à postura de ovos (Scott & Takken, 2012).

Apesar de esta espécie ser uma das que apresenta uma maior dispersão geográfica (White, 2003), considera-se que a sua distribuição é restrita às latitudes entre os 35°N e 35°S, às quais corresponde uma isotérmica entre Janeiro e Julho de 10°C (Christophers, 1960). De facto, as baixas temperatu-

ras são importantes condicionantes da viabilidade do *Ae. aegypti* especialmente das suas formas imaturas. Estas são frequentemente encontradas em habitats com água, normalmente contentores ou recipientes artificiais, em estreita associação com as habitações humanas, ou mesmo no interior destas. A maioria das fêmeas de *Ae. aegypti* parece permanecer durante a sua vida no interior, ou na vizinhança imediata do ambiente onde emergiu como adulto, de forma que são as pessoas, e não os mosquitos, que mais rapidamente transportam o DENV entre comunidades separadas geograficamente (WHO, 2009).

Aedes albopictus, que atua como vetor da dengue quer em ciclo urbano, quer em zonas rurais de emergência da doença, é uma espécie originária da Ásia. Esta espécie, apesar de se comportar como vetor secundário em áreas de simpatria com *Ae. aegypti aegypti* tem registado, nos últimos anos, uma dispersão considerável para

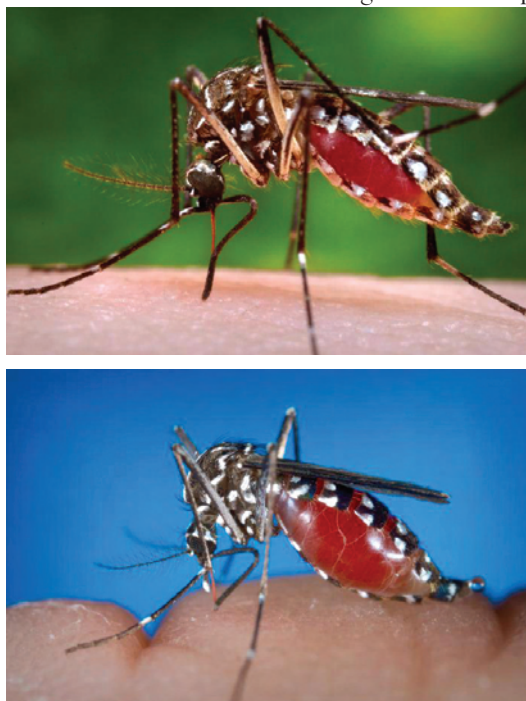


Fig. 2 – Os principais vetores do vírus da dengue: *Aedes aegypti aegypti* (em cima) e *Aedes albopictus* (em baixo) (créditos: James Gathany; disponível em <http://phil.cdc.gov/phil/>).

a África, as Américas e a Europa, em associação estreita ao comércio de pneus (Yee, 2008). A sua deteção em diferentes países europeus vem sendo registada desde o início da década de 1970, tendo-se assistido ao seu estabelecimento na Bulgária, França, Mónaco, Grécia, Albânia, Itália, Holanda, Eslovénia, Croácia, Sérvia, Bósnia e Herzegovina, Suíça e Espanha (Straetemans, 2008), e à sua deteção na Bélgica (2000) e na Alemanha (2007 e 2010). Esta expansão faz com que os territórios sob risco de epidemias de dengue se estendam muito para além da cintura compreendida entre as latitudes 35°N e 35°S.

A doença

Após um período de incubação que varia, normalmente, entre os 4 e os 12 dias, a infeção por qualquer um dos serotipos do DENV pode dar origem a um quadro clínico que engloba sintomatologia diversa, com uma evolução clínica difícil de prever. Ainda que a maioria das infeções não seja sintomática e se mantenha subclínica, grande parte daquelas em que se registam manifestações clínicas, normalmente incluem febre elevada (39-40°C), mialgias intensas, cefaleias, dor retro-orbital, dores ósseas, artralgias e astenia intensa; não são infrequentes sintomas gastrointestinais como náuseas e vômitos, dores abdominais e diarreia. A partir do 3º dia da doença pode surgir um exantema cutâneo (semelhante ao da rubéola), que pode levar ao aparecimento de prurido intenso, principalmente nas palmas das mãos e plantas dos pés. Com a continuação do quadro febril é possível encontrar sinais de hipotensão postural, e, inclusive, fenómenos hemorrágicos localizados e limitados. A febre pode manter-se entre 3 e 7 dias, mas os sinais e sintomas, sobretudo os osteoarticulares e a astenia, podem continuar durante várias semanas. Este quadro clínico, autolimitado e sem complicações graves, designa-se por dengue clássico ou febre da dengue (ou DF, do inglês *Dengue-Fever*).

O tratamento do dengue clássico baseia-se no suporte do doente: a hidratação oral (com água, soro caseiro, água de coco), ou endovenosa, se necessário, e a redução da febre são fundamentais e estão indicadas em todos os casos. O paracetamol é o medicamento de primeira linha como antipirético e antiálgico. O ácido acetilsalicílico e derivados, assim como os anti-inflamatórios não esteroides, estão contraindicados pela sua possível interferência com os mecanismos da coagulação; a dipirona deve ser utilizada com algum cuidado por poder provocar hipotensão, agravando os quadros de hipotensão postural nalguns doentes com dengue. Uma pequena percentagem de indivíduos infetados (<5%), pode ter uma evolução clínica com características graves. O quadro clínico resulta da perda de plasma, acompanhada, ou não, de manifestações hemorrágicas (síndrome do dengue hemorrágico ou febre hemorrágica da dengue; DHF do inglês *Dengue Hemorrhagic Fever*), com possível evolução para choque hipovolémico (síndrome de choque da dengue; DSS do inglês *Dengue Shock Syndrome*) (WHO, 1997). Embora esta classificação ainda seja utilizada, é preferível englobar as manifestações severas de dengue num conceito único de Dengue Grave (WHO, 2012). Os

sintomas e sinais iniciais variam desde a suscetibilidade aumentada para hemorragias – diagnosticada pela prova do torniquete – até às manifestações hemorrágicas espontâneas de pele (equimoses, petéquias) e mucosas (nasais, gengivais), aumento do fluxo menstrual e sangramento urinário; com a evolução da doença, surgem derrames pleural, peritoneal e/ou pericárdico, redução da pressão arterial, do fluxo urinário e do enchimento capilar, pulso fino e rápido, palidez, extremidades frias, sudorese, sonolência, que terminam no estabelecimento do choque, com o desaparecimento do pulso palpável, ausência de diurese, coma e, finalmente, morte. A mortalidade dos casos de choque associado ao dengue variam entre 10 e 50%, dependendo dos estudos. Para estes indivíduos está apenas disponível terapêutica de suporte, mas esta pode diminuir o número de fatalidades para menos de 1% dos casos clínicos graves (WHO, 2009). Tanto quanto se sabe, as infeções primárias conferem imunidade protetora relativamente ao serotipo viral infetante (Halstead, 1974).

Embora as infeções clinicamente graves possam ocorrer durante uma infeção primária (Guzmán *et al.*, 2000; Pang *et al.*, 2007; Guzmán & Kouri, 2008) e ser condicionadas por fatores do hospedeiro (Halstead *et al.*, 2001), são vários os estudos que sugerem o importante papel que quer as infeções heterotípicas secundárias (infeções com um serotipo viral diferente do associado a uma infeção primária), quer o intervalo de tempo que as separam entre si ou da infeção primária, parecem desempenhar na progressão para dengue grave (WHO, 2012). O mecanismo mais frequentemente invocado para explicar a evolução clínica de infeção pelo DENV até DHF/DSS está associado à presença, no indivíduo infetado, de anticorpos não neutralizantes, os quais parecem contribuir para facilitar a entrada dos vírus em novas células (ADE, do inglês *Antibody Dependent Enhancement*). Consequentemente, o maior número de células infetadas não só contribui para o aumento da virémia (nº de vírus circulantes), como parece estimular a produção de citocinas pró-inflamatórias e outros mediadores da resposta imune, diretamente implicados no aumento da permeabilidade capilar (revisto por Halstead, 2009). No entanto, fatores genéticos virais parecem igualmente condicionar a progressão clínica das infeções pelo DENV (Leitmeyer *et al.*, 1999; Chevillon & Failloux, 2003; Messer *et al.*, 2003).

Dengue na Europa

Até recentemente, a deteção de *Ae. aegypti* no continente europeu ocorria de forma muito pontual (Snow & Ramsdale, 1999; Brown *et al.*, 2010), tendo este colonizado apenas a Geórgia e a sua região de fronteira com o sul da Rússia. A presença do *Ae. aegypti* em Portugal continental foi verificada até 1953 (Costa *et al.*, 1956) não tendo este sido encontrado em nenhum dos levantamentos entomológicos efetuados desde então (Almeida *et al.*, 2008; 2010). No entanto, tal viria a mudar em 2004, quando a presença de *Ae. aegypti* na Ilha da Madeira foi registada na sequência das frequentes queixas apresentadas pela população da freguesia de Santa Luzia da cidade do Funchal, que reportava picadas de um

mosquito agressivo e incómodo, com atividade de picada diurna. Estudos efetuados logo no ano seguinte confirmaram a presença de *Ae. aegypti* em várias municipalidades da cidade do Funchal (Almeida *et al.*, 2007).

Na sequência da expansão e estabelecimento do *Ae. aegypti* na Ilha da Madeira, Almeida e colaboradores (2007) alertaram para o facto de que a sua presença poderia permitir a transmissão local de inúmeros arbovírus, fazendo referência à situação epidemiológica que, nesse mesmo ano, se registara em Itália. Aqui, um surto com mais de 300 casos notificados, envolveu infeções pelo vírus Chikungunya (Rezza *et al.*, 2007) em associação a uma população em expansão de *Ae. albopictus*. Os últimos registos de uma epidemia causada pelo DENV na Europa continental datam do ano de 1927-1928, quando este vírus, veiculado por *Ae. aegypti*, afetou a Grécia, tendo causado várias mortes (Louis, 2012). Desde então, e até muito recentemente, a transmissão autóctone de DENV na Europa encontrava-se limitada a duas notificações datadas do ano de 2010, durante o qual foi registada transmissão esporádica do DENV no sul de França e na região de Dubrovnik (Croácia), e onde *Ae. albopictus* foi o vetor implicado (La Ruchet *et al.*, 2010; Gjenero-Margan *et al.*, 2010).

Surpreendentemente, a 3 de Outubro de 2012 as autoridades de saúde pública portuguesas reportaram a confirmação do diagnóstico de infeção pelo DENV em dois residentes na Ilha da Madeira, os quais não referiram história recente de viagens para fora desta região autónoma do território português. Ambos os indivíduos apresentavam um quadro clínico febril não complicado, com leucopenia, trombocitopenia e disfunção hepática (Comunicado DGS 2012 3.10.2012). Neste surto, um total de 2182 casos de Dengue foi reportado pelas autoridades portuguesas (<http://www.dgs.pt/?cn=683368347243AAAAAAAAAAAA>), sem registo de qualquer fatalidade (ECDC 18.03.2013). A análise de um fragmento da sequência do genoma do DENV circulante revelou tratar-se de DENV do serotipo 1 (DENV-1) com elevada semelhança com estirpes virais circulantes na América latina (Alves *et al.*, 2013).

A entrada do DENV no arquipélago da Madeira não foi um evento inesperado, não sendo mais que o reflexo da expansão epidémica deste vírus a nível global. Apesar de tudo, quando combinamos o afluxo regular de turistas de todo o mundo ao arquipélago com as dimensões desta epidemia, verificamos tratar-se de um potencial problema de saúde pública. Ao todo foram confirmados laboratorialmente 43 casos de exportação do vírus através de turistas portugueses (n=10), britânicos (n=14), alemães (n=10), franceses (n=3), finlandeses (n=2), dinamarqueses (n=1), suecos (n=1), espanhóis (n=1) e eslovenos (n=1) que visitaram a ilha da Madei-

ra durante o surto. (informação disponível em www.promed.org a 03.02.2012).

Até hoje, não há registo do estabelecimento de *Ae. aegypti* em qualquer país da Europa Ocidental e mediterrânica. No entanto, não só o risco de que tal aconteça não pode ser desconsiderado, como o estabelecimento do DENV como um vírus endémico na Madeira deverá ser avaliado cuidadosamente. Para além de um impacto na saúde dos habitantes da ilha e das possíveis consequências no turismo local, tal facto poderia aumentar o risco da expansão do DENV, a curto-prazo, para a Europa Continental. A possibilidade da doença se instalar de modo endémico na Madeira está intimamente associada à possibilidade de ocorrer transmissão vertical do vírus entre fêmeas de mosquito infetadas e a sua descendência. A transmissão vertical (também designada transovárica) do DENV por *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* e *Ae. scutellaris* (Rosen *et al.*, 1983; Mitchell & Miller, 1990; Shroyer, 1990) parece ocorrer a baixa frequência no laboratório, se bem que os valores reportados (1-4%) deverão corresponder a subestimativas, especialmente dependentes das abordagens experimentais utilizadas para a sua deteção (Joshi *et al.*, 2002; Günther *et al.*, 2007). Na realidade, são já vários os estudos onde se sugere que, naturalmente, a transmissão vertical do DENV parece ocorrer frequentemente. Nesta situação, a transmissão da vírus entre a fêmea infetada e a sua descendência é importante para a manutenção do vírus entre períodos epidémicos, especialmente se os hospedeiros vertebrados não-imunes forem escassos, ou se as condições ambientais não forem favoráveis à atividade vetorial (Joshi *et al.*, 1996; Chye *et al.*, 1997; Thenmozhi *et al.*, 2000; Thenmozhi *et al.*, 2007; Bina *et al.*, 2008; Le Goff *et al.*, 2011; Mulyatno *et al.*, 2012).

Por outro lado a inexistência de transmissão vertical na população culicída da Madeira não garante que não ocorrerá um novo surto epidémico na próxima época de maior densidade do vetor. Uma nova introdução de DENV pode ocorrer, sendo que este pode ser do serotipo 1 ou de qualquer outro dos restantes três serotipos. Esta possibilidade é patente nos últimos casos de dengue registados na região, todos eles importados (<http://www.dgs.pt/?cn=683368347243AAAAAAAAAAAA>).

Uma vez que não existe disponível uma vacina eficaz ou qualquer tipo de terapêutica específica contra o DENV, o seu controlo depende da redução das populações vetoriais, assim como da implementação de sistemas de vigilância que, atempadamente, permitam a identificação de eventos epidémicos. Para tal, é desejável que seja adquirido um conhecimento estreito relativo à dinâmica viral quer no Homem quer nos mosquitos, durante e entre epidemias, numa tentativa de tornar claros os fatores que originam e influenciam estas últimas.

Bibliografia

- Almeida, A.P., Gonçalves Y.M., Novo, M.T., Sousa, C.A., Melim, M. & Grácio, A.J. (2007) - "Vector monitoring of *Aedes aegypti* in the Autonomous Region of Madeira, Portugal". *Euro Surveill.*, 12: E071115.6.
- Almeida, A.P., Galão, R.P., Sousa, C.A., Novo, M.T., Parreira, R., Pinto, J., Piedade, J. & Esteves, A. (2008) - "Potential mosquito vectors of arboviruses in Portugal: species, distribution, abundance and West Nile infection". *Trans R Soc Trop Med Hyg.*, 102: 823-832.

- Almeida, A.P., Freitas, F.B., Novo, M.T., Sousa, C.A., Rodrigues, J.C., Alves, R. & Esteves, A. (2010) - "Mosquito surveys and West Nile virus screening in two different areas of southern Portugal, 2004-2007". *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 10: 673-680.
- Alves, M.J., Fernandes, P.L., Amaro, F., Osório, H., Luz, T., Parreira, P., Andrade, G., Zé-Zé, L. & Zeller, H. (2013) - "Clinical presentation and laboratory findings for the first autochthonous cases of dengue fever in Madeira island, Portugal, October 2012". *Euro Surveill.*, 18: 20398.
- Amarasinghe, A., Kuritsk, J.N., Letson, G.W. & Margolis, H.S. (2011) - "Den-

- gue virus infection in Africa". *Emerg Infect Dis.*, 17: 1349-1354.
6. Bina, P.D., Katyal, R., Abhay, S., Raina, V.K., Saxena, V.K. & Lal, S. (2008) - "Natural vertical transmission of dengue virus in peak summer collections of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from urban areas of Jaipur (Rajasthan) and Delhi". *J Commun Dis.*, 40: 155-157.
7. Brown, J.E., Scholte, E.J., Dik, M., Den Hartog, W., Beeuwkes, J. & Powell, J.R. (2010) - "*Aedes aegypti* mosquitoes imported into the Netherlands, 2010". *Emerg Infect Dis.*, 17: 2335-2337.
8. Chevillon, C. & Failloux, A.B. (2003) - "Questions on viral population biology to complete dengue puzzle". *Trends Microbiol.*, 11: 415-421.
9. Christophers, S.R. (1960) - *Aedes aegypti* (L.), the Yellow Fever mosquito. Cambridge University Press, London, UK.
10. Chye, J.K., Lim, C.T., NG, K.B., Lim, J.M., George, R. & Lam, S.K. (1997) - "Vertical transmission of dengue". *Clin Infect Dis.*, 25: 1374-1377.
11. Costa, L., Queiroz, J.S. & Reis, J.F. (1956) - "Notes on an entomological survey conducted in the city of Lisbon and outskirts (article in Portuguese)". *Boletim dos Serviços de Saúde Pública*, III: 7-40.
12. Comunicado do Diretor-Geral da Saúde sobre casos de Dengue na Região Autónoma da Madeira. 2012 [03.10.2012]; disponível em <http://www.dgs.pt/mid=0&cr=23048>.
13. Diallo, M., Sall, A.A., Moncayo, A.C., BA, Y., Fernandez, Z., Ortiz, D., Coffey, L.L., Mathiot, C., Tesh, R.B., & Weaver S.C. (2005) - "Potential role of sylvatic and domestic African mosquito species in dengue emergence". *Am J Trop Med Hyg.*, 73: 445-449.
14. ECDC. (2013) [18.03.2013]. Dengue outbreak in Madeira, Portugal, October - November 2012; disponível em http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/Forms/ECDC_DisForm.aspx?ID=1077.
15. Gjenero-Margan, I., Aleraj, B., Krajcar, D., Lesnikar, V., Klobučar, A., Pem-Novosel, I., Kurečić-Filipović, S., Komparak, S., Martić, R., Duričić, S., Betica-Radić, L., Okmadžić, J., Vilibić-Cavlek, T., Babić-Erceg, A., Turković, B., Avsić-Županc, T., Radić, I., Ljubić, M., Sarac, K., Benić, N. & Mlinarić-Galinović, G. (2010) - "Autochthonous dengue fever in Croatia, August-September 2010". *Euro Surveill.*, 16: 19805.
16. Günther, J., Martínez-Muñoz, J.P., Pérez-Ishiwara, D.G. & Salas-Benito, J. (2007) - "Evidence of vertical transmission of dengue virus in two endemic localities in the state of Oaxaca, Mexico". *Intervirology*, 50: 347-352.
17. Guzmán, M.G., Kouri, G., Valdes, L., Bravo, J., Alvarez, M., Vazques, S., Delgado, I. & Halstead, S.B. (2000) - "Epidemiologic studies on Dengue in Santiago de Cuba, 1997". *Am J Epidemiol.*, 152: 793-799.
18. Guzmán, M.G. & Kouri, G. (2008) - "Dengue haemorrhagic fever integral hypothesis: confirming observations, 1987-2007". *Trans R Soc Trop Med Hyg.*, 102: 522-523.
19. Halstead, S.B. (1974) - "Etiologies of the experimental dengues of Siler and Simmons". *Am J Trop Med Hyg.*, 23:974-982.
20. Halstead, S.B. (2009) - "Antibodies determine virulence in dengue". *Ann NY Acad Sci.*, 1171 Suppl 1: E48-56.
21. Halstead, S.B., Streit, T.G., Lafontant, J.G., Putvatana, R., Russell, K., Sun, W., Kanasa-Thanan, N., Hayes, C.G. & Watts, D.M. (2001) - "Haiti: absence of dengue hemorrhagic fever despite hyperendemic dengue virus transmission". *Am J Trop Med Hyg.*, 65: 180-183.
22. Harris, E., Holden, K.L., Edgil, D., Polacek, C. & Clyde, K. (2006) - "Molecular biology of flaviviruses". *Novartis Found Symp.*, 277: 23-39.
23. Heinz, F.X. & Stiasny, K. (2012) - "Flaviviruses and flavivirus vaccines". *Vaccine*, 30: 4301-4306.
24. Joshi, V., Singhi, M. & Chaudhary, R.C. (1996) - "Transovarial transmission of dengue 3 virus by *Aedes aegypti*". *Trans R Soc Trop Med Hyg.*, 90: 643-644.
25. Joshi, V., Mourya, D.T. & Sharma, R.C. (2002) - "Persistence of dengue-3 virus through transovarial transmission passage in successive generations of *Aedes aegypti* mosquitoes". *Am J Trop Med Hyg.*, 67: 158-161.
26. La Ruche, G., Souarès, Y., Armengaud, A., Peloux-Petiot, F., Delaunay, P., Desprès, P., Lenglet, A., Jourdain, F., Leparç-Goffart, I., Charlet, F., Ollier, L., Mantey, K., Mollet, T., Fournier, J.P., Torrents, R., Leitmeyer, K., Hilairet, P., Zeller, H., Van Bortel, W., Dejour-Salamanca, D., Grandadam, M. & Gastellu-Etchegorry, M. (2010) - "First two autochthonous dengue virus infections in metropolitan France, September 2010". *Euro Surveill.*, 15: 19676.
27. Le Goff, G., Revollo, J., Guerra, M., Cruz, M., Barja Simon, Z., Roca, Y., Vargas Florés, J. & Hervé, J.P. (2011) - "Natural vertical transmission of dengue viruses by *Aedes aegypti* in Bolivia". *Parasite*, 18: 277-280.
28. Leitmeyer, K.C., Vaughn, D.W., Watts, D.M., Salas, R., Villalobos, I., De Chacon, Ramos, C. & Rico-Hesse, R. (1999) - "Dengue virus structural differences that correlate with pathogenesis". *J Virol.*, 73: 4738-4747.
29. Louis, C. (2012) - "Daily newspaper view of dengue fever epidemic, Athens, Greece, 1927-1931". *Emerg Infect Dis.*, 18: 78-82.
30. Messer, W.B., Gubler, D.J., Harris, E., Sivananthan, K. & De Silva, A.M. (2003) - "Emergence and global spread of a dengue serotype 3, subtype III virus". *Emerg Infect Dis.*, 9: 800-809.
31. Mitchell, C.J. & Miller, B.R. (1990) - "Vertical transmission of dengue viruses by strains of *Aedes albopictus* recently introduced into Brazil". *J Am Mosq Control Assoc.*, 6: 251-253.
32. Mukhopadhyay, S., Kuhn, R.J. & Rossmann, M.G. (2005) - "A structural perspective of the flavivirus life cycle". *Nat Rev Microbiol.*, 3: 13-22.
33. Mulyatno, K.C., Yamanaka, A., Yotopranoto, S. & Konishi, E. (2012) - "Vertical transmission of dengue virus in *Aedes aegypti* collected in Surabaya, Indonesia, during 2008-2011". *Jpn J Infect Dis.*, 65: 274-276.
34. Paho. (2009) - Eligibility for Blood Donation: Recommendations for Education and Selection of Prospective Blood Donors. Washington D.C.: Pan American Health Organization [05.10.2012] (disponível em <http://www2.paho.org/hq/dmdocuments/2009/EligiBlood09EN.pdf>).
35. Pang, T., Cardosa, M.J. & Guzmán, M.G. (2007) - "Of cascades and perfect storms: the immunopathogenesis of dengue haemorrhagic fever-dengue shock syndrome (DHF/DSS)". *Immunol Cell Biol.*, 85: 43-45.
36. Rezza, G., Nicoletti, L., Angelini, R., Romi, R., Finarelli, A.C., Panning, M., Cordioli, P., Fortuna, C., Boros, S., Magurano, F., Silvi, G., Angelini, P., Dottori, M., Ciufolini, M.G., Majori, G.C., Cassone, A. & Chikv Study Group (2007) - "Infection with chikungunya virus in Italy: an outbreak in a temperate region". *Lancet*, 370: 1840-1846.
37. Roberts, D.R., Peyton, E.L., Pinheiro, F.P., Balderrama, F. & Vargas, R. (1984) - "Associations of arbovirus vectors with gallery forests and domestic environments in southeastern Bolivia". *Bull Pan Am Health Organ.*, 18: 337-350.
38. Rosen, L., Shroyer, D.A., Tesh, R.B., Freier, J.E. & Lien, J.C. (1983) - "Transovarial transmission of dengue viruses by mosquitoes: *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*". *Am J Trop Med Hyg.*, 32: 1108-1119.
39. Scott T.W. & Takken, W. (2012) - "Feeding strategies of anthropophilic mosquitoes result in increased risk of pathogen transmission". *Trends Parasitol.*, 28: 114-121.
40. Shroyer, D.A. (1990) - "Vertical maintenance of dengue-1 virus in sequential generations of *Aedes albopictus*". *J Am Mosq Control Assoc.*, 6: 312-314.
41. Snow, K. & Ramsdale, C. (1999). - "Distribution chart for European mosquitoes". *European Mosquito Bulletin*, 3: 14-31.
42. Straetmans, M. & Ecdd Consultation Group On Vector-Related Risk For Chikungunya Virus Transmission In Europe (2008) - "Vector-related risk mapping of the introduction and establishment of *Aedes albopictus* in Europe". *Euro Surveill.*, 13: 8040.
43. Suaya, J.A., Sheprd, D.S. & Beatty, M.E. (2007) - "Dengue burden of disease and costs of illness". Working paper 3.2 in: *Report of the Scientific Working Group meeting on Dengue, Geneva, 1-5 October 2006*. Geneva, World Health Organization, Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases, Geneva, Suíça.
44. Thenmozhi, V., Tewari, S.C., Manavalan, R., Balasubramanian, A. & Gajanana, A. (2000) - "Natural vertical transmission of dengue viruses in *Aedes aegypti* in southern India". *Trans R Soc Trop Med Hyg.*, 94: 507.
45. Thenmozhi, V., Hiriyani, J.G., Tewari, S.C., Philip Samuel, P., Paramasivan, R., Rajendran, R., Mani, T.R. & Tyagi, B.K. (2007) - "Natural vertical transmission of dengue virus in *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Kerala, a southern Indian state". *Jpn J Infect Dis.*, 60: 245-249.
46. Vasilakis, N. & Weaver, S.C. (2008) - "The history and evolution of human dengue emergence". *Adv Virus Res.*, 72: 1-76.
47. Vasilakis, N., Cardosa, J., Hanley, K.A., Holmes, E.C. & Weaver, S.C. (2011) - "Fever from the forest: prospects for the continued emergence of sylvatic dengue virus and its impact on public health". Author manuscript; *Nat Rev Microbiol.*, 9: 532-541.
48. Wang, E., Ni, H., Xu, R., Barrett, A.D., Watowich, S.J., Gubler, D.J. & Weaver, S.C. (2000) - "Evolutionary relationships of endemic/epidemic and sylvatic dengue viruses". *J Virol.*, 74: 3227-3234.
49. Welsch, S., Miller, S., Romero-Brey, I., Merz, A., Bleck, C.K., Walther, P., Fuller, S.D., Antony, C., Krijns-Locker, J. Bartenschlager, R. (2009) - "Composition and three-dimensional architecture of the dengue virus replication and assembly sites". *Cell Host Microbe.*, 5: 365-375.
50. White, G.B. (2003) - "Mosquitoes". In: Cook GC e Zumla A. Eds. *Manson's Tropical Diseases*, Appendix IV, Medical Acarology and Entomology. 21ª edição, W.B. Saunders, Elsevier Science, Ltd, Londres, Reino Unido.
51. WHO (1997) - *Dengue haemorrhagic fever: diagnosis, treatment, prevention and control*. World Health Organization, 2ª edição. Geneva, Suíça.
52. WHO (2008) - *Dengue and dengue haemorrhagic fever. Factsheet N°117*, revisão de maio de 2008. Geneve, World Health Organization, (disponível em <http://www.who.int/mediacentre/factsheet/fs117/en/>).
53. WHO (2009) - *Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control*. Geneva, World Health Organization, Geneva, Suíça.
54. WHO (2012) - *Handbook of clinical management of dengue*. Geneva, World Health Organization, Geneva, Suíça.
55. Wiwanitkit, V. (2009) - "Unusual mode of transmission of dengue". *J Infect Dev Ctries.*, 4: 51-54.
56. Yee, D.A. (2008) - "Tires as habitats for mosquitoes: a review of studies within the eastern United States". *J Med Entomol.*, 45: 581-593.
57. Normile D. (2013) - "Tropical medicine. Surprising new dengue virus throws a spanner in disease control efforts". *Science*, 342(6157):415