



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E BIOLOGIA
MOLECULAR**

**MÉTODOS DIAGNÓSTICOS PARA O VÍRUS MAYARO: REVISÃO
SISTEMÁTICA E AVALIAÇÃO MOLECULAR EM PACIENTES ARBOVIROSE
LIKE EM UNIDADE MUNICIPAL DE SAÚDE DE GOIÂNIA-GOIÁS**

Discente: Gabrielly Regis Abrantes

Orientadora: Profa. Dra. Elisângela de Paula Silveira Lacerda

GOIÂNIA, 2020

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR
VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES
NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o(a) autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. **Identificação do material bibliográfico:** *Dissertação* *Tese*

2. **Identificação da Tese ou Dissertação:**

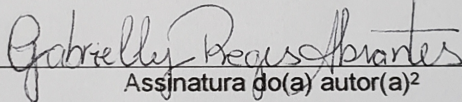
Nome completo do(a) autor(a): Gabrielly Regis Abrantes

Título do trabalho: MÉTODOS DIAGNÓSTICOS PARA O VÍRUS MAYARO: REVISÃO SISTEMÁTICA E AVALIAÇÃO MOLECULAR EM PACIENTES ARBOVIROSE LIKE EM UNIDADE MUNICIPAL DE SAÚDE DE GOIÂNIA-GOIÁS

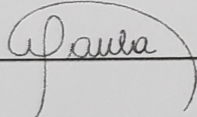
3. **Informações de acesso ao documento:**

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

Independente da concordância com a disponibilização eletrônica, é imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.


Assinatura do(a) autor(a)²

Ciente e de acordo:



Assinatura do(a) orientador(a)²

Data: 11 / 04 / 2020

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante: a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a); b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação. O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Versão GRT_BC_fev_2020

² As assinaturas devem ser originais sendo assinadas no próprio documento. Imagens coladas não serão aceitas.

GABRIELLY REGIS ABRANTES

**MÉTODOS DIAGNÓSTICOS PARA O VÍRUS MAYARO: REVISÃO SISTEMÁTICA E
AVALIAÇÃO MOLECULAR EM PACIENTES ARBOVIROSE LIKE EM UNIDADE MUNICIPAL
DE SAÚDE DE GOIÂNIA-GOIÁS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Profa. Dra. Elisângela de Paula Silveira Lacerda

GOIÂNIA 2020

, Gabrielly Regis Abrantes

MÉTODOS DIAGNÓSTICOS PARA O VÍRUS MAYARO: REVISÃO SISTEMÁTICA E AVALIAÇÃO MOLECULAR EM PACIENTES ARBOVIROSE LIKE EM UNIDADE MUNICIPAL DE SAÚDE DE GOIÂNIA-GOIÁS [manuscrito] / Gabrielly Regis Abrantes . - 2020. CVII, 107 f.: il.

Orientador: Profa. Dra. Elisângela de Paula Silveira-Lacerda; co orientadora Dra. Carlos Eduardo Anuniação.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, Goiânia, 2020.

Bibliografia. Anexos.

Inclui siglas, abreviaturas, símbolos, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Mayaro. 2. arbovirus. 3. diagnóstico molecular. I. de Paula Silveira-Lacerda, Elisângela , orient. II. Título.

CDU 577.2



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Ata nº 78 da sessão de Defesa de Dissertação de GABRIELLY REGIS ABRANTES, que confere o título de Mestre(a) em GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR, na área de concentração em Genômica funcional, estrutural e proteômica.

Ao/s dezessete dia do mês de fevereiro do ano de dois mil e vinte, a partir da(s) 14 horas, no(a) anfiteatro do ICB III, realizou-se a sessão pública de Defesa de Dissertação intitulada “MÉTODOS DIAGNÓSTICOS PARA O VÍRUS MAYARO: REVISÃO SISTEMÁTICA E AVALIAÇÃO MOLECULAR EM PACIENTES ARBOVIROSE LIKE EM GOIÂNIA, GOIÁS”. Os trabalhos foram instalados pelo(a) Orientador(a), Professor(a) Doutor(a) ELISÂNGELA DE PAULA SILVEIRA LACERDA (ICB/UFG) com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Professor(a) Doutor(a) FÁTIMA MRUE (FM/UFG), membro titular externo; GUILHERME ROCHA LINO DE SOUZA (ICB/UFG), membro titular externo. Durante a arguição os membros da banca fizeram sugestão de alteração do título do trabalho. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Dissertação, tendo sido a candidata aprovada pelos seus membros. Proclamados os resultados pela Professora Doutora ELISÂNGELA DE PAULA SILVEIRA LACERDA, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, aos dezessete dia do mês de fevereiro do ano de dois mil e vinte, às 17 horas.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA

MÉTODOS DIAGNÓSTICOS PARA O VÍRUS MAYARO: REVISÃO SISTEMÁTICA E AVALIAÇÃO MOLECULAR EM PACIENTES ARBOVIROSE LIKE EM UMA UNIDADE MUNICIPAL DE SAÚDE DE GOIÂNIA-GOIÁS”



Documento assinado eletronicamente por Elisângela De Paula Silveira Lacerda, Professor do Magistério Superior, em 17/02/2020, às 16:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por Guilherme Rocha Lino De Souza, Professor do Magistério Superior, em 17/02/2020, às 16:54, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

Documento assinado eletronicamente por FATIMA MRUE, Usuário Externo, em 17/02/2020.



às 16:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 1167309 e o código CRC 81BF6B07.

Referência: Processo nº 23070.000383/2020-40

SEI nº 1167309

Aos meus pais Celenilda Regis Braga Abrantes e Milton
Aparecido Abrantes, que sempre deram apoio e suporte em
minhas decisões com muito amor e paciência.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora Elisângela de Paula Silveira Lacerda por me dar a oportunidade de fazer parte deste grupo de pesquisa e do laboratório incrível que é o LGMC.

Sou grata a minha família por apoiarem minhas decisões, me incentivarem e por toda paciência, meus agradecimentos a Celenilda, Milton e Rafael.

A minhas amigas que sempre estiveram do meu lado nos melhores e piores dias, Camila, Nathália, Anna e Bruna.

Ao grupo QuantiZika, agradeço pelas tardes de reuniões enriquecedoras e todo apoio dos professores e ótimos alunos.

A todos do LGMC que direta ou indiretamente colaboraram para meu crescimento como pessoa e como aluna, em especial aos companheiros de jornada diária, Elisângela, Paula, Rebeca, Marina, Adriano, Jordana, Thallita.

A Universidade Federal de Goiás e ao Programa de Pós Graduação em Genética e Biologia Molecular pela disponibilidade de um curso com ótima base para uma formação acadêmica e científica.

A CAPES e FAPEG pelo financiamento e apoio.

“Viver é enfrentar um problema atrás do outro. O modo como você o encara é que faz a diferença”.

Benjamin Franklin

SUMÁRIO

1. REFERENCIAL TEÓRICO	1
1.1.Gênero Alphavírus.....	1
1.2.V í r u s Mayaro.....	1
1.3.C i c l o R e p l i c a t i v o Viral.....	6
1.4.Vetor, Reservatórios e Ciclo de Transmissão.....	7
1.5.Patogenia.....	8
1.6.D i a g n ó s t i c o Laboratorial.....	9
CAPÍTULO 1	13
INTRODUÇÃO.....	14
OBJETIVOS.....	15
METODOLOGIA.....	15
RESULTADOS.....	17
DISCUSSÃO.....	21
CONCLUSÃO.....	22
CAPÍTULO 2	54
INTRODUÇÃO.....	54
OBJETIVOS.....	55
METODOLOGIA.....	55
RESULTADOS.....	55

DISCUSSÃO	60
ANEXOS	
Capítulo 1	45
Capítulo 2	30

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Casos de MAYV relatados no mundo.....	2
Figura 2: Representação genômica dos <i>Alphavirus</i>	3
Figura 3: Classificação filogenética dos <i>Alphavirus</i> com destaque para os genótipos D e L do MAYV.....	5
Figura 4: Mecanismo de replicação do vírus Mayaro.....	6
Figura 5: Ciclos de Transmissão do vírus Mayaro.....	7
Figura 6: Patogênese dos Alphavirus em associação à artralgia.....	9
Figura 7: Representação do vírion dos <i>Alphavirus</i>	11
Figura 8: Eletroforese em Gel de Agarose para MAYV.....	60
Figura 9: Gel de Agarose controle chikungunya.....	61
Figura 10: Análise estatística por meio da ANOVA e testes de comparações múltiplas de Tukey (Paramétrico).....	68
Figura 11: Análises Filogenéticas por máxima verossimilhança.....	72
Figura 12: Análises Filogenéticas por máxima verossimilhança.....	73

LISTA DE TABELAS E ANEXOS

Tabela 1: Proteínas Relacionadas ao ciclo replicativo viral dos Alphavirus.....	3
Tabela 2: Níveis de sintomas referentes ao diagnóstico diferencial das arboviroses.....	8
Tabela 3 : Termociclagem da PCR para MAYV.....	17
Tabela 4: Critérios dos artigos selecionados para a revisão sistemática.....	18
Tabela 5: Resultados das amostras positivas para MAYV e co-infecções, com resultados laboratoriais de hemogramas disponíveis para análise.....	57
ANEXO : Valores de referência para Hemogramas segundo o PNCQ.....	89
ANEXO : Acesso de todas as sequências usadas neste estudo.....	90

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

C, E3, E2, 6K, e E1- Proteínas estruturais

(C – capsideo, E3 – envelope3, E2 – envelope 2, 6K, E1 – envelope 1)

DENV – Vírus do Dengue

EEE – Vírus da Encefalite Equina Oriental

ELISA – Ensaio Enzimático de Imunoadsorção.

IgG – Imunoglobulinas da Classe G

IgM – Imunoglobulinas da Classe M

LGMC - Laboratório de Genética Molecular e Citogenética

MAYV - Vírus do Mayaro

NS1, nsP1, – Proteína Não Estrutural 1

ONNV – Vírus O’Nyong-Nyong

PRNT - Neutralização de Redução de Placas

RNA – Ácido Ribonucleico

RT-PCR - Reação em Cadeia da Polimerase precedida da Reação da Transcriptase Reversa

RT-qPCR - Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real precedida da Reação da Transcriptase Reversa

UFG – Universidade Federal de Goiás

ZIKV – Vírus do Zika

DM- Percentagem

RESUMO

As doenças causadas pelos vírus são consideradas um problema de saúde pública muitas vezes negligenciadas que acometem milhares de pessoas em todo o mundo, todos os anos. Sintomas como febre, artralgia e exantema. classificam pacientes como dengue sindrômicos ou arbovirose *like*. O diagnóstico diferencial das arboviroses se dá por técnicas sorológicas e moleculares. O presente estudo teve como escopo a avaliação de técnicas diagnósticas em estudos publicados na literatura com objetivo de elaborar uma Revisão Sistemática da Literatura sobre a detecção do vírus Mayaro que possibilite aos profissionais de saúde realizar um diagnóstico laboratorial eficiente, assim como a aplicação de testes moleculares para o diagnóstico do MAYV. A literatura disponível foi avaliada por revisão sistemática, com foco no diagnóstico do vírus Mayaro em humanos e suas metodologias. A revisão sistemática foi feita por meio de estudo exploratório nas bases de dados: Scielo (Scientific Electronic Library Online), Medline (Medical Literature Analysis and Retrieval System Online), Scopus database, PubMed, LILACS no período de 8 de junho de 2019 a 02 de novembro de 2019, selecionando artigos científicos de acordo com os critérios da recomendação PRISMA (2009). Os dados mostraram que a circulação do vírus Mayaro em regiões urbanas já é bem estabelecida em todo o mundo e que é frequente o diagnóstico errôneo devido aos sintomas semelhantes com outras arboviroses. Há uma ampla utilização de métodos variados ao passar do tempo no diagnóstico para esta arbovirose, sendo necessário maiores pesquisas para a implementação de um método padronizado, sensível e específico. Em um segundo momento da pesquisa, entre maio a agosto de 2017 e janeiro a junho de 2018, foram triados 452 amostras de pacientes com sintomas dengue sindrômicos (arboviroses *like*). As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Genética Molecular e Citogenética da Universidade Federal de Goiás, onde foram submetidos a triagem molecular por Reação da Cadeia de Polimerase seguida de reação da Transcriptase Reversa (RT-PCR). Todos os casos positivos para a primeira PCR foram confirmados na RT-qPCR para detecção viral. Treze amostras positivas foram para ambos os testes e assim foram submetidas ao sequenciamento Sanger. Neste estudo experimental 17 amostras foram positivas para a infecção por vírus Mayaro (RT-PCR e RT-qPCR), e também foram encontradas co-infecções com o vírus Dengue por uma triagem molecular feita em paralelo para o vírus Dengue por RT-PCR e RT-qPCR. As amostras positivas para MAYV/DENV foram analisadas filogeneticamente, sugerindo circulação de Dengue sorotipo 2 e uma linhagem Peruana do Vírus Mayaro (linhagem IQ 4235) em Goiânia.

Palavras chave: Mayaro, arbovirus, diagnóstico laboratorial, diagnóstico molecular, Reação em Cadeia da Polimerase.

ABSTRACT

Diseases caused by viruses are considered an often neglected public health problem that affects thousands of people worldwide, every year. Symptoms like fever, arthralgia and rash. classify patients as syndromic dengue or arbovirus like. The differential diagnosis of arbovirose is by serological and molecular techniques. The present study aimed to evaluate diagnostic techniques in studies published in the literature in order to develop a Systematic Literature Review on the detection of the Mayaro virus that allows health professionals to carry out an efficient laboratory diagnosis, as well as the application of molecular tests for the diagnosis of MAYV. The available literature was evaluated by systematic review, focusing on the diagnosis of the Mayaro virus in humans and its methodologies. The systematic review was carried out through an exploratory study in the databases: Scielo (Scientific Electronic Library Online), Medline (Medical Literature Analysis and Retrieval System Online), Scopus database, PubMed, LILACS from June 8, 2019 to 02 November 2019, selecting scientific articles according to the criteria of the PRISMA (2009) recommendation. The data showed that the circulation of the Mayaro virus in urban regions is already well established worldwide and that the misdiagnosis is frequent due to similar symptoms with other arboviruses. There is a wide use of varied methods over time in the diagnosis for this arbovirus, requiring further research to implement a standardized, sensitive and specific method. In a second stage of the research, between May to August 2017 and January to June 2018, 452 samples of patients with syndromic dengue symptoms (arboviruses like) were screened. The samples were sent to the Molecular Genetics and Cytogenetics Laboratory of the Federal University of Goiás, where they were subjected to molecular screening by Polymerase Chain Reaction followed by Reverse Transcriptase (RT-PCR) reaction. All positive cases for the first PCR were confirmed on RT-qPCR for viral detection. Thirteen positive samples went through both tests and thus were subjected to Sanger sequencing. In this experimental study, 17 samples were positive for the Mayaro virus infection (RT-PCR and RT-qPCR), and co-infections with the Dengue virus were also found by molecular screening carried out in parallel for the Dengue virus by RT-PCR and RT-qPCR. The positive samples for MAYV / DENV were analyzed phylogenetically, suggesting circulation of Dengue serotype 2 and a Peruvian strain of Mayaro Virus (strain IQ 4235) in Goiânia.

Keywords: Mayaro, arbovirus, laboratory diagnosis, molecular diagnosis, Polymerase Chain Reaction.

1.0 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 GÊNERO *ALPHAVÍRUS*

Pertencente à família *Togaviridae*, esse gênero compreende 29 espécies em 10 complexos baseados na similaridade genética ou antigênica, características morfológicas virais e caracterização dos mecanismos de replicação. A maioria destes vírus são transmitidos via mosquitos passíveis de adaptação a hospedeiros humanos e animais domésticos causando patologias (NASAR *et al.*, 2012; PORTERFIELD; TRENT, 1985) .

A localização geográfica de ocorrência dos vírus e principais sintomas são parâmetros para o agrupamento dos *Alphavirus*. Os vírus de maior importância clínica são os do *Old World* (velho mundo) que causam epidemias e surtos, sendo eles: Vírus Ross River (RVV), Chikungunya (CHIKV), Vírus Barmah Forest (VFB), Vírus O'nyong-nyong (ONNV), Mayaro Vírus (MAYV), Vírus Sindibis (SINV) e Semliki Forest Vírus (SFV). Os sintomas são comuns entre os Old World como febre e mialgias persistentes (TAYLOR, 2005)

Surtos de encefalite e artrite em equinos registrados nos séculos XVIII e XIX na América do Norte e Ásia foram os primeiros achados dos *Alphavirus* e nos Estados Unidos houveram mais de 50 mortes documentadas em animais (HANSON, 1957; TESH, 1982; SABATTIN *et al.*, 1985).

A maioria dos *Alphavirus* são patogênicos e causam infecções em humanos, duas exceções de *Alphavirus* infectam peixes e não são transmitidos via mosquitos: *Salmon Pancreatic Disease Virus* (SPDV) e *Sleeping Disease Virus* (SDV) (DINITS-PENSY *et al.*, 2005).

1.2 VÍRUS MAYARO

O vírus Mayaro (MAYV), foi isolado pela primeira vez na América Central em Trinidad em 1954 e é compreendido filogeneticamente no complexo *Semliki forest* dos *Alphavirus*. O MAYV se tornou uma preocupação atual de saúde pública, devido a mutações que permitiram adaptação em vetores antropofílicos se disseminando principalmente em países de clima tropical, em ambientes urbanos e próximos a regiões florestais (MOURÃO *et al.*, 2012).

O vírus Mayaro pertence ao gênero *Alphavirus* da família *Togaviridae*. Tem como vetor principal o mosquito *Haemagogus janthinomy* em áreas de floresta e se tornou uma preocupação urbana, com infecções detectadas no Brasil, Venezuela e Peru. A infecção pelo vírus Mayaro é considerada como diagnóstico diferencial frente à Dengue, Chikungunya e Zika vírus (BRUNINI *et al.*, 2017; TERZIAN *et al.*, 2015a). A figura 1 mostra a distribuição mundial de casos MAYV no mundo e o período em que foi detectado em tais regiões.

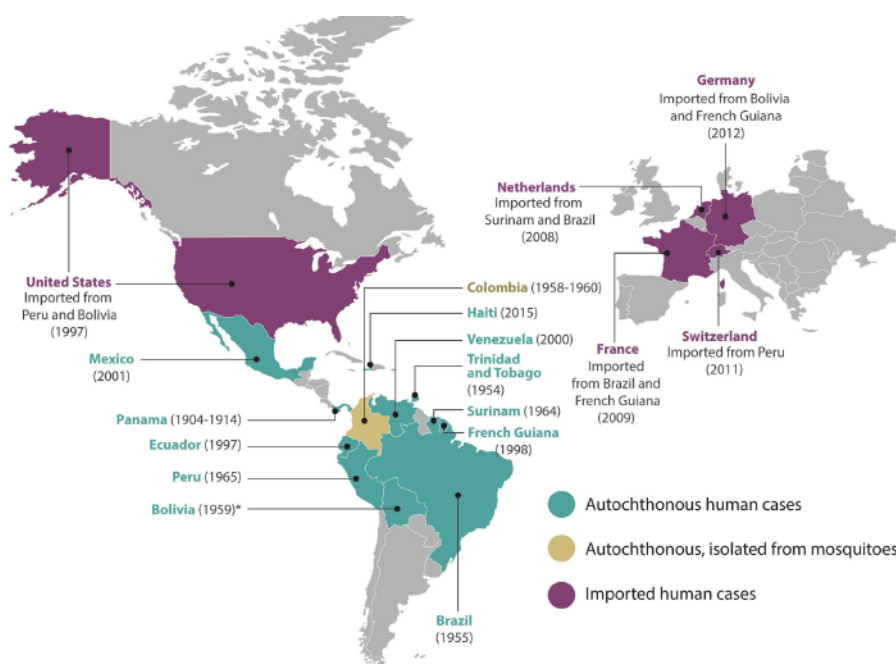


Figura 1:

Casos de MAYV relatados no mundo. Fonte: (ACOSTA-AMPUDIA *et al.*, 2019).

Os *Alphavirus* são vírus de RNA com polaridade positiva e fita única (apresenta a mesma orientação do RNA mensageiro humano, sendo traduzido diretamente no ribossomo), com 11.5kb de extensão. O RNA viral codifica proteínas estruturais e não estruturais que se relacionam na replicação, patogênese e composição viral (JOSE; KUHN, 2010).

As proteínas estruturais relacionadas ao capsídeo E1, E2, E3, C e 6K são derivadas da clivagem de uma poliproteína traduzida a partir de um RNA subgenômico 26S. A poliproteína P1234 é responsável pela formação das proteínas não estruturais após sua clivagem, sendo elas nsP1, nsP2, nsP3, nsP4 (NAPOLEÃO-PEGO *et al.*, 2014). A figura 2 traz a representação genômica dos *Alphavirus*.

Sequências conservadas podem ser observadas nos Alphavirus, nas extremidades 5' e 3' e na região intergênica. Os elementos de sequência repetidos conservados (RSEs) estão presentes na região 3' não traduzida (UTR) entre os Alphavirus. Os domínios conservados têm uma função essencial na regulação da síntese de RNA viral (KHAN *et al.*, 2019).

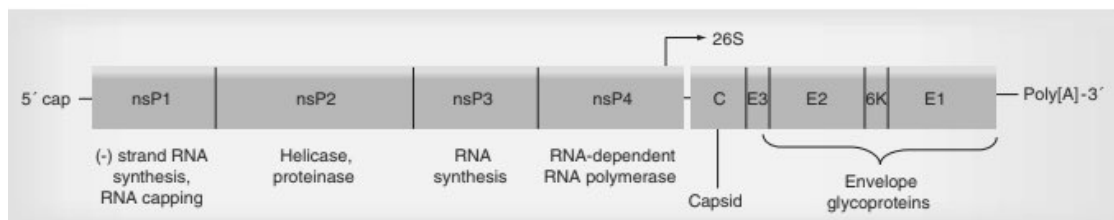


Figura 2: Representação genômica dos Alphavírus (AUGUSTE *et al.*, 2015).

Tipo de proteína	Proteínas	Tamanho (aa)	Função
Proteínas não estruturais	nsP1	540	Metiltransferase e guanililtransferase; complexo âncora replicase para membranas.
	nsP2	807	NTPase, helicase, RNA trifosfatase, protease responsável pelo processamento da poliproteína não estrutural.
	nsP3	556	Fosfoproteína com função desconhecida, mas importante para a síntese de cadeia negativa; contém domínio macro e regiões ligantes-SH3.
	nsP4	610	RNA dependente de RNA polimerase RdRp), transferase terminal.
Proteínas estruturais	C	264/	Serina protease para formar nucleocapsídeo e core; domínio carboxil é uma serinaprotease autocatalítica.
	E3	64	Domínio N terminal é o peptídeo sinal de clivagem para E2; E3+E2=pE2.
	E2	423	Apresenta os principais epítopos de neutralização e é responsável pela ligação ao receptor .
	6K	55	Principal peptídeo sinal para a E1, montagem da partícula viral (brotamento).
	TF	70	Proteína TransFrame, canal de íons, aumenta a infectividade das partículas.
	E1	439	Responsável pela atividade de fusão de membrana.

Tabela 1 : Proteínas Relacionadas ao ciclo replicativo viral dos Alphavirus. Fonte: (SILVA, 2014).

Em análises filogenéticas das espécies do gênero, as semelhanças em sequências de proteínas chegam a 60% e 45% entre proteínas estruturais e não estruturais, respectivamente. A principal proteína utilizada como base na diferenciação das espécies é a E1, utilizada para comparação e diferenciação

de sequências específicas do gene desta proteína em cada espécie (ZUCHI *et al.*, 2014).

As proteínas estruturais fazem parte das partículas virais, sendo essenciais no processo da encapsulação do nucleocapsídeo. A proteína C tem papel importante nesse evento que garante a reprodutibilidade viral. A proteína 6K tem papel na construção do virion e altera a permeabilidade de membrana funcionando como canal iônico. E1 é uma proteína de envelope que auxilia a adsorção à célula do hospedeiro. A proteína E2 é essencial na imunogenicidade e tropismo viral ao hospedeiro; porém, seu mecanismo ainda não é completamente elucidado. A tabela 1 resume as principais funções destas proteínas (RÜCKERT *et al.*, 2017).

O vírus Mayaro apresenta genótipos diferentes, o genótipo D foi isolado em Trinidad e Tobago e na América do Sul, o genótipo L foi isolado apenas no Brasil com poucas diferenças em comparação ao primeiro genótipo (PEREIRA SERRA *et al.*, 2016; POWERS, ANNA M ; AGUILAR, 2006). Powers (2006) ainda sugere uma expansão viral do MAYV devido a circulação contínua nas áreas tropicais da América do Sul, corroborando com Auguste (2015) que descreve o Genótipo N anos depois, como um genótipo com distância intermediária entre D e L.

A caracterização genética do vírus contribui para a solução de possíveis questões que não foram esclarecidos por estudos sorológicos, patológico e epidemiológicos desse vírus, que não adicionam informações genéticas, sendo assim de grande importância no âmbito molecular, taxonômica constituindo possíveis métodos diagnósticos (SAMPATH; PADMANABHAN, 2010). Na figura 3 são demonstrados os genótipos D e L do vírus Mayaro, que pertencem ao complexo *Semliki Forest*.

Figura 3: Classificação filogenética dos *Alphavirus* com destaque para os genótipos D e L do MAYV. Fonte: (POWERS, 2006).



1.3 CICLO REPLICATIVO VIRAL

Carvalho et al. (2017) demonstraram que a entrada do MAYV nas células se dá pela via endocítica para alcançar o citosol mediada pela clatrina numa via principal e caveolina em via secundária, necessitando de baixo pH para que a fusão à membrana seja realizada, mecanismo caracterizado na figura 4. Em experimento com sondas fluorescentes, pôde visualizar e quantificar o tempo que esse vírus leva para a fusão completa com a célula, sendo constatado que o MAYV leva em média 3 minutos para realizar esse processo, sendo mais rápido que DENV e influenza usados como exemplo, que levam média de 10 min para atingir o citosol (CARVALHO *et al.*, 2017).

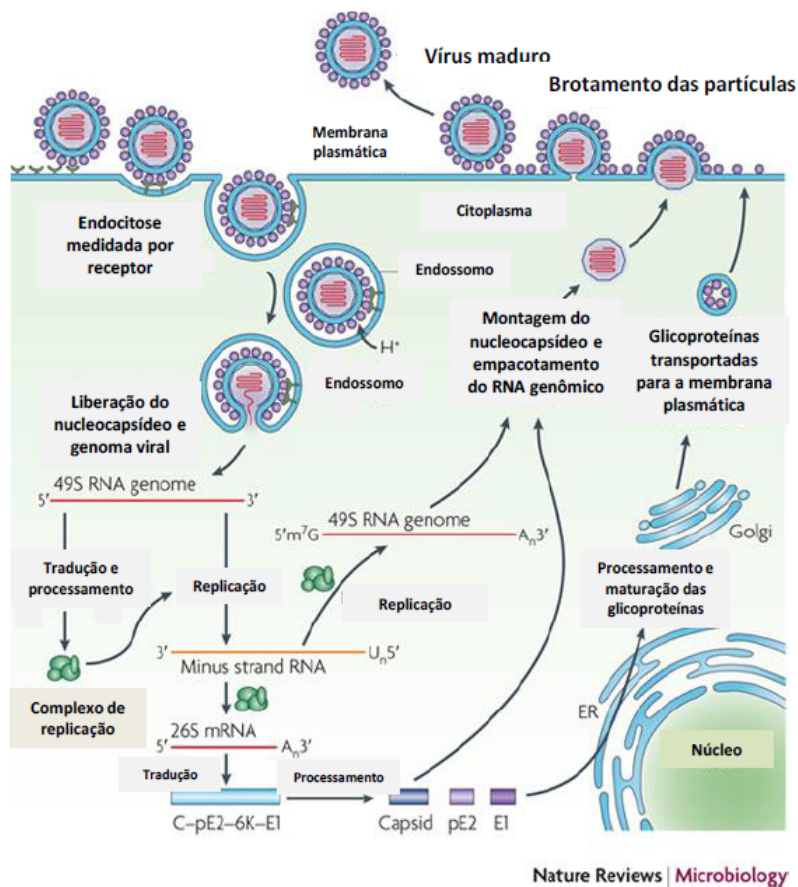


Figura 4: Mecanismo de replicação do vírus Mayaro. Fonte: (REZENDE, 2018).

Ao entrar em contato com a corrente sanguínea, o vírus libera suas partículas em até 6 horas, as proteínas facilitadoras de adsorção E1 e 6K participam do processo. Há assim produção de metabolitos e modificações de membrana plasmática, como diminuição de tamanho celular, mudanças conformacionais, e apoptose entre 24 e 48h (CARRASCO, 1985; OEIRAS DE CASTRO, 2015).

Na inoculação feita a partir de mosquito infectado em modelo animal por ASSUNÇÃO-MIRANDA; CRUZ-OLIVEIRA; POIAN (2013) mostram respostas imunológicas e regiões principalmente afetadas pelos Alphavirus, como fígado, linfonodos e baço. A ativação de células imunológicas e a proliferação viral em locais alvo como células sinoviais se associa aos principais sintomas.

1.4 VETOR, RESERVATÓRIO, CICLO DE TRANSMISSÃO

O agente transmissor do vírus em regiões de floresta, é o mosquito *Haemagogus janthinomy*. A expansão do vírus para as regiões urbanas se deu

através da adaptação da infecção do mosquito *Aedes aegypti*, que é presente tanto em regiões selvagens como urbanas, sendo assim descrito como epidêmico, devido a sua alta plasticidade de hospedeiros e adaptação ao ciclo urbano (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016; NAPOLEÃO-PEGO *et al.*, 2014) (MAVIAN *et al.*, 2017).

Abad-Franch *et al.* (2012) descreveram uma análise de fatores de risco na Amazônia, que a exposição humana nessa região sugere troca de vetores e seus habitats, alterando ciclos diurnos selvagens e noturnos em casas e arredores, adaptando assim o vetor em áreas populosas (ABAD-FRANCH *et al.*, 2012). A figura 5 retrata os ciclos de transmissão do MAYV.

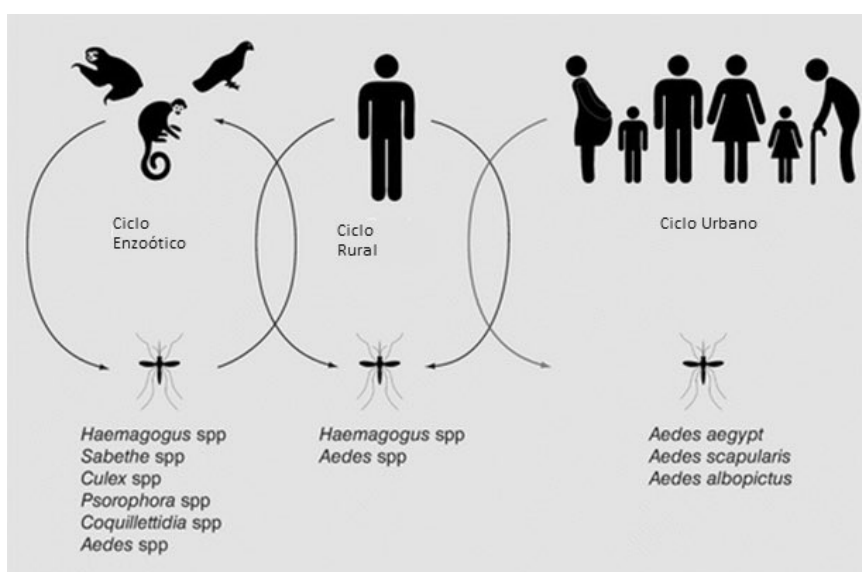


Figura 5: Ciclos de Transmissão do vírus Mayaro. (Adaptação de Mota *et al.*, 2015).

No ciclo de transmissão enzoótico, primatas e demais vertebrados são hospedeiros e mosquitos de gêneros diversos, os vetores. No ciclo rural, pessoas em ambientes selvagens são infectadas por mosquitos circulantes. O ciclo urbano do vírus se estabeleceu após a adaptação dos mosquitos nos ambientes de cidades, principalmente do gênero *Aedes* sp (TASSO *et al.*, 2015a).

Estudos relatam achados de MAYV infectando outros vetores, como mosquitos do gênero *Culex* e *Aedes albopictus*, que é considerado vetor secundário da doença em ciclos selvagens (LONG *et al.*, 2011; PEREIRA SERRA *et al.*, 2016). Primatas, aves e répteis são exemplos de animais reservatórios deste vírus (NAPOLEÃO-PEGO *et al.*, 2014) e humanos são considerados os principais hospedeiros amplificadores de vírus transmitidos pelos mosquitos *Aedes* spp e *Haemagogus* spp (CHANDLER *et al.*, 2018).

1.5 PATOGENIA

A infecção por Alphavirus é caracterizada por fortes artralguas de longa duração consideradas incapacitantes (SUHRBIER et al., 2012). Essas infecções são confundidas por sintomas semelhantes às outras arboviroses, devido ao estabelecimento do vetor em áreas de circulação comum a outras doenças como a dengue (WANG et al., 2006a).

Os sintomas de uma infecção por Alphavirus, são geralmente limitados e não letais, incluindo febre, dores de cabeça, vômitos ocasionais e artralgia persistente, sendo inespecíficos e de difícil diagnóstico clínico (Tabela 2) (KUBE et al., 1999; YUE et al., 2019).

SINTOMAS	ZIKV	DENV	CHIKV	MAYV
FEBRE	LEVE	ALTA	ALTA	ALTA
ARTRALGIA	MODERADO	MODERADO	ALTA	ALTA
PRURIDO	MODERADO	MODERADO	LEVE	LEVE
EDEMA	AUSENTE	MODERADO	ALTO	ALTO
HEMORRAGIA	AUSENTE	LEVE	AUSENTE	AUSENTE

Tabela 2: Níveis de sintomas referentes ao diagnóstico diferencial das arboviroses.
Fonte: (AZEVEDO et al., 2009; MOURÃO et al., 2012; TERZIAN et al., 2015a).

No trabalho de Assunção et. al. (2013), eles descrevem a patogênese dos Alphavirus em associação à artralgia. Na inoculação feita a partir de mosquito infectado em modelo animal, se observou respostas imunológicas e regiões principalmente afetadas pelos Alphavirus, como fígado, linfonodos e baço. A ativação de células imunológicas e a proliferação viral em locais alvo como células sinoviais se associam aos principais sintomas como artralgia e mialgia devido ao acúmulo de células causando inchaço e dores (Figura 6).

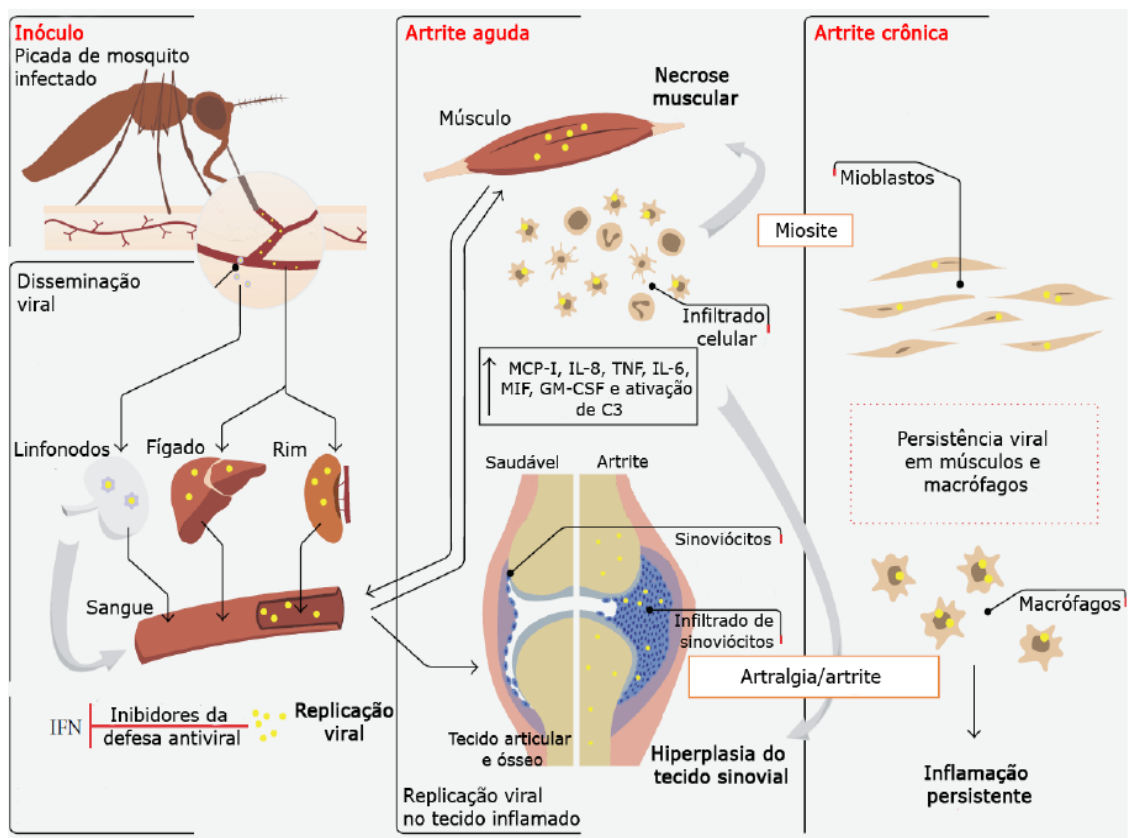


Figura 6: Patogênese dos Alphavirus em associação à artralgia. Fonte: (FUMAGALLI, 2018).

1.6 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

1.6.1 ASPECTOS HEMATOLÓGICOS DAS INFECÇÕES POR ALPHAVIRUS

A fase aguda da infecção por MAYV apresenta alterações hematológicas relacionadas ao acometimento do fígado e baço que são refletidas em alterações leucocitárias (ASSUNÇÃO-MIRANDA; CRUZ-OLIVEIRA; POIAN, 2013). São relatados parâmetros leucopênicos e trombocitopênicos em infecções por MAYV, sendo estes semelhantes à infecções por DENV, sugerindo que testes adicionais ao hemograma devem ser realizados para diagnóstico diferencial (ACHEE *et al.*, 2015).

O acometimento dos linfonodos e a disseminação pela microvasculatura na infecção por Alphavirus refletem nos exames hematológicos em fase aguda com leucopenia e o alto processo inflamatório artritogênico podendo evoluir para doenças reumatóides, sendo assim possível a identificação de anticorpos como o fator reumatóide (ASSUNÇÃO-MIRANDA; CRUZ-OLIVEIRA; POIAN, 2013).

Além da leucopenia, trombocitopenia e leve albuminúria são descritas, juntamente com aumento na taxa de sedimentação eritrocitária e linfocitose moderada (TASSO et al., 2015). Como exemplo, em um surto relatado em Ilha da Reunião (Departamento Francês) foram descritos casos com manifestações hemorrágicas, hematúria e hemoptose, além de baixa contagem plaquetária (trombocitopenia) e alta prevalência de linfopenia. (BORGHERINI et al., 2007).

1.6.2. DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO E MOLECULAR PARA O VÍRUS MAYARO

A divisão de doenças transmitidas por vetores do CDC (Centers for Disease Control and Prevention) nos Estados Unidos, desenvolveu um algoritmo para auxiliar o diagnóstico de forma otimizada das arboviroses a partir do tempo de aparecimento dos sintomas e a melhor técnica a ser empregada, onde a negativa para todos esses testes podem dirigir a uma possibilidade de teste para MAYV (CDC 2016).

Robert et al. (2004) utilizaram a técnica de RT-PCR com primers específicos e obteve através da nested PCR a possibilidade de diagnosticar e diferenciar os *Alphavirus* em circulação no Brasil, incluindo MAYV com sensibilidade e especificidade, facilitando assim o diagnóstico (BRONZONI et al., 2004b).

A detecção molecular do MAYV é o método mais sensível e específico descrito na literatura e é comumente realizado junto a triagem para as demais arboviroses mais comuns como DENV, ZIKV e CHIKV, e deve ser feito para a possibilidade de detectar co-infecções. Testes sorológicos também têm importância no diagnóstico do vírus em questão, pela detecção de anticorpos antivirais específicos (NEUMAYR et al., 2012; SHARMA et al., 2018).

Brunini et al. (2017), avaliou soro de 75 pacientes em Goiânia, Brasil, após seis dias do início de sintomas característicos, utilizando a técnica MAC ELISA IgM específico para MAYV, onde 56% dos pacientes avaliados foram positivos (BRUNINI et al., 2017).

Em um estudo feito por Zuchi et al. (2014) no estado do Mato Grosso, Brasil, foram selecionados pacientes com sintomas febris agudos para triagem de flavivírus e *Alphavirus* por semi nested RT PCR, posteriormente a distinção das espécies virais foi feita por multiplex semi nested PCR. A identificação

molecular do MAYV nesse estudo foi realizada por primers para a detecção das porções E3 e E2 do envelope viral. A figura 7 mostra o vírion dos *Alphavirus* (ZUCHI *et al.*, 2014).

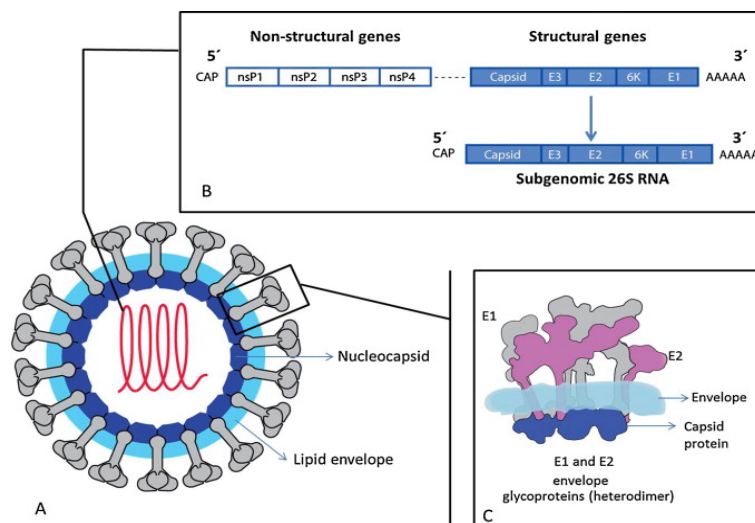


Figura 7: Representação do vírion dos *Alphavirus*. (A) estrutura geral do vírus (B) organização do genoma viral com as regiões estruturais e não estruturais (C) arranjo das glicoproteínas E1 e E2. Fonte:(CAROSSINO *et al.*, 2014).

As regiões utilizadas para a detecção do envelope viral E1 e E2 são o foco de muitos estudos pois existem mutações adaptativas que influenciam na infecciosidade do vírus, onde a função de E1 que é essencial na etapa de penetração dos vírus nas células hospedeiras e E2 importante na fase de adsorção (AZEVEDO; OLIVEIRA; VASCONCELOS, 2015; ZUCHI *et al.*, 2014).

A análise filogenética de sequências de amostras infectadas é feito principalmente para validação de técnicas diagnósticas utilizadas e também confirma que não houve detecção errônea de algum vírus pertencente ao mesmo complexo, apresentando semelhanças genéticas que possam passar sem detecção por alguma destas técnicas(LAVERGNE *et al.*, 2006).

As infecções causadas por Alphavirus e a co-circulação de arboviroses de outros tipos como Dengue e Zika numa área comum são um desafio para o diagnóstico dessas doenças, devido aos sintomas inespecíficos e a dificuldade de se diferenciar as infecções ao se analisar os sintomas apresentados (CAMPOS; BANDEIRA; SARDI, 2015).

Testes considerados “padrão ouro” são preconizados como ferramentas de diagnóstico seguro, sensíveis e específicos para cada arbovirose, sendo ELISA, PRNT, RT-PCR, RT-qPCR os principais testes estabelecidos para as detecções laboratoriais (COIMBRA *et al.*, 2007; GOUANDIJKKA-VASILACHE *et al.*, 2014; HALSEY *et al.*, 2013; SLEGGERS *et al.*, 2016).

CAPÍTULO 1

Métodos Diagnósticos para o Vírus Mayaro: Revisão Sistemática

Resumo

Foi realizada uma revisão sistemática de trabalhos publicados à cerca dos métodos diagnósticos para infecção pelo vírus Mayaro e as implicações para o diagnóstico diferencial esta arbovirose. A partir de um estudo exploratório através de revisão sistemática de literatura por cesso à rede mundial de computadores (wordwide web), nas bases de dados: Scielo (Scientific Eletronic Library Online), Medline (Medical Literature Analysis and Retrieval System Online), Scopus database, PubMed, LILACS que foi realizada no período de 8 de junho de 2019 a 02 de Novembro de 2019, selecionando artigos científicos de acordo com os critérios da recomendação PRISMA (2009), sem restrição

de ano de publicação ou idiomas. Foram encontrados 92 artigos para triagem e dos mesmos foi feita seleção pelos autores para a leitura do texto completo. Dentre esses, 16 trabalhos se encaixaram nos critérios de inclusão. Todos os trabalhos apresentaram metodologias variadas para a detecção do vírus Mayaro. Pode-se verificar que há uma ampla utilização de métodos variados ao passar do tempo no diagnóstico para esta arbovirose, sendo necessário maiores pesquisas para a implementação de um método padronizado, sensível e específico, garantindo maior confiabilidade e padronização nos estudos e que possam ser aplicadas na saúde pública.

Palavras-chave: Arboviroses, Diagnóstico Laboratorial, Mayaro.

INTRODUÇÃO

O vírus Mayaro (MAYV) se tornou uma preocupação urbana, com infecções detectadas no Brasil, Venezuela e Peru. O Vírus Pertence ao gênero *Alphavirus* da família *Togaviridae*. Tem como vetor principal o mosquito do gênero *Haemagogus* e outros gêneros de mosquitos participam do ciclo de manutenção do vírus nas áreas de floresta (ZUCHI *et al.*, 2014).

O homem é considerado um hospedeiro acidental devido ao contato de trabalhadores rurais com áreas de risco de infecção, e devido a mutações que permitiram adaptação em vetores antropofílicos que se disseminaram principalmente em países de clima tropical, em ambientes urbanos e próximos a regiões florestas onde a infecção em humanos foi favorecida (MOURÃO *et al.*, 2012).

A virose causada pelo MAYV se dá de modo sutil, assemelhando-se a outras arboviroses como Chikungunya, sendo diagnosticada erroneamente devido aos sintomas febris, exantemáticos e artrálgicos, sendo considerada como diagnóstico diferencial frente à Dengue, Chikungunya e Zika vírus devido aos sintomas semelhantes a essas doenças (BRUNINI *et al.*, 2017; TERZIAN *et al.*, 2015a)

A caracterização genética do vírus e estudos moleculares contribuem para a solução de possíveis questões que foram deixadas por estudos sorológicos, patológico e epidemiológicos desse vírus, que não adicionam informações genéticas, sendo assim de grande importância no âmbito molecular, taxonômica constituindo possíveis métodos diagnósticos. É importante que a detecção dos vírus não apresente uma reação cruzada, como pode acontecer entre os *Alphavirus* CHIKV e MAYV, devido a circulação desses vírus em regiões comuns e a similaridade genética destes vírus (SAMPATH; PADMANABHAN, 2010).

Esta revisão sistemática tem como objetivo verificar e coletar dados a respeito de infecção do vírus Mayaro no mundo e suas localizações, os métodos utilizados para o diagnóstico laboratorial, identificando-se assim quais são mais utilizados e suas características principais, coletando evidências para que estudos epidemiológicos e diagnósticos possam ser aplicados e melhorados em áreas endêmicas.

OBJETIVO

Analisar as principais técnicas utilizadas para o diagnóstico laboratorial do vírus Mayaro em escala mundial, compondo assim um referencial teórico base para estudos associados ao tema, relacionando os métodos de diagnósticos para MAYV mais frequentes e eficientes.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

A pesquisa teve como foco os dados de: data de publicação, período de desenvolvimento da pesquisa e local, tamanho da amostra, e porcentagem dos diagnósticos laboratoriais positivos para MAYV, fluidos utilizados e a técnica utilizada para tal diagnóstico.

METODOLOGIA

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

A busca de dados de referenciais teóricos foi realizada com base na recomendação PRISMA, nos bancos de dados Scielo (Scientific Electronic Library Online), Medline (Medical Literature Analysis and Retrieval System Online), Scopus database, PubMed, LILACS no período junho de 2019 a novembro de 2019. As listas de referências dos artigos selecionados foram frequentemente analisadas para possíveis achados de estudos não encontrados via banco de dados.

A busca foi feita pelos *strings* (combinação de palavras-chave): Mayaro pcr AND Mayaro outbreak; Mayaro pcr OR mayaro outbreak OR mayaro detection; (Alphavirus detection) OR (Mayaro diagnosis); Mayaro AND molecular AND diagnosis; Mayaro PCR reaction OR Mayaro detection; Mayaro virus diagnosis sem restrições de datas ou idioma nas buscas.

Dois autores independentes prepararam a seleção dos artigos e um terceiro autor ficou responsável pelas divergências encontradas entre os dois autores, tendo um papel de revisar, discutir e selecionar os artigos pertinentes relacionados à pesquisa em relação aos métodos diagnósticos. Segue abaixo os passos que os autores seguiram:

- avaliação individual por cada autor e posteriormente junção dos dados para evitar risco de viés;
- Leitura de títulos e resumos excluindo os estudos que não se encaixavam nos critérios de elegibilidade como: transmissão em mosquitos, utilização de modelos animais, estudos em cultura de células, estudos evolutivos e de atividade antiviral;
- Leitura completa dos textos para elegibilidade ou exclusão a partir dos critérios selecionados.

Para a extração dos dados foi preparado um roteiro para que as análises fossem feitas de modo uniformes e adequadas.

Para critérios de inclusão, entraram no estudo relatos de caso e estudos retrospectivos, sendo:

- (a) Trabalhos que mostraram métodos de detecção de infecções humanas por MAYV.
- (b) Apresentações clínicas características de infecção por arboviroses e utilização de métodos diagnósticos laboratoriais para MAYV por técnicas sorológicas ou moleculares.

Para os critérios de exclusão, foram excluídos:

- (c) Estudos repetidos, revisões, resumos, cartas.
- (d) Estudos que apresentassem os seguintes conteúdos: transmissão em mosquitos, utilização de modelos animais não humanos, estudos relativos à citotoxicidade viral, estudos relacionados à evolução, padronização de técnicas.
- (e) Estudos de atividade antiviral.
- (f) Estudos relacionados à outros vírus

A descrição dos estudos selecionados foi feita pela data de publicação, período de desenvolvimento da pesquisa, local do estudo, tamanho da amostra, porcentagem dos diagnósticos laboratoriais positivos para MAYV, fluidos utilizados na pesquisa e a técnica utilizada para realização do diagnóstico. Esses dados estão descritos no Anexo 1, as buscas utilizando as palavras chave foram feitas em todas as bases de dados, os formulários das bases que não foram encontrados resultados ou resultados com números exorbitantes (>500) não foram registrados. Os Formulários de Condução de cada busca realizada com os artigos enumerados e classificados se encontram no Anexo 2.

RESULTADOS

A tabela 3 mostra um apanhado da seleção de todos os artigos utilizados na revisão sistemática e a quantidade de artigos que foram incluídos para análise de texto total, juntamente com os artigos controle. Foram encontrados 92 artigos conforme assunto selecionado, deles 47 foram selecionados para leitura completa.

Tabela 3: Resumo da análise de todos os trabalhos utilizados na revisão sistemática

Arquivos repetidos n=25		Arquivos excluídos após leitura de título n=21		Arquivos selecionados para Leitura Completa n=46			Arquivos incluídos + Artigos controle n=16	
16	65	8	42	1	39	67	1	67
23	66	10	46	2	40	69	2	70
25	68	17	52	3	41	70	4	74
26	71	18	57	4	43	74	5	77
34	72	19	59	5	44	77	6	82
35	73	22	92	6	48	79	12	90
39	75	24		7	49	81	20	84
45	76	27		9	50	82	21	
47	78	28		11	51	83	37	
54	80	29		12	53	87		
60		30		13	56	88		
64		31		14	58	90		
86		32		15	61	92		
89		33		20	62	84		
91		38		21	63			
				36				
				37				

Tabela 4: Análise geral dos arquivos referentes a revisão sistemática. S.I.:Sem informação.

Autores	País	Período	n	Tipo de estudo	Tipo de fluido	Metodologia	Região genômica analisada	% MAYV
(FIGUEIREDO ET AL., 1989)	Bolívia	SI	114	Estudo Retrospectivo	Soro	IgM MAC ELISA, ELISA – ICC		62%
(COIMBRA ET AL., 2007)	Brasil	2000	3	Relato de Caso	Soro	RT-PCR	E3 - E2	100%
(FORSHY ET AL., 2010)	Bolívia, Equador, Paraguai, Peru	2000 a 2007	20880	Estudo Retrospectivo	Soro	RT-PCR	E2 - E1	0.192 %
MOURÃO ET AL., 2011	Brasil	2007 a 2008	631	Estudo Retrospectivo	Soro	IgM EIA-ICC, RT-PCR	E1	5.22%
ZUCHI ET AL., 2014	Brasil	2012	604	Estudo Retrospectivo	Soro	multiplex semi-nested PCR espécie específica	NSP1	2.5%
JUNTE ET AL., 1999	Guiana Francesa	1998	1	Relato de Caso	Soro	ELISA: IgM, RT-PCR	E3 - E2	100%
AUGUSTE ET AL., 2015	Venezuela	2010	77	Estudo Retrospectivo	Soro	RT-PCR	E1 - E2	100%
(WHITE ET AL., 2018)	Haiti	2014	82	Estudo retrospectivo	Soro	Isolamento Viral	SI	1,21%

(ALVA-URCIA <i>ET AL.</i> , 2017)	Peru	2016	139	Estudo retrospectivo	Soro	RT-PCR	SI	0
(DA SILVA PESSOA VIEIRA <i>ET AL.</i> , 2015)	Brasil	2011-2012	200	Estudo retrospectivo	soro	Multiplex Nested PCR	SI	3%
(MARTINS <i>ET AL.</i> , 2014)	Brasil	2011	677	Estudo retrospectivo	soro	RT-Nested PCR	Si	0
(ESTOFOLETE <i>ET AL.</i> , 2016A)	Brasil	Si	1	Estudo de Caso	soro	Isolamento Viral – RT PCR	SI	100%
(MOURÃO <i>ET AL.</i> , 2015)	Brasil	1998-1999	8557	Estudo retrospectivo	soro	Mac-ELISA	SI	0.09%
(LLAGONNE-BARETS <i>ET AL.</i> , 2016)	Guiana Francesa	Si	1	Estudo de Caso	soro	in-house MAC ELISA e ELISA indireto e SYBR-Green- RT-PCR	SI	100%
(NAVARRETE-ESPINOSA; GÓMEZ - DANTÉS, 2006)	México	Si	35	Estudo retrospectivo	soro	Isolamento Viral PCR	Si	5,71%
(CRUZ <i>ET AL.</i> , 2009)	Brasil	2007	1597	Estudo retrospectivo	soro	IgM ELISA	Si	1,25%

DISCUSSÃO

A revisão sistemática traz a necessidade da urgência mundial em relação os estudos da viremia da febre Mayaro, que vem atingindo viajantes e residentes de áreas endêmicas. Os casos descritos mostram a grande importância da vigilância e a confirmação da urbanização e capacidade de expansão geográfica viral.

A arbovirose causada pelo MAYV trata-se de uma doença tropical devido a frequência observada em países que se compreendem entre o trópico de câncer e de capricórnio (RÜCKERT et al., 2017; CALDAS et al., 2018), locais onde esse vírus é responsável por surtos de grande importância à saúde pública (LORENZ et al., 2017)

O diagnóstico laboratorial considerado mais confiável é a inoculação *in vitro* do material a ser testado em cérebros de camundongos recém nascidos e/ou cultura de células VERO ou C6/36 de mosquitos do gênero *Aedes albopictus*, sendo assim o isolamento viral a técnica mais indicada para o diagnóstico do MAYV em amostras possivelmente infectadas, devido ao aumento da carga viral e a maior facilidade de detecção (NAPOLEÃO-PEGO et al., 2014).

Os estudos utilizados nesta revisão foram publicadas entre os anos de 1989 a 2019, e os estudos foram conduzidos entre 1989 a 2015. As inclusões contemplaram estudos de caso e estudos retrospectivos com métodos diagnósticos para o vírus Mayaro comprovados laboratorialmente.

Dentre os estudos selecionados, 68% estavam relacionados com estudos retrospectivos. Entre eles, so apenas 2 (ALVA-URCIA *et al.*, 2017; SARDI, 2015; MARTINS *et al.*, 2014) não detectaram o vírus Mayaro, porém os métodos utilizados pelos estudos os tornam elegível para a revisão sistemática, devido aos métodos utilizados para a detecção viral. A maior parte dos estudos foram realizados entre 2012 – 2015 em locais de clima tropical na América do Sul e América Central (COIMBRA et al., 2007; FORSHEY et al., 2010; DE FIGUEIREDO; FIGUEIREDO, 2014; AUGUSTE et al., 2015; SANTIAGO et al., 2015; TERZIAN et al., 2015b).

Um total de 12 dos 16 (75%) estudos se utilizaram de testes moleculares via PCR, uma técnica que fornece resultados rápidos em 24h ou no decorrer da fase aguda, a sensibilidade desta técnica é alta e não há alta porcentagem de ocorrência de reação cruzada como testes sorológicos.

As técnicas sorológicas são amplamente utilizadas devido ao menor custo de realização e fácil reprodução, porém existem desvantagens frente a

técnicas moleculares/isolamento viral, que apesar de serem mais demoradas têm mais exatidão em seus resultados (PINHEIRO 1981, FIGUEIREDO 1989) .

O teste de inibição da hemaglutinação tem execução fácil e baixo custo, porém exige uma segunda coleta de amostra para confirmação de seu resultado, o que torna a execução mais demorada e invasiva para o paciente. Já o teste ELISA tem baixo custo e é amplamente utilizado devido a boa sensibilidade, e com resultados definitivos com apenas uma coleta quando há infecções em fase aguda (NAPOLEÃO-PEGO *et al.*, 2014).

Apesar da facilidade de reprodução e baixo custo, esses testes não são considerados métodos diagnósticos 100% confiáveis por suas metodologias e especificidade, pois ainda não atingem grande parte da população mundial, sendo apenas utilizadas em pesquisas. Ainda não existe nenhum kit de diagnóstico sorológico comercial no mercado para detecção do vírus Mayaro.

A utilização de exames laboratoriais para a detecção segura do vírus MAYV, como a PCR, pode facilitar o diagnóstico de pacientes e também de possíveis coinfeções, diagnósticos que são minimamente assertivos na avaliação das arboviroses no cenário atual.

CONCLUSÃO

A maior parte dos estudos selecionados pela revisão se utilizaram de testes moleculares, mostrando assim que essa técnica é uma ferramenta eficiente e mundialmente empregada frequentemente para detecção em soro de pacientes infectados.

Os testes de diagnósticos mais empregados na detecção do vírus Mayaro são testes sorológicos e moleculares. Esta revisão mostrou que os testes sorológicos caíram em desuso na atualidade devido suas limitações metodológicas, sendo o padrão ouro para o diagnóstico métodos como PCR em tempo real e Isolamento viral em camundongos neonatos. Também foi confirmada a distribuição global do MAYV, principalmente em casos importados de pacientes expostos a áreas tropicais.

REFERÊNCIAS

- ABAD-FRANCH, F.; GRIMMER, G. H.; PAULA, V. S. De; FIGUEIREDO, L. T. M.; LUZ, L. B.; BRAGA, W. S. M. Mayaro Virus Infection in Amazonia : A Multimodel Inference Approach to Risk Factor Assessment. v. 6, n. 10, 2012.
- ACHEE, N. L.; GOULD, F.; PERKINS, T. A.; JR, R. C. R.; MORRISON, C.; RITCHIE, S. A.; GUBLER, D. J.; TEYSSOU, R.; SCOTT, T. W. A Critical Assessment of Vector Control for Dengue Prevention. p. 1–19, 2015.
- ACOSTA-AMPUDIA, Y.; MONSALVE, D. M.; RODRÍGUEZ, Y.; ANAYA, J.; RAMÍREZ-SANTANA, C.; ACOSTA-AMPUDIA, Y.; MONSALVE, D. M.; RODRÍGUEZ, Y.; PACHECO, Y. Mayaro : an emerging viral threat ? Mayaro : an emerging viral threat ? **Emerging Microbes & Infections**, v. 1751, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41426-018-0163-5>>.
- ASSUNÇÃO-MIRANDA, I.; CRUZ-OLIVEIRA, C.; POIAN, A. T. Da. Molecular Mechanisms Involved in the Pathogenesis of Alphavirus-Induced Arthritis. v. 2013, 2013.
- ATHMARAM, T. N.; SARASWAT, S.; SANTHOSH, S. R.; SINGH, A. K.; SURYANARAYANA, V. V. S.; PRIYA, R.; GOPALAN, N. Yeast expressed recombinant Hemagglutinin protein of Novel H1N1 elicits neutralising antibodies in rabbits and mice. p. 1–13, 2011.
- AUGUSTE, A. J.; LIRIA, J.; FORRESTER, N. L.; GIAMBALVO, D.; MONCADA, M.; LONG, K. C.; MORÓN, D.; MANZIONE, N. De; TESH, R. B.; HALSEY, E. S.; KOCHER, T. J.; HERNANDEZ, R.; NAVARRO, J.; WEAVER, S. C. Evolutionary and Ecological Characterization of Mayaro Virus Strains Isolated during an. v. 21, n. 10, 2015.
- AZEVEDO, R. do S. da S.; OLIVEIRA, C. S.; VASCONCELOS, P. F. da C. Chikungunya risk for Brazil. **Revista de Saude Publica**, v. 49, 2015.
- AZEVEDO, R. S. S.; SILVA, E. V. P.; CARVALHO, V. L.; RODRIGUES, S. G.; NUNES NETO, J. P.; MONTEIRO, H. A. O.; PEIXOTO, V. S.; CHIANG, J. O.; NUNES, M. R. T.; VASCONCELOS, P. F. C. Mayaro fever virus, Brazilian amazon. **Emerging Infectious Diseases**, v. 15, n. 11, p. 1830–1832, 2009.
- BORGHIERINI, G.; POUBEAU, P.; STAIKOWSKY, F.; LORY, M.; MOULLEC, N. Le; BECQUART, J. P.; WENGLING, C.; MICHAULT, A.; PAGANIN, F. Outbreak of Chikungunya on Reunion Island : Early Clinical and Laboratory Features in 157 Adult Patients. p. 1401–1407, 2007.
- BOSTER BIOLOGICAL TECHNOLOGY. **ELISA Handbook**.
- BRASIL. **Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde Epidemiológico**. 34.
- BRONZONI, R. V. M.; MORELI, M. L.; CEC, A.; CRUZ, R.; TADEU, L.; FIGUEIREDO, M. Multiplex nested PCR for Brazilian Alphavirus diagnosis. p. 456–461, 2004.
- BRUNINI, S.; FRANÇA, D. D. S.; SILVA, J. B.; SILVA, L. N.; SILVA, F. P. A.;

SPADONI, M.; REZZA, G. High frequency of mayaro virus IgM among febrile patients, central Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 23, n. 6, p. 1025–1026, 2017.

CAMINI, F. C.; CARLA, C.; ALMEIDA, L. T.; FERREIRA, J.; MELLO, B. De; QUEIROZ, S. De. Oxidative stress in Mayaro virus infection. **Virus Research**, v. 236, n. November 2016, p. 1–8, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.virusres.2017.04.017>>.

CAMPOS, G.; BANDEIRA, A.; SARDI, S. Zika Virus Outbreak, Bahia Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 21, n. 10, p. 1881, 2015.

CAROSSINO, M.; THIRY, E.; DE LA GRANDIÈRE, A.; BARRANDEGUY, M. E. Novel vaccination approaches against equine alphavirus encephalitides. **Vaccine**, v. 32, n. 3, p. 311–319, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.11.071>>.

CARRASCO, L. The Regulation of Translation in Reovirus-infected Cells. n. 1985, p. 2161–2170, 1985.

CARVALHO, C. A. M.; SILVA, J. L.; OLIVEIRA, A. C.; GOMES, A. M. O. On the entry of an emerging arbovirus into host cells: Mayaro virus takes the highway to the cytoplasm through fusion with early endosomes and caveolae-derived vesicles. **PeerJ**, v. 5, p. e3245, 2017.

CHANDLER, L. J.; TESH, R. B.; RUSSELL, K. L.; POWERS, A. M.; WATTS, D.; DA ROSA, A. T.; WEAVER, S. C.; MEAKINS, T. A.; BRAULT, A. C.; VASCONCELOS, P. F. C.; OLSON, J.; AGUILAR, P. V. Genetic Relationships Among Mayaro and Una Viruses Suggest Distinct Patterns of Transmission. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 75, n. 3, p. 461–469, 2018.

CHARLES R. ANDERSON, WILBUR G. DOWNS, GEORGE H. WATTLEY, NORMAN W. AHIN, A. A. R. Mayaro Virus: A New Human Disease Agent II. Isolation from Blood of Patients in Trinidad, B.W.I.1. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 6, n. 6, p. 1012–1016, 1957.

COIMBRA, T. L.; SANTOS, C. L.; SUZUKI, a; PETRELLA, S. M.; BISORDI, I.; NAGAMORI, a H.; MARTI, a T.; SANTOS, R. N.; FIALHO, D. M.; LAVIGNE, S.; BUZZAR, M. R.; ROCCO, I. M. Mayaro virus: imported cases of human infection in Sao Paulo State, Brazil. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 49, n. 4, p. 221–224, 2007. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17823750>.

DE FIGUEIREDO, M. L. G.; FIGUEIREDO, L. T. M. **Emerging alphaviruses in the americas: Chikungunya and mayaro** *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 2014. .

DINITS-PENSY, M.; FORREST, G. N.; CROSS, A. S.; HISE, M. K. The Use of Vaccines in Adult Patients With Renal Disease. v. 46, n. 6, p. 997–1011, 2005.

DONALISIO, M. R.; RIBAS, R.; II, F.; PAULA, A.; VON, B.; II, Z. Arboviroses emergentes no Brasil: desafios para a clínica e implicações para a saúde pública. **Revista de Saude Pública**, v. 51, n. 30, p. 10–15, 2017. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rsp/v51/pt_0034-8910-rsp-

S1518-87872017051006889.pdf>.

FORSHEY, B. M.; GUEVARA, C.; LAGUNA-TORRES, V. A.; CESPEDES, M.; VARGAS, J.; AGUAYO, N.; GOTUZZO, E.; SUAREZ, V.; GIANELLA, A.; VALLEJO, E.; MORALES, A. M.; BEINGOLEA, L.; REYES, N.; PEREZ, J.; NEGRETE, M.; ROCHA, C.; MORRISON, A. C.; RUSSELL, K. L.; BLAIR, P. J.; OLSON, J. G.; KOCHER, T. J. Arboviral Etiologies of Acute Febrile Illnesses in Western South America , 2000 – 2007. v. 4, n. 8, p. 2000–2007, 2010.

GOMES, V.; CHRISTINA, V.; FÉRES, D. R.; SAIVISH, M. V.; BOSCO, J.; GIMAQUE, D. L.; MORELI, M. L. International Journal of Infectious Diseases. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 62, p. 84–85, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2017.07.016>>.

GOUANDIJKKA-VASILACHE, I.; MANIRAKIZA, A.; GODY, J. C.; BANGA-MINGO, V.; ESONA, M. D.; BOWEN, M. D.; WAKU-KOUOMOU, D. Genome Analysis of Mayaro Virus Imported to Germany from French Guiana. v. 20, n. 7, p. 2008–2010, 2014.

GUINDON S, DUFAYARD JF, LEFORT V, ANISIMOVA M, HORDIJK W, G. O. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies : assessing the performance of PhyML 3 . 0. v. 59, p. 307–321, 2010.

HALSEY, E. S.; SILES, C.; GUEVARA, C.; VILCARROMERO, S.; JHONSTON, E. J.; RAMAL, C.; AGUILAR, P. V.; AMPUERO, J. S. Mayaro virus infection, Amazon Basin region, Peru, 2010-2013. **Emerging Infectious Diseases**, v. 19, n. 11, p. 1839–1842, 2013.

HOANG, D. T.; CHERNOMOR, O.; HAESELER, A. Von; MINH, B. Q.; VINH, L. S. UFBoot2 : Improving the Ultrafast Bootstrap Approximation. v. 35, n. 2, p. 518–522, 2017.

JOSE, J.; KUHN, R. J. and assembly. p. 837–856, 2010.

KATOH, K.; STANDLEY, D. M. MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7 : Improvements in Performance and Usability Article Fast Track. v. 30, n. 4, p. 772–780, 2013.

KHAN, A. H.; MORITA, K.; PARQUET, C.; HASEBE, F.; MATHENGE, E. G. M.; IGARASHI, A. Complete nucleotide sequence of chikungunya virus and evidence for an internal polyadenylation site. n. 2002, p. 3075–3084, 2019.

KRAEMER, M. U. G.; JR, R. C. R.; BRADY, O. J.; MESSINA, J. P.; GILBERT, M.; PIGOTT, D. M.; YI, D.; JOHNSON, K.; EARL, L.; MARCZAK, L. B.; HENDRICKX, G.; SCHAFFNER, F.; MOORE, C. G.; NAX, H. H.; BENGTSSON, L.; WETTER, E.; TATEM, A. J.; BROWNSTEIN, J. S.; SMITH, D. L.; LAMBRECHTS, L.; CAUCHEMEZ, S.; LINARD, C.; FARIA, N. R.; PYBUS, O. G.; SCOTT, T. W. Past and future spread of the arbovirus vectors. **Nature Microbiology**, v. 4, n. May, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41564-019-0376-y>>.

KUBE, D.; VOCKERODT, M.; WEBER, O.; HELL, K.; WOLF, J.; HAIER, B.; GRA, F. A.; LLER-LANTZSCH, N. M. U.; KIEFF, E.; DIEHL, V.; TESCH, H. Expression of Epstein-Barr Virus Nuclear Antigen 1 Is Associated with Enhanced Expression of CD25 in the Hodgkin Cell Line L428. v. 73, n. 2, p.

1630–1636, 1999.

LAVERGNE, A.; THOISY, B. de; LACOSTE, V.; PASCALIS, H.; POULIQUEN, J. F.; MERCIER, V.; TOLOU, H.; DUSSART, P.; MORVAN, J.; TALARMIN, A.; KAZANJI, M. Mayaro virus: Complete nucleotide sequence and phylogenetic relationships with other alphaviruses. **Virus Research**, v. 117, n. 2, p. 283–290, 2006.

LONG, K. C.; ZIEGLER, S. A.; THANGAMANI, S.; HAUSSER, N. L.; KOCHER, T. J.; HIGGS, S.; TESH, R. B. Experimental Transmission of Mayaro Virus by *Aedes aegypti*. v. 85, n. 4, p. 750–757, 2011.

LOPES, N.; NOZAWA, C.; LINHARES, R. E. C. Características gerais e epidemiologia dos arbovírus emergentes no Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 5, n. 3, p. 55–64, 2014. Disponível em: <http://scielo.iec.pa.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2176-62232014000300007&lng=en&nrm=iso&tlng=en>

LORENZ, C.; AZEVEDO, T. S.; VIRGINIO, F.; AGUIAR, B. S.; CHIARAVALLI-NETO, F.; SUESDEK, L. Impact of environmental factors on neglected emerging arboviral diseases. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 9, p. 1–19, 2017.

LUIS, M.; FIGUEIREDO, G. De. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical Emerging alphaviruses in the Americas : Chikungunya and Mayaro. p. 1–10, 2017.

MANIERO, V. C.; SANTOS, M. O.; RIBEIRO, R. L.; OLIVEIRA, P. A. C. de; SILVA, T. B. da; MOLERI, A. B.; MARTINS, I. R.; LAMAS, C. C.; CARDOZO, S. V. Dengue, Chikungunya E Zika Vírus No Brasil: Situação Epidemiológica, Aspectos Clínicos E Medidas Preventivas. **Almanaque Multidisciplinar de Pesquisa**, v. 1, n. 1, p. 118–145, 2016.

MARCÍLIO JORGE FUMAGALLI. **Desenvolvimento de métodos sorológicos para diagnóstico de infecções pelos vírus. Chikungunya e Mayaro**. 2018. Universidade de São Paulo, 2018.

MAVIAN, C.; RIFE, B. D.; DOLLAR, J. J.; CELLA, E.; CICCOCCHI, M.; PROSPERI, M. C. F.; LEDNICKY, J.; MORRIS, J. G.; CAPUA, I.; SALEMI, M. Emergence of recombinant Mayaro virus strains from the Amazon basin. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–11, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-07152-5>>.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **ebre do Mayaro: causas, sintomas, tratamento, diagnóstico e prevenção**.

MOHER, D.; LIBERATI, A.; TETZLAFF, J.; ALTMAN, D. G.; GROUP, T. P. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses : The PRISMA Statement. v. 6, n. 7, 2009.

MONTOYA, R. H.; DIEGO, J.; ZAMBRANO, B.; DAYAN, G. H.; DICK, O. B. Review : The History of Dengue Outbreaks in the Americas. v. 87, n. 4, p. 584–593, 2012.

MORELI, M. L.; GOMES, V. A systematic review of molecular diagnostic methods for the detection of arboviruses in clinical specimens in Brazil and the importance of a differential diagnosis. 2013.

MOURÃO, M. P. G.; BASTOS, M. de S.; DE FIGUEIREDO, R. P.; GIMAQUE, J. B. L.; DOS SANTOS GALUSSO, E.; KRAMER, V. M.; DE OLIVEIRA, C. M. C.; NAVECA, F. G.; FIGUEIREDO, L. T. M. Mayaro Fever in the City of Manaus, Brazil, 2007–2008. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 12, n. 1, p. 42–46, 2012. Disponível em: <<http://www.liebertonline.com/doi/abs/10.1089/vbz.2011.0669>>.

NAPOLEÃO-PEGO, P.; GOMES, L. P.; PROVANCE-JR, D. W.; AND; SALVATORE GIOVANNI DE-SIMONE^{1, 2}; *. Mayaro Virus Disease. **Journal of Human Virology & Retrovirology**, v. 1, n. 3, 2014. Disponível em: <<http://medcraveonline.com/JHVRV/JHVRV-01-00018.php>>.

NASAR, F.; PALACIOS, G.; GORCHAKOV, R. V; GUZMAN, H.; TRAVASSOS, A. P.; ROSA, D. Eilat virus , a unique alphavirus with host range restricted to insects by RNA replication. v. 109, n. 36, 2012.

NAVECA, F. G.; DO NASCIMENTO, V. A.; DE SOUZA, V. C.; NUNES, B. T. D.; RODRIGUES, D. S. G.; DA COSTA VASCONCELOS, P. F. Multiplexed reverse transcription real-time polymerase chain reaction for simultaneous detection of Mayaro, Oropouche, and oropouche-like viruses. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 112, n. 7, p. 510–513, 2017.

NEUMAYR, A.; GABRIEL, M.; FRITZ, J.; GÜNTHER, S.; HATZ, C.; SCHMIDT-CHANASIT, J.; BLUM, J. Mayaro Virus Infection in Traveler Returning from Amazon Basin, Northern Peru. **Emerging Infectious Diseases**, v. 18, n. 4, p. 695–696, 2012.

NGUYEN, L.; SCHMIDT, H. A.; HAESELER, A. Von; MINH, B. Q. IQ-TREE : A Fast and Effective Stochastic Algorithm for Estimating Maximum-Likelihood Phylogenies. v. 32, n. 1, p. 268–274, 2014.

NOVAIS, C. M.; PIRES-ALVES, M. PCR em tempo real. p. 10–13, 2004.

OEIRAS DE CASTRO, C. M. Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde Induzidas pelo Vírus Mayaro em Células Vero São José do Rio Preto 2015. 2015. Disponível em: <http://btd.famerp.br/handle/tede/373#preview-link0%0Ahttp://btd.famerp.br/bitstream/tede/373/2/ceylamariaodecastro_tese.pdf>.

OLIVEIRA, É. C. L. De; ROSE, E.; CURY, J. Alterações hematológicas em pacientes com dengue Hematological abnormalities in patients with dengue. v. 42, n. 6, p. 682–685, 2009.

PEREIRA SERRA, O.; FERNANDES CARDOSO, B.; MARIA RIBEIRO, A. L.; DOS SANTOS, F. A. L.; DEZENGRINI SLHESSARENKO, R. Mayaro virus and dengue virus 1 and 4 natural infection in culicids from Cuiabá, state of Mato Grosso, Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 111, n. 1, p. 20–29, 2016.

PORTERFIELD, R. B. G. H. I. ; K.; TRENT. Togaviridae. **Intervirolgy**, v. 24, p. 125–139, 1985.

POWERS, ANNA M ; AGUILAR, P. M. ; et al. GENETIC RELATIONSHIPS AMONG MAYARO AND UNA VIRUSES SUGGEST DISTINCT PATTERNS OF TRANSMISSION. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 75, n. 3, p. 461–469, 2006.

POWERS, A. M.; PATRICIA V. AGUILAR, LAURA J. CHANDLER, AARON C. BRAULT, T. A. M.; DOUGLAS WATTS, KEVIN L. RUSSELL, JAMES OLSON, P. F. C. V.; AMELIA TRAVASSOS DA ROSA, SCOTT C. WEAVER, A. R. B. T. GENETIC RELATIONSHIPS AMONG MAYARO AND UNA VIRUSES SUGGEST DISTINCT PATTERNS OF TRANSMISSION. v. 75, n. 3, p. 461–469, 2006.

RECEVEUR, M. C.; GRANDADAM, M.; PISTONE, T.; MALVY, D. Infection with Mayaro virus in a French traveller returning from the Amazon region , Brazil . p. 2–5, 2010.

REZENDE, A. G. “**Obtenção de virus-like particles (VLPs) de Mayaro usando diferentes sistemas de expressão** ”. 2018. Universidade de São Paulo, 2018.

RÜCKERT, C.; WEGER-LUCARELLI, J.; GARCIA-LUNA, S. M.; YOUNG, M. C.; BYAS, A. D.; MURRIETA, R. A.; FAUVER, J. R.; EBEL, G. D. Impact of simultaneous exposure to arboviruses on infection and transmission by *Aedes aegypti* mosquitoes. **Nature Communications**, v. 8, n. May, p. 1–9, 2017.

SAM, I.; LOONG, S.; MICHAEL, J. C.; CHUA, C.; WAN, W. Y.; VYTHILINGAM, I.; CHAN, S.; CHIAM, C.; YEONG, Y. Genotypic and Phenotypic Characterization of Chikungunya Virus of Different Genotypes from Malaysia. v. 7, n. 11, p. 1–9, 2012.

SAMPATH, A.; PADMANABHAN, and R. Molecular targets for flavivirus drug discovery. v. 81, n. 1, p. 6–15, 2010.

SANTIAGO, F. W.; HALSEY, E. S.; SILES, C.; VILCARROMERO, S. Long-Term Arthralgia after Mayaro Virus Infection Correlates with Sustained Pro-inflammatory Cytokine Response. p. 1–14, 2015.

SAÚDE, M. Chikungunya : Manejo Clínico. 2017.

SHARMA, R.; COSTA, L.; ROBSON, S.; SILVA, A.; GONÇALVES, C. V; MELO, S. De; DENISAR, C.; ANDRADE, J. P. De; RITA, D. M.; PONTELLO, D. C.; REQUIÃO, L.; KRIEGER, M. A.; BARRAL-NETTO, M.; OLIVEIRA, C. I. De. Surveillance of donated blood during the 2016 arbovirus outbreak in Brazil. n. March, p. 1406–1410, 2018.

SHAWN F. TAYLOR, P. R. P. and T. J. S. H. Recurrent arthralgias in a patient with previous Mayaro fever infection. **Southern Medical Journal**, v. 98, n. 4, p. p484+, 2005. Disponível em: <<https://netforum.avectra.com/eweb/DynamicPage.aspx?Site=sma&WebCode=SMJPage%0A>>.

SILVA, E. V. P. DA. “**EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR E ESTUDO IMUNOHISTOPATOLÓGICO DE ISOLADOS DO VÍRUS MAYARO (TOGAVIRIDAE: ALPHAVIRUS) PROCEDE_TES DO ESTADO DO PARÁ**”. 2014. 2014.

- SLEGERS, C. A. D.; KEUTER, M.; GÜNTHER, S.; SCHMIDT-CHANASIT, J. Persisting arthralgia due to Mayaro virus infection in a traveler from Brazil : Is there a risk for attendants to the 2014 FIFA World Cup ? **Journal of Clinical Virology**, v. 60, n. 3, p. 317–319, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcv.2014.04.020>>.
- SOUSA, A. R. V. DE. **Avaliação sorológica e molecular de pacientes com quadro clínico de dengue símile atendidos no hospital das forças armadas**. 2019. 2019.
- SOUZA, L. J. de; L. B. P. L. C. M. A. de S. M. do V. da S. Comparison of clinical and laboratory characteristics between children and adults with dengue. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 17, n. 1, p. 27–31, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bjid.2012.08.020>>.
- TANG, Y.; PROCOP, G. W.; PERSING, D. H. Molecular diagnostics of infectious diseases. v. 2038, p. 2021–2038, 1997.
- TASSO, M.; MOTA, D. O.; RIBEIRO, M. R.; VEDOVELLO, D. Mayaro virus : a neglected arbovirus of the Americas. v. 10, p. 1109–1122, 2015a.
- TASSO, M.; MOTA, O.; VEDOVELLO, D.; ESTOFOLETE, C.; MALOSSI, D.; ARAÚJO, P. Complete Genome Sequence of Mayaro Virus Imported from the Amazon Basin to São Paulo State , Brazil. v. 3, n. 6, p. 4269, 2015b.
- TERZIAN, A. C. B.; AUGUSTE, A. J.; VEDOVELLO, D.; FERREIRA, M. U.; DA SILVA-NUNES, M.; SPERANÇA, M. A.; SUZUKI, R. B.; JUNCANSEN, C.; JO, J. P. A.; WEAVER, S. C.; NOGUEIRA, M. L. Isolation and characterization of Mayaro virus from a human in Acre, Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 92, n. 2, p. 401–404, 2015a.
- TERZIAN, A. C. B.; AUGUSTE, A. J.; VEDOVELLO, D.; FERREIRA, M. U.; NOGUEIRA, L.; SUZUKI, R. B.; JUNCANSEN, C. Isolation and Characterization of Mayaro Virus from a Human in Acre , Brazil. v. 92, n. 2, p. 401–404, 2015b.
- TORRES, J. R.; RUSSELL, K. L.; BARRERA, R.; TESH, R. B.; SALAS, R.; WATTS, D. M. Family Cluster of Mayaro Fever ,. v. 10, n. 7, p. 4–6, 2004.
- WANG, E.; PAESSLER, S.; AGUILAR, P. V; CARRARA, A.; NI, H.; GREENE, I. P.; WEAVER, S. C. Reverse Transcription-PCR – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Rapid Detection and Differentiation of Alphavirus Infections . v. 44, n. 11, p. 4000–4008, 2006.
- WEAVER, S. C.; CHARLIER, C.; VASILAKIS, N.; LECUIT, M. Zika , Chikungunya , and Other Emerging Vector-Borne Viral Diseases. [s.d.]
- YAMADA, K.; TAKASAKI, T.; NAWA, M. Virus isolation as one of the diagnostic methods for dengue virus infection. v. 24, p. 203–209, 2002.
- YE, J.; COULOURIS, G.; ZARETSKAYA, I.; CUTCUTACHE, I.; ROZEN, S.; MADDEN, T. L. Primer-BLAST : A tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. 2012.
- YUE, C.; TEITZ, S.; MIYABASHI, T.; BOLLER, K.; LEWIS-XIMENEZ, L. L.;

BAYLIS, S. A.; BLÜMEL, J. Inactivation and Removal of Chikungunya Virus and Mayaro Virus from Plasma-derived Medicinal Products. **Viruses**, v. 11, n. 3, 2019.

ZUCHI, N.; DA SILVA HEINEN, L. B.; DOS SANTOS, M. A. M.; PEREIRA, F. C.; SLHESSARENKO, R. D. Molecular detection of Mayaro virus during a dengue outbreak in the state of Mato Grosso, Central-West Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 109, n. 6, p. 820–823, 2014.

ANEXO 1

Formulário de Condução da Revisão

Fonte: MedLine

Data da Busca: 16/10/2019

String de Busca: Mayaro pcr AND mayaro outbreak

Lista de Artigos encontrados:

1. White, Sarah K; Mavian, Carla; Elbadry, Maha A; Beau De Rochars, Valery Madsen; Paisie, Taylor; Telisma, Taina; Salemi, Marco; Lednicky, John A; Morris, J Glenn. - Detection and phylogenetic characterization of arbovirus dual-infections among persons during a chikungunya fever outbreak, Haiti 2014. - *PLoS Negl Trop Dis*;12(5): e0006505, 2018 05.
2. Alva-Urcia, Carlos; Aguilar-Luis, Miguel Angel; Palomares-Reyes, Carlos; Silva-Caso, Wilmer; Suarez-Ognio, Luis; Weigl, Pablo; Manrique, Carlos; Vasquez-Achaya, Fernando; Del Valle, Luis J; Del Valle-Mendoza, Juana. - Emerging and reemerging arboviruses: A new threat in Eastern Peru. - *PLoS One*;12(11): e0187897, 2017.
3. Medina, Gladys; Garzaro, Domingo J; Barrios, Miguel; Auguste, Albert J; Weaver, Scott C; Pujol, Flor H. - Genetic diversity of Venezuelan alphaviruses and circulation of a Venezuelan equine encephalitis virus subtype IAB strain during an interepizootic period. - *Am J Trop Med Hyg*;93(1): 7-10, 2015 Jul.
4. Vieira, Carla Julia da Silva Pessoa; Silva, David José Ferreira da; Barreto, Eriana Serpa; Siqueira, Carlos Eduardo Hassegawa; Colombo, Tatiana Elias; Ozanic, Katia; Schmidt, Diane Johnson; Drumond, Betânia Paiva; Mondini, Adriano; Nogueira, Maurício Lacerda; Bronzoni, Roberta Vieira de Moraes. - Detection of Mayaro virus infections during a dengue outbreak in Mato Grosso, Brazil. - *Acta Trop*;147: 12-6, 2015 Jul.
5. Zuchi, Nayara; Heinen, Letícia Borges da Silva; Santos, Marcelo Adriano Mendes dos; Pereira, Fernanda Carla; Slhessarenko, Renata Dezengrini. - Molecular detection of Mayaro virus during a dengue outbreak in the state of Mato Grosso, Central-West Brazil. - *Mem Inst Oswaldo Cruz*;109(6): 820-3, 2014 Sep.

6. Martins, Valquiria do Carmo Alves; Bastos, Michele de Souza; Ramasawmy, Rajendranath; de Figueiredo, Regina Pinto; Gimaque, João Bosco Lima; Braga, Wornei Silva Miranda; Nogueira, Mauricio Lacerda; Nozawa, Sergio; Naveca, Felipe Gomes; Figueiredo, Luiz Tadeu Moraes; Mourão, Maria Paula Gomes. - Clinical and virological descriptive study in the 2011 outbreak of dengue in the Amazonas, Brazil. - PLoS One;9(6): e100535, 2014.

7. Long, Kanya C; Ziegler, Sarah A; Thangamani, Saravanan; Hausser, Nicole L; Kochel, Tadeusz J; Higgs, Stephen; Tesh, Robert B. - Experimental transmission of Mayaro virus by *Aedes aegypti*. - Am J Trop Med Hyg;85(4): 750-7, 2011 Oct.

8. Terzian, Ana Carolina Bernardes; Mondini, Adriano; Bronzoni, Roberta Vieira de Moraes; Drumond, Betânia Paiva; Ferro, Bianca Piovezan; Cabrera, Eliana Márcia Sotello; Figueiredo, Luis Tadeu Moraes; Chiaravalloti-Neto, Francisco; Nogueira, Maurício Lacerda. - Detection of Saint Louis encephalitis virus in dengue-suspected cases during a dengue 3 outbreak. - Vector Borne Zoonotic Dis;11(3): 291-300, 2011 Mar.

Formulário de Condução da Revisão

Fonte: Scielo

Data da Busca: 10/06/2019

String de Busca: (Mayaro pcr) OR (mayaro outbreak) OR (mayaro detection)

Lista de Artigos encontrados:

9. Esposito, Danillo Lucas Alves; Fonseca, Benedito Antonio Lopes da. - Will Mayaro virus be responsible for the next outbreak of an arthropod-borne virus in Brazil? - Brazilian Journal of Infectious Diseases; 21(5); 540-544; 2017-10

10. Bernal-Vera, Cynthia Magdalena; Cardozo-Segovia, Fátima María; Mendoza-Torres, Laura Patricia. - Estandarización de una técnica de RT-PCR anidada para detección de alfavirus - Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud; 15(2); 30-36; 2017-08

11. Naveca, Felipe Gomes; Nascimento, Valdinete Alves do; Souza, Victor Costa de; Nunes, Bruno Tardelli Diniz; Rodrigues, Daniela Sueli Guerreiro; Vasconcelos, Pedro Fernando da Costa. - Multiplexed reverse transcription real-time polymerase chain reaction for simultaneous detection of Mayaro, Oropouche, and Oropouche-like viruses - Memórias do Instituto Oswaldo Cruz; 112(7); 510-513; 2017-07

12. Estofolete, Cássia Fernanda; Mota, Mânlio Tasso Oliveira; Vedovello, Danila; Góngora, Delzi Vinha Nunes de; Maia, Irineu Luiz; Nogueira, Maurício Lacerda. - Mayaro fever in an HIV-infected patient suspected of having Chikungunya fever - Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical; 49(5); 648-652; 2016-10

13. Serra, Otacília Pereira; Cardoso, Belgath Fernandes; Ribeiro, Ana Lúcia Maria; Santos, Fábio Alexandre Leal dos; Shessarenko, Renata Dezengrini. -

Mayaro virus and dengue virus 1 and 4 natural infection in culicids from Cuiabá, state of Mato Grosso, Brazil - Memórias do Instituto Oswaldo Cruz; 111(1); 20-29; 2016-01

14. Mourão, Maria Paula Gomes; Bastos, Michele de Souza; Figueiredo, Regina Maria Pinto de; Gimaque, João Bosco de Lima; Alves, Valquíria do Carmo Rodrigues; Saraiva, Maria das Graças Gomes; Figueiredo, Mário Luis Garcia; Ramasawmy, Rajendranath; Nogueira, Maurício Lacerda; Figueiredo, Luiz Tadeu Moraes. - Arboviral diseases in the Western Brazilian Amazon: a perspective and analysis from a tertiary health & research center in Manaus, State of Amazonas - Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical; 48(); 20-26; 2015-06

15. Pauvolid-Corrêa, Alex; Juliano, Raquel Soares; Campos, Zilca; Velez, Jason; Nogueira, Rita Maria Ribeiro; Komar, Nicholas. - Neutralising antibodies for Mayaro virus in Pantanal, Brazil - Memórias do Instituto Oswaldo Cruz; 110(1); 125-133; 2015-02-03

16. Zuchi, Nayara; Heinen, Letícia Borges da Silva; Santos, Marcelo Adriano Mendes dos; Pereira, Fernanda Carla; Shessarenko, Renata Dezengrini. - Molecular detection of Mayaro virus during a dengue outbreak in the state of Mato Grosso, Central-West Brazil - Memórias do Instituto Oswaldo Cruz; 109(6); 820-823; 2014-08-19

17. Batista, Paulo Mira; Andreotti, Renato; Almeida, Paulo Silva de; Marques, Alisson Cordeiro; Rodrigues, Sueli Guerreiro; Chiang, Jannifer Oliveira; Vasconcelos, Pedro Fernando da Costa. - Detection of arboviruses of public health interest in free-living New World primates (*Sapajus* spp.; *Alouatta caraya*) captured in Mato Grosso do Sul, Brazil - Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical; 46(6); 684-690; 2013-12

18. Santana, Vinícius dos Santos; Lavezzo, Lígia Carolina; Mondini, Adriano; Terzian, Ana Carolina Bernardes; Bronzoni, Roberta Vieira de Moraes; Rossit, Andrea Regina Baptista; Machado, Ricardo Luiz Dantas; Rahal, Paula; Nogueira, Mara Correa Lelles; Nogueira, Maurício Lacerda. - Concurrent dengue and malaria in the Amazon region - Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical; 43(5); 508-511; 2010-10

19. Pauvolid-Corrêa, Alex; Tavares, Fernando Neto; Costa, Eliane Veiga da; Burlandy, Fernanda Marcicano; Murta, Michele; Pellegrin, Aiesca Oliveira; Nogueira, Márcia Furlan; Silva, Edson Elias da. - Serologic evidence of the recent circulation of Saint Louis encephalitis virus and high prevalence of equine encephalitis viruses in horses in the Nhecolândia sub-region in South Pantanal, Central-West Brazil - Memórias do Instituto Oswaldo Cruz; 105(6); 829-833; 2010-09

20. Coimbra, Terezinha Lisieux M.; Santos, Cecília L. S.; Suzuki, Akemi; Petrella, Selma M. C.; Bisordi, Ivani; Nagamori, Adélia H.; Marti, Antonia T.; Santos, Raimundo N.; Fialho, Danya M.; Lavigne, Shirlene; Buzzar, Marcia R.; Rocco, Iray M.. - Mayaro virus: imported cases of human infection in São Paulo State, Brazil - Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo; 49(4); 221-224; 2007-08

21.Figueiredo, Luiz Tadeu Moraes; Nogueira, Rita Maria Ribeiro; Cavalcanti, Silvia Maria Baêta; Schatzmayr, Hermann; Rosa, Amélia Travassos da. - Study of two different enzyme immunoassays for the detection of Mayaro virus antibodies - Memórias do Instituto Oswaldo Cruz; 84(3); 303-307; 1989-09

Formulário de Condução da Revisão

Fonte: Scielo

Data da Busca: 06/08/2019

String de Busca: (Alphavirus detection) OR (Mayaro diagnosis)

Lista de Artigos encontrados:

22. Córdova-Pluma, Víctor Huggo; Vega-López, César Augusto; Alarcón-Sotelo, Alejandra; Salinas-Lezama, Erika. - Enfermedad de chikunguña - Medicina interna de México; 34(3); 497-505; 2018-06

23. Esposito, Danillo Lucas Alves; Fonseca, Benedito Antonio Lopes da. - Will Mayaro virus be responsible for the next outbreak of an arthropod-borne virus in Brazil? - Brazilian Journal of Infectious Diseases; 21(5); 540-544; 2017-10

24. Esposito, Danillo Lucas Alves; Fonseca, Benedito Antonio Lopes da. - Sensitivity and detection of chikungunya viral genetic material using several PCR-based approaches - Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical; 50(4); 465-469; 2017-08

25. Vera, Cynthia Magdalena; Cardozo-Segovia, Fátima María; Mendoza-Torres, Laura Patricia. - Estandarización de una técnica de RT-PCR anidada para detección de alfavirus - Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud; 15(2); 30-36; 2017-08

26. Naveca, Felipe Gomes; Nascimento, Valdinete Alves do; Souza, Victor Costa de; Nunes, Bruno Tardelli Diniz; Rodrigues, Daniela Sueli Guerreiro; Vasconcelos, Pedro Fernando da Costa. - Multiplexed reverse transcription real-time polymerase chain reaction for simultaneous detection of Mayaro, Oropouche, and Oropouche-like viruses - Memórias do Instituto Oswaldo Cruz; 112(7); 510-513; 2017-07

27. Camacho García, Daría; Celis, Argelia; Moros, Zoila; Osorio, Jesús Reyes; Araujo, Ricardo; Alcántara, Andrea; Picos Guerrero, Víctor; Tarazón, Augusto; Blanco, Ruth; Vizzi, Esmeralda; Liprandi, Ferdinando; Negredo A, Ana I; Sánchez-Seco, María P; Comach Pérez, Guillermo. - Circulación de virus Chikungunya en el estado Aragua (Venezuela) durante el año 2014 - Boletín de Malariología y Salud Ambiental; 56(2); 122-130; 2016-12

28. Hoyos-López, Richard; Suaza-Vasco, Juan; Rúa-Urbe, Guillermo; Uribe, Sandra; Gallego-Gómez, Juan Carlos. - Molecular detection of flaviviruses and alphaviruses in mosquitoes (Diptera: Culicidae) from coastal ecosystems in the

- Colombian Caribbean - Memórias do Instituto Oswaldo Cruz; 111(10); 625-634; 2016-10-03
29. Reyes O, Jesús; Comach P, Guillermo; Franco, Leticia; Camacho G, Daría. - ESTANDARIZACIÓN DE TÉCNICAS PARA EL DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE FLAVIVIRUS Y ALFAVIRUS - Comunidad y Salud; 14(1); 27-32; 2016-06
30. Kantor, Isabel N. - Dengue, Zika y Chikungunya - Medicina (Buenos Aires); 76(2); 93-97; 2016-04
31. Hoyos L, Richard; Suaza V, Juan; Tenorio, Antonio; Uribe, Sandra; Gallego-Gómez, Juan. - Molecular detection of Eastern Equine Encephalitis virus in mosquitoes from La Pintada (Antioquia) - Revista MVZ Córdoba; 20(3); 4800-4806; 2015-09
32. Seijo, Alfredo; Luppó, Victoria; Morales, Alejandra; Gancedo, Elisa; Romer, Yamila; Correa, Jorge; Poustis, Gladys; Giamperetti, Sergio; Fabbri, Cintia; Enría, Delia. - Tenosinovitis por virus Chikungunya - Medicina (Buenos Aires); 74(6); 476-478; 2014-12
33. Pisano, María Belén; Spinsanti, Lorena Ivana; Díaz, Luis Adrián; Farías, Adrián Alejandro; Almirón, Walter Ricardo; Ré, Viviana Elizabeth; Contigiani, Marta Silvia. - First detection of Rio Negro virus (Venezuelan equine encephalitis complex subtype VI) in Córdoba, Argentina - Memórias do Instituto Oswaldo Cruz; 107(1); 125-128; 2012-02
34. Santana, Vinícius dos Santos; Lavezzo, Lígia Carolina; Mondini, Adriano; Terzian, Ana Carolina Bernardes; Bronzoni, Roberta Vieira de Moraes; Rossit, Andrea Regina Baptista; Machado, Ricardo Luiz Dantas; Rahal, Paula; Nogueira, Mara Correa Lelles; Nogueira, Maurício Lacerda. - Concurrent dengue and malaria in the Amazon region - Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical; 43(5); 508-511; 2010-10
35. Coimbra, Terezinha Lisieux M.; Santos, Cecília L. S.; Suzuki, Akemi; Petrella, Selma M. C.; Bisordi, Ivani; Nagamori, Adélia H.; Marti, Antonia T.; Santos, Raimundo N.; Fialho, Danya M.; Lavigne, Shirlene; Buzzar, Marcia R.; Rocco, Iray M.. - Mayaro virus: imported cases of human infection in São Paulo State, Brazil - Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo; 49(4); 221-224; 2007-08
36. Troyes R, Lucinda; Fuentes T, Luis; Troyes R, Mario; Canelo D, Luis; García M, María; Anaya R, Elizabeth; Tapia L, Rafael; Céspedes Z, Manuel. - Etiología del síndrome febril agudo en la provincia de Jaén, Perú 2004-2005 - Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública; 23(1); 5-11; 2006-01
37. Figueiredo, Regina Maria Pinto De; Thatcher, Bedsy Dutary; Lima, Mário Lira de; Almeida, Tânia Carvalho; Alecrim, Wilson Duarte; Guerra, Marcus Vinitius de Farias. - Doenças exantemáticas e primeira epidemia de dengue ocorrida em Manaus, Amazonas, no período de 1998-1999 - Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical; 37(6); 476-479; 2004-12
38. Cámara, Alicia; Díaz, Gladis; Vega, Victor; Basualdo, María; Contigiani, Marta. - Seroprevalence of antibodies to Venezuelan equine encephalitis complex (subtypes IAB and VI) in humans from General Belgrano Island,

Formosa, Argentina - Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo; 45(4); 201-204; 2003-08

39.Figueiredo, Luiz Tadeu Moraes; Nogueira, Rita Maria Ribeiro; Cavalcanti, Silvia Maria Baêta; Schatzmayr, Hermann; Rosa, Amélia Travassos da. - Study of two different enzyme immunoassays for the detection of Mayaro virus antibodies - Memórias do Instituto Oswaldo Cruz; 84(3); 303-307; 1989-09.

Formulário de Condução da Revisão

Fonte: Scopus

Data da Busca: 02/11/2019

String de Busca: mayaro AND molecular AND diagnosis

Lista de Artigos encontrados:

40. Pezzi, L., LaBeaud, A.D., Reusken, C.B., Drexler, J.F., Vasilakis, N., Diallo, M., Simon, F., Jaenisch, T., Gallian, P., Sall, A., Failloux, A.B., Weaver, S.C., de Lamballerie, X., Boyer, S., Brasil, P., Busch, M., Diamond, M.S., Drebot, M.A., Kohl, A., Lecuit, M., Lourenço-de-Oliveira, R., Neyts, J., Lfp, N., Ribeiro, G.S., Rios, M., Rodriguez-Morales, A.J., Rosa-Freitas, M.G., Simmons, G., Siqueira, A.M., Vega Rúa, A. GloPID-R report on chikungunya, o'nyong-nyong and Mayaro virus, part 2: Epidemiological distribution of o'nyong-nyong virus (2019) Antiviral Research, 172, art. no. 104611,. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85072754013&doi=10.1016%2fj.antiviral.2019.104611&partnerID=40&md5=1d99cf3e38117273f28bf85e82da7b62>

41. Pezzi, L., Reusken, C.B., Weaver, S.C., Drexler, J.F., Busch, M., LaBeaud, A.D., Diamond, M.S., Vasilakis, N., Drebot, M.A., Siqueira, A.M., Ribeiro, G.S., Kohl, A., Lecuit, M., Ng, L.F.P., Gallian, P., de Lamballerie, X., Boyer, S., Brasil, P., Diallo, M., Failloux, A.B., Jaenisch, T., Lourenço-de-Oliveira, R., Neyts, J., Rios, M., Rodriguez-Morales, A.J., Rosa-Freitas, M.G., Sall, A., Simmons, G., Simon, F., Vega Rúa, A. GloPID-R report on Chikungunya, O'nyong-nyong and Mayaro virus, part I: Biological diagnostics(2019) Antiviral Research, 166, pp. 66-81.

42. Kim, Y.H., Kim, T.-Y., Park, J.-S., Park, J.S., Lee, J., Moon, J., Chong, C.-K., Junior, I.N., Ferry, F.R., Ahn, H.-J., Bhatt, L., Nam, H.-W. Development and clinical evaluation of a rapid diagnostic test for yellow fever non-structural protein 1 (2019) Korean Journal of Parasitology, 57 (3), pp. 283-290.

43. Acosta-Ampudia, Y., Monsalve, D.M., Rodríguez, Y., Pacheco, Y., Anaya, J.-M., Ramírez-Santana, C.; Mayaro: an emerging viral threat? (2018) Emerging Microbes and Infections, 7 (1), art. no. 163, . <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2s2.085053821572&doi=10.1038%2fs41426-018-01635&partnerID=40&md5=46fa52f93ade4f1461c4ece8a0c8533c>

44. Liang, G., Li, X., Gao, X., Fu, S., Wang, H., Li, M., Lu, Z., Zhu, W., Lu, X., Wang, L., Cao, Y., He, Y., Lei, W. Arboviruses and their related infections in China: A comprehensive field and laboratory investigation over the last 3 decades (2018) *Reviews in Medical Virology*, 28 (1), art. no. e1959.

45. Alva-Urcia, C., Aguilar-Luis, M.A., Palomares-Reyes, C., Silva-Caso, W., Suarez-Ognio, L., Weilg, P., Manrique, C., Vasquez-Achaya, F., Del Valle, L.J., Del Valle-Mendoza, J. Emerging and reemerging arboviruses: A new threat in Eastern Peru (2017) *PLoS ONE*, 12 (11), art. no. e0187897.

46. Romeiro, M.F., De Souza, W.M., Tolardo, A.L., Vieira, L.C., Colombo, T.E., Aquino, V.H., Nogueira, M.L., Figueiredo, L.T.M. 6505899465;38861292000;56022911400;57189493844;55318923200;7003632603;7102536040;35594394500; Evaluation and optimization of SYBR green real-time reverse transcription polymerase chain reaction as a tool for diagnosis of the flavivirus genus in Brazil (2016) *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 49 (3), pp. 279-285.

47. Zuchi, N., Da Silva Heinen, L.B., Dos Santos, M.A.M., Pereira, F.C., Silhessarenko, R.D. 56364079300;56364035000;56364843700;56364742700;56364922600; Molecular detection of Mayaro virus during a dengue outbreak in the state of Mato Grosso, Central-West Brazil (2014) *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 109 (6), pp. 820-823

48. Suhrbier, A., Jaffar-Bandjee, M.-C., Gasque, P. 7006137200;6602390556;7004093150; Arthritogenic alphaviruses-an overview (2012) *Nature Reviews Rheumatology*, 8 (7), pp. 420-429. Cited 199 times. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0.084863478516&doi=10.1038%2fnrrheum.2012.64&partnerID=40&md5=e0c460268f3399a8301bbb93a6bcbce6>

49. De Moraes Bronzoni, R.V., Baleotti, F.G., Ribeiro Nogueira, R.M., Nunes, M., Moraes Figueiredo, L.T. 6505956486;6508139355;16507265000;7102002033;35594394500; Duplex reverse transcription-PCR followed by nested PCR assays for detection and identification of Brazilian alphaviruses and flaviviruses (2005) *Journal of Clinical Microbiology*, 43 (2), pp. 696-702. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0.013844256120&doi=10.1128%2fJCM.43.2.696702.2005&partnerID=40&md5=698a6d3ed7b5d673ef3364af4cb875a6>.

Formulário de Condução da Revisão

Fonte: Pubmed

Data da Busca: 02/11/2019

String de Busca: (Mayaro PCR reaction) OR (Mayaro detection)

Lista de artigos encontrados:

50: Bengue M, Ferraris P, Baronti C, Diagne CT, Talignani L, Wichit S, Liegeois F, Bisbal C, Nougairède A, Missé D. Mayaro Virus Infects Human Chondrocytes and Induces the Expression of Arthritis-Related Genes Associated with Joint Degradation. *Viruses*. 2019 Aug 29;11(9). pii: E797. doi: 10.3390/v11090797. PubMed PMID: 31470617; PubMed Central PMCID: PMC6783875.

51: Lorenz C, Freitas Ribeiro A, Chiaravalloti-Neto F. Mayaro virus distribution in South America. *Acta Trop*. 2019 Oct;198:105093. doi: 10.1016/j.actatropica.2019.105093. Epub 2019 Jul 17. PubMed PMID: 31325416.

52: Fischer C, de Lamballerie X, Drexler JF. Enhanced Molecular Surveillance of Chikungunya Virus. *mSphere*. 2019 Jul 3;4(4). pii: e00295-19. doi: 10.1128/mSphere.00295-19. PubMed PMID: 31270168; PubMed Central PMCID: PMC6609226.

53: Pinheiro GG, Rocha MN, de Oliveira MA, Moreira LA, Andrade Filho JD. Detection of Yellow Fever Virus in Sylvatic Mosquitoes during Disease Outbreaks of 2017-2018 in Minas Gerais State, Brazil. *Insects*. 2019 May 10;10(5). pii: E136. doi: 10.3390/insects10050136. PubMed PMID: 31083286; PubMed Central PMCID: PMC6572267.

54: Pezzi L, Reusken CB, Weaver SC, Drexler JF, Busch M, LaBeaud AD, Diamond MS, Vasilakis N, Drebot MA, Siqueira AM, Ribeiro GS, Kohl A, Lecuit M, Ng LFP, Gallian P, de Lamballerie X; GloPID-R Chikungunya, O'nyong-nyong and Mayaro virus Working Group. GloPID-R report on Chikungunya, O'nyong-nyong and Mayaro virus, part I: Biological diagnostics. *Antiviral Res*. 2019 Jun;166:66-81. doi: 10.1016/j.antiviral.2019.03.009. Epub 2019 Mar 21. Review. PubMed PMID: 30905821.

55: Yue C, Teitz S, Miyabashi T, Boller K, Lewis-Ximenez LL, Baylis SA, Blümel J. Inactivation and Removal of Chikungunya Virus and Mayaro Virus from Plasma-derived Medicinal Products. *Viruses*. 2019 Mar 7;11(3). pii: E234. doi: 10.3390/v11030234. PubMed PMID: 30866548; PubMed Central PMCID: PMC6466239.

56: Fumagalli MJ, de Souza WM, Romeiro MF, de Souza Costa MC, Shlessarenko RD, Figueiredo LTM. Development of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay To Detect Antibodies Targeting Recombinant Envelope Protein 2 of Mayaro. *Virus. J Clin Microbiol*. 2019 Apr 26;57(5). pii: e01892-18. doi: 10.1128/JCM.01892-18. Print 2019 May. PubMed PMID: 30787146; PubMed Central PMCID: PMC6498026.

57: Tuekprakhon A, Puiprom O, Sasaki T, Michiels J, Bartholomeeusen K, Nakayama EE, Meno MK, Phadungsombat J, Huits R, Ariën KK, Luplertlop N, Shioda T, Leangwutiwong P. Broad-spectrum monoclonal antibodies against chikungunya virus structural proteins: Promising candidates for antibody-based rapid diagnostic test development. *PLoS One*. 2018 Dec 17;13(12):e0208851. doi: 10.1371/journal.pone.0208851. eCollection 2018. PubMed PMID: 30557365; PubMed Central PMCID: PMC6296674.

- 58: Danillo Lucas Alves E, Benedito Antonio Lopes da F. Characterization of the immune response following in vitro mayaro and chikungunya viruses (Alphavirus, Togaviridae) infection of mononuclear cells. *Virus Res.* 2018 Sep 2;256:166-173. doi: 10.1016/j.virusres.2018.08.011. Epub 2018 Aug 23. PubMed PMID: 30145137.
- 59: Fumagalli MJ, de Souza WM, Espósito DLA, Silva A, Romeiro MF, Martinez EZ, da Fonseca BAL, Figueiredo LTM. Enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant envelope protein 2 antigen for diagnosis of Chikungunya virus. *Viol J.* 2018 Jul 24;15(1):112. doi: 10.1186/s12985-018-1028-1. PubMed PMID: 30041676; PubMed Central PMCID: PMC6056935.
- 60: White SK, Mavian C, Elbadry MA, Beau De Rochars VM, Paisie T, Telisma T, Salemi M, Lednicky JA, Morris JG Jr. Detection and phylogenetic characterization of arbovirus dual-infections among persons during a chikungunya fever outbreak, Haiti 2014. *PLoS Negl Trop Dis.* 2018 May 31;12(5):e0006505. doi: 10.1371/journal.pntd.0006505. eCollection 2018 May. PubMed PMID: 29851952; PubMed Central PMCID: PMC5997359.
- 61: Smith JL, Pugh CL, Cisney ED, Keasey SL, Guevara C, Ampuero JS, Comach G, Gomez D, Ochoa-Diaz M, Hontz RD, Ulrich RG. Human Antibody Responses to Emerging Mayaro Virus and Cocirculating Alphavirus Infections Examined by Using Structural Proteins from Nine New and Old World Lineages. *mSphere.* 2018 Mar 21;3(2). pii: e00003-18. doi: 10.1128/mSphere.00003-18. eCollection 2018 Mar-Apr. PubMed PMID: 29577083; PubMed Central PMCID: PMC5863033
- 62: Ferreira PG, Ferraz AC, Figueiredo JE, Lima CF, Rodrigues VG, Taranto AG, Ferreira JMS, Brandão GC, Vieira-Filho SA, Duarte LP, de Brito Magalhães CL, de Magalhães JC. Detection of the antiviral activity of epicatechin isolated from *Salacia crassifolia* (Celastraceae) against Mayaro virus based on protein C homology modelling and virtual screening. *Arch Virol.* 2018 Jun;163(6):1567-1576. doi: 10.1007/s00705-018-3774-1. Epub 2018 Feb 24. PubMed PMID: 29478125.
- 63: Waggoner JJ, Rojas A, Mohamed-Hadley A, de Guillén YA, Pinsky BA. Real-time RT-PCR for Mayaro virus detection in plasma and urine. *J Clin Virol.* 2018 Jan;98:1-4. doi: 10.1016/j.jcv.2017.11.006. Epub 2017 Nov 21. PubMed PMID: 29172075; PubMed Central PMCID: PMC5742299
- 64: Alva-Urcia C, Aguilar-Luis MA, Palomares-Reyes C, Silva-Caso W, Suarez-Ognio L, Weilg P, Manrique C, Vasquez-Achaya F, Del Valle LJ, Del Valle-Mendoza J. Emerging and reemerging arboviruses: A new threat in Eastern Peru. *PLoS One.* 2017 Nov 14;12(11):e0187897. doi: 10.1371/journal.pone.0187897. eCollection 2017. PubMed PMID: 29136650; PubMed Central PMCID: PMC5685628.
- 65: Naveca FG, Nascimento VAD, Souza VC, Nunes BT, Rodrigues DSG, Vasconcelos PFDC. Multiplexed reverse transcription real-time polymerase chain reaction for simultaneous detection of Mayaro, Oropouche, and Oropouche-like viruses. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2017 Jul;112(7):510-513. doi: 10.1590/0074-02760160062. PubMed PMID: 28591313; PubMed Central PMCID: PMC5452489.

- 66: Estofolete CF, Mota MT, Vedovello D, Góngora DV, Maia IL, Nogueira ML. Mayaro fever in an HIV-infected patient suspected of having Chikungunya fever. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2016 Sep-Oct;49(5):648-652. doi: 10.1590/0037-8682-0093-2016. PubMed PMID: 27812665.
- 67: Llagonne-Barets M, Icard V, Leparç-Goffart I, Prat C, Perpoint T, André P, Ramière C. A case of Mayaro virus infection imported from French Guiana. *J Clin Virol.* 2016 Apr;77:66-8. doi: 10.1016/j.jcv.2016.02.013. Epub 2016 Feb 20. Review. PubMed PMID: 26921736
- 68: Serra OP, Cardoso BF, Ribeiro AL, Santos FA, Shlessarenko RD. Mayaro virus and dengue virus 1 and 4 natural infection in culicids from Cuiabá, state of Mato Grosso, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2016 Jan;111(1):20-9. doi:10.1590/0074-02760150270. PubMed PMID: 26784852; PubMed Central PMCID: PMC4727432.
- 69: Lwande OW, Obanda V, Bucht G, Mosomtai G, Otieno V, Ahlm C, Evander M. Global emergence of Alphaviruses that cause arthritis in humans. *Infect Ecol Epidemiol.* 2015 Dec 18;5:29853. doi: 10.3402/iee.v5.29853. eCollection 2015. PubMed PMID: 26689654; PubMed Central PMCID: PMC4685977.
- 70: Auguste AJ, Liria J, Forrester NL, Giambalvo D, Moncada M, Long KC, Morón D, de Manzione N, Tesh RB, Halsey ES, Kochel TJ, Hernandez R, Navarro JC, Weaver SC. Evolutionary and Ecological Characterization of Mayaro Virus Strains Isolated during an Outbreak, Venezuela, 2010. *Emerg Infect Dis.* 2015 Oct;21(10):1742-50. doi: 10.3201/eid2110.141660. PubMed PMID: 26401714; PubMed Central PMCID: PMC4593426.
- 71: Vieira CJ, Silva DJ, Barreto ES, Siqueira CE, Colombo TE, Ozanic K, Schmidt DJ, Drumond BP, Mondini A, Nogueira ML, Bronzoni RV. Detection of Mayaro virus infections during a dengue outbreak in Mato Grosso, Brazil. *Acta Trop.* 2015 Jul;147:12-6. doi: 10.1016/j.actatropica.2015.03.020. Epub 2015 Mar 24. PubMed PMID: 25817238.
- 72: Zuchi N, Heinen LB, Santos MA, Pereira FC, Shlessarenko RD. Molecular detection of Mayaro virus during a dengue outbreak in the state of Mato Grosso, Central-West Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2014 Sep;109(6):820-3. Epub 2014 Aug 19. PubMed PMID: 25141284; PubMed Central PMCID: PMC4238776.
- 73: Batista PM, Andreotti R, Almeida PS, Marques AC, Rodrigues SG, Chiang JO, Vasconcelos PF. Detection of arboviruses of public health interest in free-living New World primates (*Sapajus* spp.; *Alouatta caraya*) captured in Mato Grosso do Sul, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2013 Nov-Dec;46(6):684-90. doi: 10.1590/0037-8682-0181-2013. PubMed PMID: 24474008.
- 74: Mourão MP, Bastos Mde S, de Figueiredo RP, Gimaque JB, Galusso Edos S, Kramer VM, de Oliveira CM, Naveca FG, Figueiredo LT. Mayaro fever in the city of Manaus, Brazil, 2007-2008. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2012 Jan;12(1):42-6. doi: 10.1089/vbz.2011.0669. Epub 2011 Sep 16. PubMed PMID: 21923266; PubMed Central PMCID: PMC3249893.
- 75: Santana Vdos S, Lavezzo LC, Mondini A, Terzian AC, Bronzoni RV, Rossit AR, Machado RL, Rahal P, Nogueira MC, Nogueira ML. Concurrent Dengue and

malaria in the Amazon region. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2010 Sep-Oct;43(5):508-11. PubMed PMID:21085859.

76: Pauvolid-Corrêa A, Tavares FN, Costa EV, Burlandy FM, Murta M, Pellegrin AO, Nogueira MF, Silva EE. Serologic evidence of the recent circulation of Saint Louis encephalitis virus and high prevalence of equine encephalitis viruses in horses in the Nhecolândia sub-region in South Pantanal, Central-West Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2010 Sep;105(6):829-33. PubMed PMID: 20945001.

77: Forshey BM, Guevara C, Laguna-Torres VA, Cespedes M, Vargas J, Gianella A, Vallejo E, Madrid C, Aguayo N, Gotuzzo E, Suarez V, Morales AM, Beingolea L, Reyes N, Perez J, Negrete M, Rocha C, Morrison AC, Russell KL, Blair PJ, Olson JG, Kochel TJ; NMRCD Febrile Surveillance Working Group. Arboviral etiologies of acute febrile illnesses in Western South America, 2000-2007. *PLoS Negl Trop Dis.* 2010 Aug 10;4(8):e787. doi: 10.1371/journal.pntd.0000787. PubMed PMID: 20706628; PubMed Central PMCID: PMC2919378.

78: Terzian AC, Mondini A, Bronzoni RV, Drumond BP, Ferro BP, Cabrera EM, Figueiredo LT, Chiaravalloti-Neto F, Nogueira ML. Detection of Saint Louis encephalitis virus in dengue-suspected cases during a dengue 3 outbreak. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011 Mar;11(3):291-300. doi: 10.1089/vbz.2009.0200. Epub 2010 Jul 20. PubMed PMID: 20645866.

79: Caceda ER, Kochel TJ. Application of modified shell vial culture procedure for arbovirus detection. *PLoS One.* 2007 Oct 17;2(10):e1034. PubMed PMID:17940598; PubMed Central PMCID: PMC2013940.

80: Coimbra TL, Santos CL, Suzuki A, Petrella SM, Bisordi I, Nagamori AH, Marti AT, Santos RN, Fialho DM, Lavigne S, Buzzar MR, Rocco IM. Mayaro virus: imported cases of human infection in São Paulo State, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2007 Jul-Aug;49(4):221-4. PubMed PMID: 17823750.

81: Wang E, Paessler S, Aguilar PV, Carrara AS, Ni H, Greene IP, Weaver SC. Reverse transcription-PCR-enzyme-linked immunosorbent assay for rapid detection and differentiation of alphavirus infections. *J Clin Microbiol.* 2006 Nov;44(11):4000-8. Epub 2006 Sep 6. PubMed PMID: 16957044; PubMed Central PMCID: PMC1698312.

82: Navarrete-Espinosa J, Gómez-Dantés H. [Arbovirus causing hemorrhagic fever at [IMSS]]. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc.* 2006 Jul-Aug;44(4):347-53. Spanish. PubMed PMID: 16904038.

83: Bronzoni RV, Moreli ML, Cruz AC, Figueiredo LT. Multiplex nested PCR for Brazilian Alphavirus diagnosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2004 Aug;98(8):456-61. PubMed PMID: 15186933.

84: Junt T, Heraud JM, Lelarge J, Labeau B, Talarmin A. Determination of natural versus laboratory human infection with Mayaro virus by molecular analysis. *Epidemiol Infect.* 1999 Dec;123(3):511-3. PubMed PMID: 10694165; PubMed Central PMCID: PMC2810788.

85: Figueiredo LT, Nogueira RM, Cavalcanti SM, Schatzmayr H, da Rosa AT. Study of two different enzyme immunoassays for the detection of Mayaro virus antibodies. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1989 Jul-Sep;84(3):303-7. PubMed PMID: 2562487.

Formulário de Condução da Revisão

Fonte: LILACS

Data da Busca: 08/06/2019

String de Busca: mayaro virus diagnosis

Lista de Artigos encontrados:

86. Esposito, Danillo Lucas Alves; Fonseca, Benedito Antonio Lopes da. - Will Mayaro virus be responsible for the next outbreak of an arthropod-borne virus in Brazil? - Braz. j. infect. dis;21(5): 540-544, Sept.-Oct. 2017.

87. Naveca, Felipe Gomes; Nascimento, Valdinete Alves do; Souza, Victor Costa de; Nunes, Bruno Tardelli Diniz; Rodrigues, Daniela Sueli Guerreiro; Vasconcelos, Pedro Fernando da Costa. - Multiplexed reverse transcription real-time polymerase chain reaction for simultaneous detection of Mayaro, Oropouche, and Oropouche-like viruses - Mem. Inst. Oswaldo Cruz;112(7): 510-513, July 2017.

88. Navarro Rojas, Pedro; de la Parte-Pérez, María Antonia; Dentale, Lisbeth; Medina, Sara; Reyes Romero, Heberto; Lobatón, Kevin; Chang, Andrés; Reyes Barrios, Heberto. - Mayaro: La cuarta arbovirose de relevancia médica - Bol. venez. infectol;27(2): 79-84, jul.-dic. 2016.

89. Santana, Vinícius dos Santos; Lavezzo, Lígia Carolina; Mondini, Adriano; Terzian, Ana Carolina Bernardes; Bronzoni, Roberta Vieira de Moraes; Rossit, Andrea Regina Baptista; Machado, Ricardo Luiz Dantas; Rahal, Paula; Nogueira, Mara Correa Lelles; Nogueira, Maurício Lacerda. - Concurrent dengue and malaria in the Amazon region - Co-infecção por dengue e malária na região Amazônica - Rev. Soc. Bras. Med. Trop;43(5): 508-511, set.-out. 2010.

90. Cruz, Ana Cecilia Ribeiro; Prazeres, Assis do Socorro Correa dos; Gama, Eliana Colares; Lima, Maxwell Furtado de; Azevedo, Raimunda do Socorro Silva; Casseb, Lívia Medeiros Neves; Nunes Neto, Joaquim Pinto; Martins, Lívia Carício; Chiang, Jannifer Oliveira; Rodrigues, Sueli Guerreiro; Vasconcelos, Pedro Fernando da Costa. - Vigilância sorológica para arbovírus em Juruti, Pará, Brasil - Serological survey for arboviruses in Juruti, Pará State, Brazil - Cad. saúde pública;25(11): 2517-2523, nov. 2009.

91. Coimbra, Terezinha Lisieux M; Santos, Cecília L. S; Suzuki, Akemi; Petrella, Selma M. C; Bisordi, Ivani; Nagamori, Adélia H; Marti, Antonia T; Santos,

Raimundo N; Fialho, Danya M; Lavigne, Shirlene; Buzzar, Marcia R; Rocco, Iray M. - Mayaro virus: imported cases of human infection in São Paulo State, Brazil - Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo;49(4): 221-224, Jul.-Aug. 2007.

92. Figueiredo, Luiz Tadeu Moraes; Nogueira, Rita Maria Ribeiro; Cavalcanti, Sílvia Maria Baêta; Schatzmayr, Hermann; Rosa, Amélia Travassos da. - Study of two different enzyme immunoassays for the detection of Mayaro virus antibodies - Mem. Inst. Oswaldo Cruz;84(3): 303-7, jul.-set. 1989.

ANEXO 2

	Autor	Crítérios	Resultado
1	(WHITE <i>et al.</i> , 2018)	(a)(b)	Incluído
2	(ALVA-URCIA <i>et al.</i> , 2017)	(b)	Incluído
3	(MEDINA <i>et al.</i> , 2015)	(F)(c)	Excluído
4	(DA SILVA PESSOA VIEIRA <i>et al.</i> , 2015)	(a)(b)	Incluído
5	(ZUCHI <i>et al.</i> , 2014)	(a)(b)	Incluído
6	(MARTINS <i>et al.</i> , 2014)	(b)	Incluído
7	(LONG <i>et al.</i> , 2011)	(d)	Excluído
8	(TERZIAN <i>et al.</i> , 2011)	(f)	Excluído
9	(ESPOSITO; FONSECA, 2017)	(c)	Excluído
10	(BERNAL-VERA; FÁTIMA MARÍA; MENDOZA-TORRES, 2017)	(d)(f)	Excluído
11	(NAVECA <i>et al.</i> , 2017)	(d)	Excluído
12	(ESTOFOLETE <i>et al.</i> , 2016a)	(a)(b)	Incluído
13	(PEREIRA SERRA <i>et al.</i> , 2016)	(d)	Excluído

14	(MOURÃO <i>et al.</i> , 2015)	(c)	Excluído
15	(PAUVOLID-CORRÊA <i>et al.</i> , 2015)	(d)	Excluído
16	(ZUCHI <i>et al.</i> , 2014)	(c)	Excluído
17	(BATISTA <i>et al.</i> , 2013)	(d)	Excluído
18	(SANTANA <i>et al.</i> , 2010)	(f)	Excluído
19	(PAUVOLID-CORRÊA <i>et al.</i> , 2010)	(d)	Excluído
20	(COIMBRA <i>et al.</i> , 2007)	(a)(b)	Incluído
21	(FIGUEIREDO <i>et al.</i> , 1989)	(a)(b)	Incluído
22	(VICTOR HUGGO CÓRDOVA-PLUMA, CÉSAR AUGUSTO VEGA-LÓPEZ, ALEJANDRA ALARCÓN-SOTELO, 2018)	(f)	Excluído
23	(ESPOSITO; FONSECA, 2017)	(c)	Excluído
24	(ESPOSITO; DA FONSECA, 2017)	(f)(c)	Excluído
25	(BERNAL-VERA; FÁTIMA MARÍA; MENDOZA-TORRES, 2017)	(c)	Excluído
26	(NAVECA <i>et al.</i> , 2017)	(c)	Excluído
27	(Camacho Garcia, Daría Et Al., 2016)	(d)	Excluído
28	(HOYOS-LÓPEZ <i>et al.</i> , 2016)	(d)	Excluído
29	(O <i>et al.</i> , 2016)	(d)	Excluído
30	(KANTOR, 2018)	(f)	Excluído

31	(RICHARD HOYOS <i>et al.</i> , 2015)	(d)	Excluído
32	(SEIJO <i>et al.</i> , 2014)	(f)	Excluído
33	(PISANO <i>et al.</i> , 2012)	(f)	Excluído
34	(SANTANA <i>et al.</i> , 2010)	(c)	Excluído
35	(COIMBRA <i>et al.</i> , 2007)	(c)	Excluído
36	(Troyes <i>et al.</i> , 2006)	(e)	?????
37	(MARIA <i>et al.</i> , 2004)	(a)	Incluído
38	(CÁMARA <i>et al.</i> , 2003)	(f)	Excluído
39	(FIGUEIREDO <i>et al.</i> , 1989)	(c)	Excluído
40	(PEZZI <i>et al.</i> , 2019a)	(c)	Excluído
41	(PEZZI <i>et al.</i> , 2019b)	(c)	Excluído
42	(KIM <i>et al.</i> , 2019)	(f)	Excluído
43	(ACOSTA-AMPUDIA <i>et al.</i> , 2018)	(C)	Excluído
44	(LIANG <i>et al.</i> , 2018)	(d)	Excluído
45	(ALVA-URCIA <i>et al.</i> , 2017)	(c)	Excluído
46	(ROMEIRO <i>et al.</i> , 2016)	(f)	Excluído
47	(ZUCHI <i>et al.</i> , 2014)	(c)	Excluído
48	(SUHRBIER; JAFFAR-BANDJEE; GASQUE, 2012)	(c)	Excluído

49	(DE MORAIS BRONZONI <i>et al.</i> , 2005)	(b)(d)	Excluído
50	(BENGUE <i>et al.</i> , 2019)	(d)	Excluído
51	(LORENZ; FREITAS RIBEIRO; CHIARAVALLOTI- NETO, 2019)	(c)	Excluído
52	(FISCHER; DE LAMBALLERIE; DREXLER, 2019)	(f)	Excluído
53	(PINHEIRO <i>et al.</i> , 2019)	(f)(d)	Excluído
54	(PEZZI <i>et al.</i> , 2019b)	(c)	Excluído
55	(YUE <i>et al.</i> , 2019)	(d)	Excluído
56	(FUMAGALLI <i>et al.</i> , 2019)	(d)(e)	Excluído
57	(TUEKPRAKHON <i>et al.</i> , 2018)	(d)	Excluído
58	(DANILLO LUCAS ALVES; BENEDITO ANTONIO LOPES DA, 2018)	(d)	Excluído
59	(FUMAGALLI <i>et al.</i> , 2018)	(f)	Excluído
60	(WHITE <i>et al.</i> , 2018)	(c)	Excluído
61	(SMITH <i>et al.</i> , 2018)	(d)	Excluído
62	(FERREIRA <i>et al.</i> , 2018)	(d)	Excluído
63	(WAGGONER <i>et al.</i> , 2018)	(d)	Excluído
64	(ALVA-URCIA <i>et al.</i> , 2017)	(c)	Excluído
65	(NAVECA <i>et al.</i> , 2017)	(c)	Excluído

66	(ESTOFOLETE <i>et al.</i> , 2016a)	(c)	Excluído
67	(LLAGONNE-BARETS <i>et al.</i> , 2016)	(a)(b)	Incluído
68	(PEREIRA SERRA <i>et al.</i> , 2016)	(c)	Excluído
69	(Olivia Wesula Lwande, <i>et al.</i> , 2015)	(c)	Excluído
70	(AUGUSTE <i>et al.</i> , 2015)	(a)(b)	incluído
71	(DA SILVA PESSOA VIEIRA <i>et al.</i> , 2015)	(c)	Excluído
72	(ZUCHI <i>et al.</i> , 2014)	(c)	Excluído
73	(BATISTA <i>et al.</i> , 2013)	(c)	Excluído
74	(MOURÃO <i>et al.</i> , 2012)	(a)(b)	Incluído
75	(SANTANA <i>et al.</i> , 2010)	(c)	Excluído
76	(PAUVOLID-CORRÊA <i>et al.</i> , 2010)	(c)	Excluído
77	(FORSHEY <i>et al.</i> , 2010)	(a)(b)	Incluído
78	(TERZIAN <i>et al.</i> , 2011)	(c)	Excluído
79	(CACEDA; KOCHÉL, 2007)	(d)	Excluído
80	(COIMBRA <i>et al.</i> , 2007)	(c)	Excluído
81	(WANG <i>et al.</i> , 2006b)	(d)	Excluído
82	(NAVARRETE-ESPINOSA; GÓMEZ-DANTÉS, 2006)	(a)(b)	incluído

83	(BRONZONI <i>et al.</i> , 2004a)	(b)(d)	Excluído
84	(JUNT T; HERAUD JM; LELARGE J; LABEAU B; TALARMIN, 1999)	(a)(b)	incluído
85	(FIGUEIREDO <i>et al.</i> , 1989)	(a)(b)	Incluído
86	(ESPOSITO; FONSECA, 2017)	(c)	Excluído
87	(NAVECA <i>et al.</i> , 2017)	(d)	Excluído
88	(NAVARRO <i>et al.</i> , 2016)	(c)	Excluído
89	(SANTANA <i>et al.</i> , 2010)	(c)	Excluído
90	(CRUZ <i>et al.</i> , 2009)	(a)(b)	Incluído
91	(COIMBRA <i>et al.</i> , 2007)	(c)	Excluído
92	(FIGUEIREDO <i>et al.</i> , 1989)	(c)	Excluído

Section/ topic	#	Checklist item	Repor ted on page #
TITLE			
Title	1	Identify the report as a systematic review, meta-analysis, or both.	1
ABSTRACT			
Structured summary	2	Provide a structured summary including, as applicable: background; objectives; data sources; study eligibility criteria, participants, and interventions; study appraisal and synthesis methods; results; limitations; conclusions and implications of key findings; systematic review registration number.	1
INTRODUCTION			
Rationale	3	Describe the rationale for the review in the context of what is already known.	1
Objectives	4	Provide an explicit statement of questions being addressed with reference to participants, interventions, comparisons, outcomes, and study design (PICOS).	1
METHODS			
Protocol and registration	5	Indicate if a review protocol exists, if and where it can be accessed (e.g., Web address), and, if available, provide registration information including registration number.	Anex o 1
Eligibility criteria	6	Specify study characteristics (e.g., PICOS, length of follow-up) and report characteristics (e.g., years considered, language, publication status) used as criteria for eligibility, giving rationale.	NA
Information sources	7	Describe all information sources (e.g., databases with dates of coverage, contact with study authors to identify additional studies) in the search and date last searched.	Anex o 1
Search	8	Present full electronic search strategy for at least one database, including any limits used, such that it could be repeated.	Anex o 1
Study selection	9	State the process for selecting studies (i.e., screening, eligibility, included in systematic review, and, if applicable, included in the meta-analysis).	Anex o 2

Data collection process	10	Describe method of data extraction from reports (e.g., piloted forms, independently, in duplicate) and any processes for obtaining and confirming data from investigators.	2,3
Data items	11	List and define all variables for which data were sought (e.g., PICOS, funding sources) and any assumptions and simplifications made.	5,6,7,8
Risk of bias in individual studies	12	Describe methods used for assessing risk of bias of individual studies (including specification of whether this was done at the study or outcome level), and how this information is to be used in any data synthesis.	2
Summary measures	13	State the principal summary measures (e.g., risk ratio, difference in means).	NA
Synthesis of results	14	Describe the methods of handling data and combining results of studies, if done, including measures of consistency (e.g., I ²) for each meta-analysis.	NA

Section/ topic	#	Checklist item	Reported on page #
Risk of bias across studies	15	Specify any assessment of risk of bias that may affect the cumulative evidence (e.g., publication bias, selective reporting within studies).	NA
Additional analyses	16	Describe methods of additional analyses (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression), if done, indicating which were pre-specified.	NA
RESULTS			
Study selection	17	Give numbers of studies screened, assessed for eligibility, and included in the review, with reasons for exclusions at each stage, ideally with a flow diagram.	3
Study characteristics	18	For each study, present characteristics for which data were extracted (e.g., study size, PICOS, follow-up period) and provide the citations.	5.6.7.8
Risk of bias within studies	19	Present data on risk of bias of each study and, if available, any outcome level assessment (see item 12).	NA
Results of individual studies	20	For all outcomes considered (benefits or harms), present, for each study: (a) simple summary data for each intervention group (b) effect estimates and confidence intervals, ideally with a forest plot.	NA

Synthesis of results	2 1	Present results of each meta-analysis done, including confidence intervals and measures of consistency.	NA
Risk of bias across studies	2 2	Present results of any assessment of risk of bias across studies (see Item 15).	NA
Additional analysis	2 3	Give results of additional analyses, if done (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression [see Item 16]).	NA
DISCUSSION			
Summary of evidence	2 4	Summarize the main findings including the strength of evidence for each main outcome; consider their relevance to key groups (e.g., healthcare providers, users, and policy makers).	4
Limitations	2 5	Discuss limitations at study and outcome level (e.g., risk of bias), and at review-level (e.g., incomplete retrieval of identified research, reporting bias).	8
Conclusions	2 6	Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence, and implications for future research.	8
FUNDING			
Funding	2 7	Describe sources of funding for the systematic review and other support (e.g., supply of data); role of funders for the systematic review.	2

CAPÍTULO 2

AVALIAÇÃO MOLECULAR DO VÍRUS MAYARO EM PACIENTES ARBOVIROSE *LIKE* EM GOIÂNIA, GOIÁS

RESUMO

As arboviroses acometem milhares de pessoas em todo o mundo todos os anos. As doenças causadas pelos vírus são consideradas um problema de saúde pública muitas vezes negligenciadas. Sintomas ditos dengue sindrômicos são características marcantes destas infecções, como febre, artralgia e exantema. O diagnóstico diferencial se dá por técnicas sorológicas e moleculares. O presente estudo teve como escopo aplicação de testes moleculares para o diagnóstico do *Alphavirus* Mayaro em pacientes com arbovirose *like* na cidade de Goiânia, Goiás atendidos na unidade de saúde CAIS Jardim Novo Mundo. Entre maio a agosto de 2017 e janeiro a junho de 2018, 452 amostras de pacientes com arbovirose *like*, foram triados no CAIS do Jardim Novo Mundo com entrevista e coleta de sangue realizados pela equipe do projeto e as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Genética Molecular e Citogenética da Universidade Federal de Goiás e submetidos à triagem molecular por Reação da Cadeia de Polimerase seguida de reação da Transcriptase Reversa (RT-PCR). Para os casos indeterminados e positivos na primeira reação, uma RT-qPCR foi realizada para a confirmação da detecção viral. Amostras positivas foram submetidas a sequenciamento. Em paralelo, uma triagem molecular para o vírus Dengue por RT-PCR e RT-qPCR foi realizada pelo grupo do LGMC. A circulação do vírus Mayaro em regiões urbanas já é bem estabelecida, e é frequente o diagnóstico errôneo devido aos sintomas semelhantes a outras arboviroses. No estudo experimental 18 amostras foram positivas para a infecção por vírus Mayaro (RT-PCR e RT-qPCR), em teste paralelo realizado pelo grupo LGMC foram encontradas co-infecções com o vírus Dengue. As amostras positivas para MAYV/DENV foram analisadas filogeneticamente, sugerindo circulação de Dengue sorotipo 2 e uma linhagem Peruana do Vírus Mayaro (linhagem IQ 4235) em Goiânia.

Palavras chave: Mayaro, arbovirus, diagnóstico laboratorial, diagnóstico molecular, Reação em Cadeia da Polimerase.

ABSTRACT

Arboviruses affect thousands of people around the world every year. Diseases caused by viruses are considered a public health problem often neglected. Symptoms called syndromic dengue are striking features of these infections, such as fever, arthralgia and rash. The differential diagnosis is based on serological and molecular techniques. The present study has the scope of evaluation of diagnostic techniques in studies published in the literature and elaborate a Systematic Review of Literature, aiming at the laboratory approach the detection of Mayaro virus that enables health professionals to perform an efficient diagnosis. Associated with a systematic review of the literature this work is based on the application of molecular tests for the diagnosis of Mayaro Alphavirus in patients with dengue syndromic symptoms in the city of Goiânia, Goiás, attended at the Jardim Novo Mundo health unit. The available literature was evaluated focusing on the diagnosis of Mayaro virus in humans and its methodologies. Between May and August 2017 and January to June 2018, 452 samples of patients with dengue syndromic symptoms were referred to the Laboratory of Molecular Genetics and Cytogenetics of the Federal University of Goiás, submitted to molecular sorting by Polymerase Chain Reaction followed by reaction of Reverse Transcriptase (RT-PCR) followed by RT-qPCR (quantitative PCR) for viral detection. Positive samples were submitted to sequencing. In parallel, molecular screening for Dengue virus by RT-PCR and RT-qPCR was performed by the LGMC group. The systematic review has shown that circulation of the Mayaro virus in urban regions is already well established, and the misdiagnosis is often due to symptoms similar to other arboviruses. In the experimental study, 17 samples were positive for Mayaro virus infection (RT-PCR and RT-qPCR), and co-infections with Dengue virus. The samples were analyzed phylogenetically, suggesting circulation of Dengue serotype 2 and a Peruvian lineage of the Mayaro virus (strain IQ 4235) in Goiânia.

Key words: Mayaro, arbovirus, laboratory diagnosis, Molecular diagnosis, Polymerase Chain Reaction.

INTRODUÇÃO

O vírus Mayaro também pertence ao gênero Alphavirus pertencente à família *Togaviridae* apresenta casos de infecções em humanos principalmente na América do Sul e Central, predominantemente na região da Amazônia. O vírus é adaptado a uma variedade enorme de vetores e hospedeiros, a transmissão se dá pelo mosquito *Haemagogus* em áreas de floresta, porém a adaptação do vírus aos mosquitos *Aedes* spp que são encontrados em áreas urbanas, estabeleceu a transmissão do mesmo em áreas povoadas. Os sintomas são autolimitados, caracterizado por episódios febris, artralgia com alguns casos apresentando artrite, causando incapacidade dos pacientes de executar tarefas rotineiras (ARENÍVAR *et al.*, 2019; DE CASTRO-JORGE *et al.*, 2019; FIGUEIREDO *et al.*, 2019)

A alta taxa de mutações genéticas nesses vírus se dá devido à falta de mecanismos de reparo em sua replicação. Estas mutações podem explicar a variação e a amplitude dos surtos, pois estes mecanismos são utilizados a favor da replicação nas células dos hospedeiros, colaborando para a adaptação em ambientes e organismos (DONALISIO *et al.*, 2017; SAM *et al.*, 2012).

O diagnóstico laboratorial das arboviroses deve levar em conta a duração da infecção nos indivíduos, do primeiro ao sétimo dia de sintomas onde é caracterizada infecção aguda. A técnica de diagnóstico recomendada deve ser a Reação em Cadeia da Polimerase precedida de reação da Transcriptase Reversa (RT-PCR), devido à altas chances de se detectar o material genético viral (RNA) no sangue devido ao ápice de cópias virais se dar nesta fase. Após a fase aguda, a fase de convalescência se dá pela diminuição destas partículas no sangue, dificultando a detecção (SOUSA, 2019).

O diagnóstico diferencial das arboviroses se faz necessário na busca de tratamentos eficientes e específicos relativos aos sintomas demonstrados pelo paciente (MANIERO *et al.*, 2016). Frente a surtos sazonais dessas doenças, testes rápidos imunocromatográficos para a detecção rápida, diferencial e qualitativa de anticorpos IgM e IgG foram desenvolvidos para detecção dos vírus de maior circulação. No Brasil, a Bahiafarma desenvolveu e distribuiu esses testes até o ano de 2018, onde precisou ser recolhido devido ineficácia. Ainda não existe nenhum teste rápido que detecte a ocorrência de MAYV.

JUSTIFICATIVA

Sendo o MAYV considerado como um dos maiores arbovírus emergentes dos neotrópicos e que nos últimos anos, diversos registros de epidemias por arboviroses foram relatados em todo mundo, além do elevado número de casos registrados destas arboviroses, se faz necessária a utilização de uma ferramenta que seja capaz de triar as cepas circulantes de determinado vírus pois a falta de kits diagnósticos de qualidade prejudicam os serviços de saúde pública e estudos epidemiológicos, evitando-se casos de diagnósticos errôneos.

OBJETIVO GERAL

Elaborar e aplicar testes de diagnósticos moleculares para o vírus Mayaro em pacientes arbovirose *like* advindos de uma unidade de saúde na cidade de Goiânia.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Confeção de um Primer específico para a detecção do vírus Mayaro.
- Aplicar a técnica de RT PCR em pacientes arboviroses *like* atendidas no Cais Jardim Novo Mundo.

METODOLOGIA

POPULAÇÃO DO ESTUDO E COLETA DE AMOSTRAS

O estudo foi realizado em pacientes com sintomatologia arbovirose *like*, suspeitas de infecções para DENV, ZIKV, CHIKV ou MAYV que foram atendidos no CAIS (Centro de Atenção Integral à Saúde) Jardim Novo Mundo localizado na Avenida Pau Brasil - Chácara Califórnia, Goiânia - GO, 74005-010, no período de maio a agosto de 2017 e de Janeiro a Junho de 2018.

As 452 amostras de sangue total dos pacientes suspeitos para arboviroses *like*, foram coletados e armazenados em tubos com ativador de coágulo e gel separador Vacuplast®. As amostras foram acondicionadas em caixas térmicas e

transportadas para Laboratório e Genética Molecular e Citogenética (LGMC) que se encontra no Instituto de Ciências Biológicas I no Campus Samambaia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia – Goiás. As amostras coletadas em gel separador onde foram processadas (centrifugadas por 3 minutos a 5000rpm e o soro aliquoteado em tubos estéreis de 2mL) e armazenadas em ultra *freezer* -80°C no LGMC para testes moleculares. Posteriormente, as amostras colhidas em tubo com EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético) foram encaminhada para o LACES, Laboratório de Análises Clínicas e Ensino em Saúde da UFG onde foi realizado o hemograma. Todas as alicotas foram guardadas no LGMC.

Os pacientes atendidos são advindos de localidades variadas da cidade de Goiânia, Goiás. Dados de vacinação contra alguma arbovirose, histórico de provável viagem no período prévio à coleta (15 dias) não foram informados.

EXTRAÇÃO DO RNA

Para extração do RNA viral foi utilizado o kit BioGene® Extração de DNA/RNA Viral K204 (produzido por Bioclin - Quibasa Química Básica LTDA; Reg. ANVISA: 10269360296), em conformidade com as instruções do fabricante.

TRANSCRIPTASE REVERSA - cDNA

Para a síntese de DNA complementar (cDNA), a Reação da Transcriptase Reversa foi utilizada segundo protocolo do kit M-MLV Reverse Transcriptase (SIGMA-ALDRICH, Saint Louis – USA) em um microtubo de 0,5 mL livre de RNase e DNase. No primeiro passo, o mix da reação com 1 µL de RNA, 1 µL de dNTP (10 mM), 1 µL de *primer* (10 mM) e 7 µL de água livre de RNase e DNase, foi incubado por 10 minutos a 70°C. O segundo mix, com 2 µL de buffer 10x (500 mM Tris-HCl, pH 8,3 com 500 mM KCl, 30 mM de MgCl₂ e 50 mM DTT), 1 µL da enzima (M-MLV Reverse Transcriptase) e 7 µL de água livre de RNase e DNase foi preparado enquanto as amostras foram mantidas em gelo.

O segundo mix foi homogeneizado juntamente ao primeiro e incubado a 37° C por 50 minutos seguido de incubação final a 85° C por 10 minutos.

REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE CONVENCIONAL, (RT-PCR) PARA DETECÇÃO DE MAYV.

A linhagem MAYV BR/SJRP/LPV01/2015 (GeneBank KT818520.1), foi cedida pelo Dr. Rafael Elias Marques do Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais como controle positivo nas reações de MAYV e para a validação da reação.

Para a amplificação do cDNA para a detecção do vírus MAYARO foram utilizadas as sequências consenso *Foward primer*: GACGACCTGCAGTCAGTGAT; *Reverse primer*: GTCTTAAAGGCCACAGGCA. Estas sequências foram usadas para projetar amplicons de 925 pares de base (pb), referente a região nsP1-2 do vírus de interesse (SOUSA, 2019).

As condições da reação foram otimizadas para que os resultados mostrassem ampliações confiáveis, seguindo as orientações preconizadas pelos primers usando o *OligoAnalyzer Tool* - <https://www.idtdna.com/pages>.

Na reação foi usado tubo de 0,5mL livre de contaminantes (by Life Technologies™). O mix foi composto de 2,5 µL de PCR Buffer 10x (200 mM Tris-HCl (pH 8,4); 500 mM KCl), 1 µL de MgCl₂ (50 mM), 0,5 µL dNTP (10 mM), 5 µL primer (2,5 µM), 0,5 µL Platinum Taq DNA Polimerase (5U/µL) e 14,5 µL de água livre de RNase e DNase. Do cDNA foi utilizado 1 µL num volume total da reação de 25 µL.

Para a padronização da técnica, foram utilizadas amostras sabidamente positivas para CHIKV para confirmação da não existência de reação cruzada devido aos vírus serem da mesma família. A termociclagem da PCR para detecção do MAYV está descrita na Tabela 5.

Tabela 5 : Termociclagem da PCR para MAYV.

	Temperatura (°C)	Tempo	Ciclos
Desnaturação Inicial	95°C	2 min	1
Desnaturação	95°C	30 seg	
Anelamento	60°C	1 min	35
Extensão	72°C	2 min	
Extensão Final	72°C	7 min	1

RT-qPCR

Para todas as amostras que apresentaram positivas para MAYV triadas por RT-PCR, foram submetidas a uma RT-qPCR para a confirmação da detecção viral. As amostras de soro positivas na 1ª. PCR foram encaminhadas para o Laboratório de Virologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, aos cuidados do Prof. Amilcar Tanuri, onde utilizaram sondas específicas para MAYV (NAVECA *et al.*, 2017) e o kit GoTaq® Probe qPCR Master Mix A6101;Promega, WI, USA) Termociclador StepOnePlus® Real Time da Applied Biosystems.

6.7 SEQUENCIAMENTO E ANÁLISE FILOGENÉTICA

Uma amostragem representativa positivas somente para MAYV e uma amostragem de co-infecção por outras arboviroses foram sequenciadas pelo método de SANGER (amplicons purificados utilizando a Thermo Scientific™ Exonuclease I (20 U/μL)). Os primers tinham como alvo os genes npP1-2 para MAYV e nsP5 para DENV pelo kit BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystem) com o equipamento ABI3130 (Applied Biosystems).

Para a genotipagem das sequências obtidas, as mesmas foram alinhadas com 56 sequências de MAYV disponíveis no GeneBank com o software MAFFT v7.407(KATO; STANDLEY, 2013). A árvore de inferência de semelhanças foi inferida com os softwares IQ-tree v1.6.218, modelo GRT + Γ 4(NGUYEN *et al.*, 2014). Testes de ramificação foram feitos com SH-aLRT (GUINDON, DUFAYARD, LEFORT, ANISIMOVA, HORDIJK, 2010; HOANG *et al.*, 2017).

As sequências para DENV foram alinhadas com 102 sequências utilizando as mesmas metodologias. O anexo 2 mostra o número de acesso das sequências utilizadas no estudo.

As análises foram feitas pela supervisão do PhD Amilcar Tanuri no Laboratório de Virologia Molecular, Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As análises gráficos e tabelas apresentadas neste estudo foram analisadas pelo software GraphPad Prism® 5, utilizando equações de média, desvio padrão, testes ANOVA e Tukey.

ANÁLISE DE CO-INFECÇÕES

Testes para o Dengue vírus foram realizados paralelamente por outro grupo do LGMC, que disponibilizaram os resultados de RT-PCR das 452 amostras, assim como os resultados hematológicos das amostras testadas.

ANÁLISE DOS HEMOGRAMAS REALIZADOS PELO LACES

Das 72 amostras positivas para Mayaro na RT-PCR, foram obtidos 38 resultados dos hemogramas realizados no LACES-UFG. A análise foi realizada separadamente em cada hemograma para observação de leucopenia. Posteriormente foi realizada análise estatística para comparação de cada parâmetro hematológico entre os hemogramas para possível relação hematológica e a infecção pelo vírus Mayaro ou co-infecção Mayaro – Dengue.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

PADRONIZAÇÃO DA TÉCNICA

O controle positivo correspondente à linhagem MAYV BR/SJRP/LPV01/2015 foi testado por meio de RT-PCR com primer específico visualizados em gel de agarose a 1,5% mostrado na figura 08, com o fragmento com 925pb desenhado pelo nosso grupo de pesquisa.

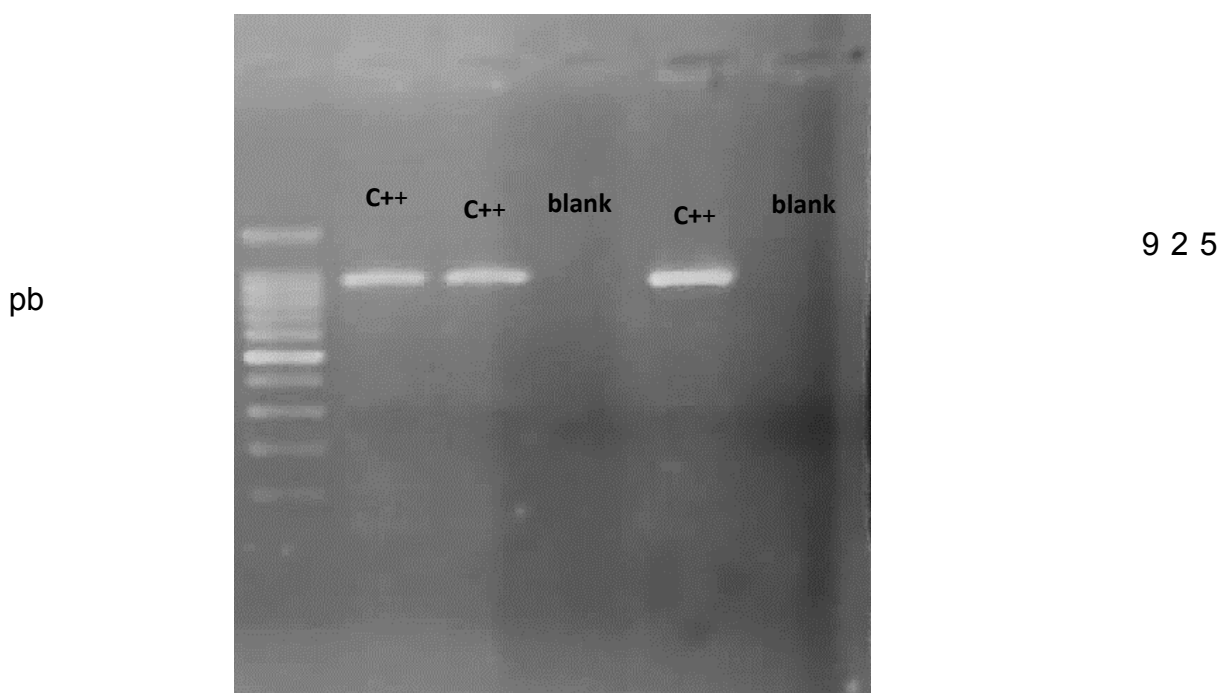


Figura 08: Eletroforese em gel de agarose com a banda esperada de 925pb, corado com brometo de etídio referente a padronização do primer com amostra controle positivo e negativo, e marcador molecular de 100 pares de base.

Para a padronização da técnica, foram utilizadas 5 amostras analisadas 5 amostras previamente positivas para CHIKV para descartar a possibilidade o primer se anelar em amostras de casos positivos para CHIKV, assim como amostras de RNA extraído da linhagem de Mayaro. A figura 9 mostra os resultados da padronização onde nenhuma amostra positiva para CHIKV teve amplificação do primer.

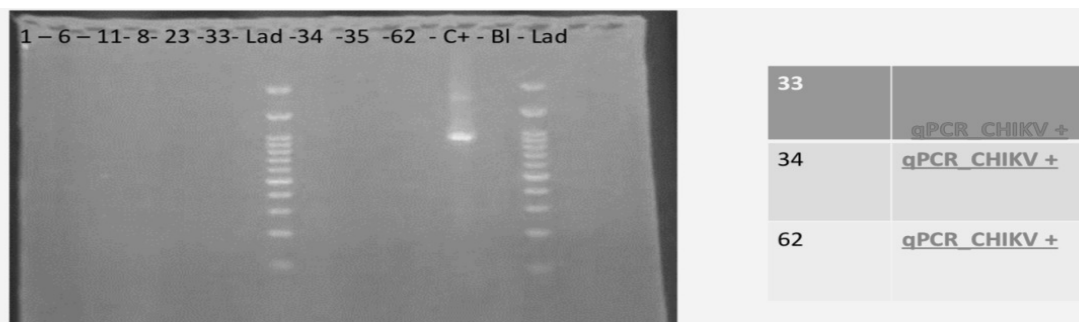


Figura 9: Gel de agarose contendo amostras positivas para CHIKV, não apresentando amplificações frente ao primer específico para MAYV.

Na triagem molecular por RT PCR de 452 amostras coletadas de pacientes com sintomas arboviroses *like*, 72 amostras foram positivas para MAYV (15,9%).

A Tabela 6 mostra a comparação dos resultados entre as técnicas utilizadas no trabalho referentes às 72 amostras positivas na RT-PCR e também apresenta os resultados dos hemogramas analisados.

Tabela 6: Descrição dos resultados referentes às 72 amostras positivas para MAYV na triagem da RT-PCR e os resultados da RT-qPCR e hemograma.

AMOSTRA	INICIAIS	DIAS DE SINTOMAS	qPCR MAYV	CI	qPCR DENV	CI	CO-INFECÇÃO – MAYV/ DENV- RT PCR	PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS
10	EPM	7	UND	12,40	UND	12,89	SIM	NÃO REALIZADO
13	SSA	21	UND	13,81	UND	14,12	NÃO	NÃO REALIZADO
20	ALSP	6	34,84	12,96	UND	13,23	SIM	NÃO REALIZADO
28	LCS	4	37,49	12,47	UND	13,06	SIM	NÃO REALIZADO
48	LRS	7	40,04	13,49	UND	13,95	SIM	NÃO REALIZADO
49	KMPR	4	UND	12,54	38,73	12,72	SIM	NÃO REALIZADO
52	LBS	1	UND	13,15	UND	13,36	NÃO	NÃO REALIZADO
55	LPCSO	6	35,92	12,54	UND	13,02	SIM	NÃO REALIZADO
57	ECS P	4	UND	12,47	UND	12,95	NÃO	NÃO REALIZADO
68	IDB	7	36,71	12,66	29,21	13,09	SIM	LEUCOPENIA
70	TSB	2	39,23	13,36	34,94	14,19	SIM	NÃO REALIZADO
73	WSP	1	UND	13,36	UND	13,55	SIM	NÃO REALIZADO
90	EVS S	5	UND	UND	NR		SIM	NÃO REALIZADO
110	NAF	1	37,59	12,35	33,88	12,98	SIM	NÃO REALIZADO
111	KLCS	3	34,45	UND	NR		SIM	NÃO REALIZADO
113	APS	1	33,78	UND	NR		SIM	NÃO REALIZADO
115	ESV S	3	36,79	UND	NR		SIM	NÃO REALIZADO
119	JSL	4	NR	NR	NR	NR	SIM	NÃO REALIZADO
120	YRF	1	41,98	13,14	UND	13,89	SIM	NÃO REALIZADO
121	CAO	3	UND	12,97	28,46	12,99	SIM	NÃO REALIZADO
127	KCS M	3	UND	13	UND	13,45	SIM	NÃO REALIZADO
128	AAL	4	39,7	13,04	UND	13,26	SIM	NÃO REALIZADO
129	VGP	0	UND	13,37	UND	13,37	SIM	NÃO REALIZADO

135	HPS	2	UND	13,14	UND	13,12	SIM	
136	DUS	3	37,57	12,95	UND	13,05	NÃO	NÃO REALIZADO
137	EAA	4	UND	13,25	UND	13,47	SIM	NÃO REALIZADO
145	MGS C	3	UND	14,36	UND	14,53	SIM	NÃO REALIZADO
151	LDP S	3	UND	12,63	29	12,87	SIM	normal
159	AJO	4	UND	12,85	UND	13,37	SIM	NÃO REALIZADO
168	RVS	3	UND	26,94	32,53	27,22	SIM	LEUCOPENIA, PLAQUETAS BAIXAS
173	ASS	1	UND	28,43	37,52	28,93	NÃO	LEUCOCITOSE
176	JM	2	UND	24,34	UND	27,55	SIM	LEUCOCITOSE
177	TSP	1	UND	26,64	37,75	26,88	SIM	LEUCOPENIA
179	RAM	6	38,7	25,52	UND	25,68	SIM	LEUCOCITOSE, PLAQUETAS BAIXAS
185	GLL O	1	39,93	24,51	24,15	24,51	SIM	LEUCOPENIA
186	GTM	7	UND	25,95	UND	26,06	SIM	LEUCOPENIA
187	ZPM	6	UND	27,22	UND	27,68	SIM	NÃO REALIZADO
189	AAP	3	UND	28,02	UND	28,36	SIM	LEUCOCITOSE
191	ATC	1	UND	28,44	UND	28,65	SIM	normal
192	VPL	2	UND	27,41	UND	27,79	SIM	LEUCOCITOSE
193	JCS	4	UND	28,13	UND	28,47	SIM	LEUCOPENIA
194	ETG	2	UND	27,39	UND	27,66	SIM	LEUCOCITOSE
195	MGP F	2	UND	32,09	UND	UND	SIM	normal
196	DPS	2	37,96	28,37	UND	28,51	SIM	LEUCOPENIA
202	EAS O	5	UND	27,34	42,81	27,71	SIM	NÃO REALIZADO
222	ESS	3	UND	27,96	UND	28,06	SIM	normal
228	KRS C	3	UND	26,73	UND	26,9	SIM	LEUCOPENIA
229	YOS	1	UND	27,06	UND	27,33	SIM	normal
230	MMS	1	UND	30,31	UND	31,08	SIM	LEUCOPENIA
234	MGS A	3	36,96	28,79	UND	28,93	SIM	LEUCOPENIA
237	KPA SD	6	UND	26,59	UND	26,71	SIM	LEUCOCITOSE
238	ESF	4	UND	29,55	UND	29,83	SIM	LEUCOCITOSE
240	JALC	5	UND	12,88	UND	UND	SIM	LEUCOCITOSE
241	TAA	2	UND	12,8	29,79	UND	SIM	LEUCOPENIA
246	IJGC	1	UND	12,87	34,25	25,44	SIM	NÃO REALIZADO

264	SPD	4	UND	12,94	30,83	23,43	SIM	LEUCOPENIA
266	EPV	3	UND	12,94	34,7	26,45	SIM	LEUCOPENIA
268	LCV	1	UND	12,4	UND	UND	SIM	LEUCOPENIA
337	STS	3	UND	12,34	36,98	27,65	SIM	LEUCOPENIA
345	TSM S	0	UND	12,7	27,61	19,35	SIM	LEUCOPENIA
346	MIA	6	UND	12,61	44,63	UND	NÃO	LEUCOCITOSE
431	VALS	7	UND	16,68	UND	UND	SIM	LEUCOCITOSE
432	APS	5	35,92	12,76	UND	UND	NÃO	LEUCOPENIA
433	TCS F	2	NR	NR	NR		SIM	LEUCOPENIA
435	RGM L	2	UND	12,69	30,2		SIM	LEUCOPENIA, PLAQUETOPENIA
438	RSM	2	UND	13,66	UND	UND	NÃO	NÃO REALIZADO
439	APL SN	2	UND	13,62	UND	UND	NÃO	NÃO REALIZADO
451	APLL	4	UND	12,82	UND	UND	NÃO	LEUCOPENIA
453	SDO	6	UND	12,96	UND	UND	SIM	NÃO REALIZADO
454	RAG	4	UND	12,76	UND	UND	NÃO	LEUCOPENIA
468	NRR JS	1	UND	12,83	UND	UND	SIM	PLAQUETAS BAIXAS
469	SCO S	1	UND	12,97	UND	UND	SIM	LEUCOCITOSE
TOTAL : 72		MÉDIA 3,5	18 positivas				61 CO-INFECÇÕES	62% LEUCOPENIA

As amostras positivas foram submetidas a RT-qPCR para a confirmação da detecção viral e das 72 amostras testadas, 18 amostras positivaram para a segunda PCR.

Das 72 amostras positivas para Mayaro, 61 amostras apresentam co-infecção para MAYV e DENV-2.

Durante surtos de dengue, uma vigilância laboratorial é necessária para que casos de arboviroses sejam corretamente diagnosticados.

A virose causada pelo MAYV se dá de modo sutil comparando-se a outras viremias como a Dengue, sendo comumente diagnosticada erroneamente devido aos sintomas febris (ZUCHI *et al.*, 2014). Com a presença de mais uma arbovirose circulante, acredita-se que o diagnóstico clínico para as arboviroses torna-se mais confuso para os clínicos, principalmente quando o paciente apresenta co-infecção, podendo mesclar suas manifestações clínicas.

Como pudemos observar, houve um percentual alto de casos positivos para MAYV e DENV-2 61/72 (84,5%) por RT-PCR, o que corrobora com casos já descritos na literatura com diagnósticos moleculares até o momento, como em estudo relatado por Zuchi 2014, das amostras positivas para MAYV, 12/15 (80%) apresentaram-se co-infectados com DENV-4 no Mato Grosso em áreas urbanas.

Em Cuiabá, Serra et al (2013) obtiveram 60% de casos positivos para MAYV em área urbana, onde vetores silvestres não são tipicamente encontrados. Estudos como este mostram a necessidade de um maior entendimento a respeito do ciclo de transmissão do MAYV em áreas de cidade.

Em 2018, a cidade de Goiânia teve o maior número de casos DENV relatado no Boletim Epidemiológico com 15.215 casos. A região Centro-Oeste é uma das regiões com maior incidência da doença (BRASIL, 2018).

É importante salientar que a região da América Central é endêmica para todos os sorotipos de DENV e as demais arboviroses podem ser transmitidas pelo mesmo vetor, compartilhando hospedeiros, sendo de grande importância a inclusão de todas as arboviroses em triagens laboratoriais no sistema de saúde como ferramenta de vigilância, conscientização da população da circulação dessas doenças e a busca de atendimento médico, podendo assim estudar de forma concisa a dinâmica das arboviroses na cidade de Goiânia.

Os resultados obtidos confirmam a co-circulação dos vírus MAYV e DENV na cidade de Goiânia-Goiás e os resultados discordantes entre as duas técnicas moleculares sugerem a possibilidade de degradação do vírus na amostra devido a alta sensibilidade deste vírus a variações de temperatura seja no descongelamento repetitivo, transporte ou manipulação.

ANÁLISE DOS HEMOGRAMAS

Das 458 amostras triadas para MAYV, somente 38 tiveram resultados de hemograma. Não houve a realização de hemogramas de todas as amostras, pois não houve coleta de tubo EDTA desses pacientes para fins de pesquisa.

Das 72 amostras positivas para MAYV, foi possível realizar a análise de 38 hemogramas de pacientes positivos para infecção por MAYV na RT-PCR. A tabela 5 mostra análise geral dos dados hematológicos das amostras positivas somente para MAYV (5) e de amostras co-infectadas com MAYV/DENV (61).

A média em dias de sintomas e a detecção viral pelos testes realizados no LGMC foi de 3,5 dias. Foi possível observar que 62% dos pacientes positivos para MAYV e DENV, apresentaram leucopenia nas amostras analisadas. Nenhum outro fator diferencial foi encontrado nas análises do hemograma para pacientes com co-infecção. No trabalho de Oliveira; Rose; Cury (2009), foi possível observar a leucopenia em 47% dos pacientes infectados com DENV. Nossos dados corroboram com esse dado onde também é relatado leucopenia em pacientes infectados somente com DENV (OLIVEIRA; ROSE; CURY, 2009).

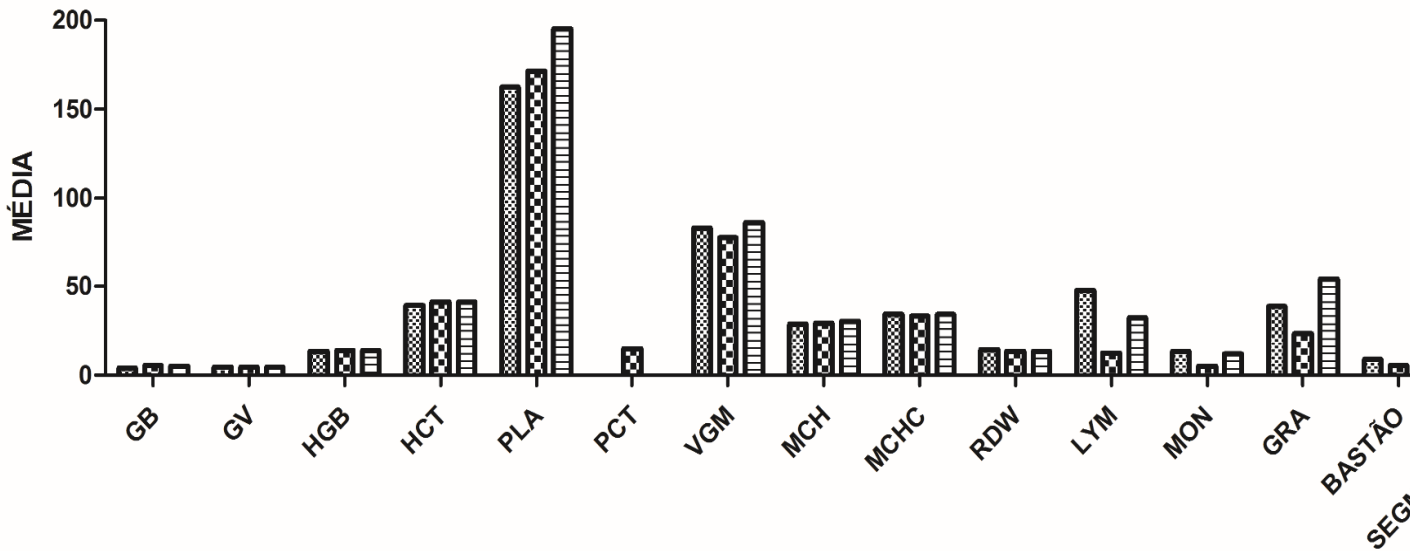
Souza (2013) avaliou 5686 pacientes adultos infectados com DENV no Rio de Janeiro entre 2010 e 2011 e em seus achados laboratoriais resultaram um quadro de leucopenia bem expressiva nos pacientes (51%) (SOUZA, 2013).

A replicação dos *Alphavirus* nas células leucocitárias resulta em leucopenia nos pacientes infectados, principalmente na fase aguda da doença (NAPOLEÃO-PEGO *et al.*, 2014). Todos os pacientes do nosso trabalho estavam na fase aguda da doença.

Segundo o Manual de Manejo Clínico de Chikungunya pelo Ministério da Saúde, é corriqueira a leucopenia com linfopenia em análises laboratoriais de pacientes infectados com este *Alphavirus* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

Em análise detalhada e comparativa com os parâmetros hematológicos individualizados dos nossos pacientes, os hemogramas de pacientes infectados com MAYV/DENV, MAYV ou DENV foram analisados e a média de cada parâmetro foi comparado entre os grupos por análise de variância ANOVA e pós teste Tukey. No Anexo 1 encontra-se os valores de referência. A figura 10 mostra os dados referentes às análises hematológicas.

Figura 10: Distribuição percentual de células de pacientes com arbovirose like. Teste **ANOVA** e **testes** de comparações Intervalo de confiança de **95%** em um nível de significância de 0,05. Os Resultados não mostraram diferença estatística ($p >$



Legenda:

GB: Glóbulos Brancos, GV: Glóbulos Vermelhos, HGB: Hemoglobina, HCT: Hematócrito, PLA: Plaquetas, PCT: Plaquetócrito, VGM: Volume Global
MCHC: Concentração média de Hemoglobina, RDW: Distribuição de Tamanho Celular, LYM: Linfócitos, MON: Monócitos, GRA: Granulócitos.

Não foram encontradas diferenças estatísticas entre as médias dos parâmetros hematológicos entre os pacientes dos diferentes grupos quando comparados por análise de variância ANOVA e pós teste Tukey.

A avaliação dos dados hematológicos nos pacientes infectados por arboviroses neste trabalho mostra a importância de estudos moleculares que são mais sensíveis e específicos para cada infecção, assim o diagnóstico não é apenas baseado em sintomas e sinais inespecíficos como reflete o estudo dos hemogramas aqui citado

SEQUENCIAMENTO E ANÁLISE FILOGENÉTICA

Amostras positivas para MAYV (n=18), foram submetidas ao sequenciamento Sanger. O sequenciamento das amostras positivas nas análises prévias corroborou com os resultados confirmando o diagnóstico para MAYV. A análise filogenética demonstrou que todas as sequências MAYV encontradas no estudo se pareiam com o genótipo D, advindo do Peru (MK070491; Linhagem IQT 4235), como demonstrado na Figura 12 e 13 que mostram os resultados das análises filogenéticas por máxima verossimilhança. Esses dados descartam possíveis hipóteses de uma possível contaminação devido as sequências encontradas nas amostras positivas não se agruparem com a sequência KT818520.1 (Genótipo L), usada como controle positivo para PCR. Todas as amostras de MAYV co-infectadas com DENV foram sequenciadas e as mesmas se alinharam com o sorotipo 2.

A

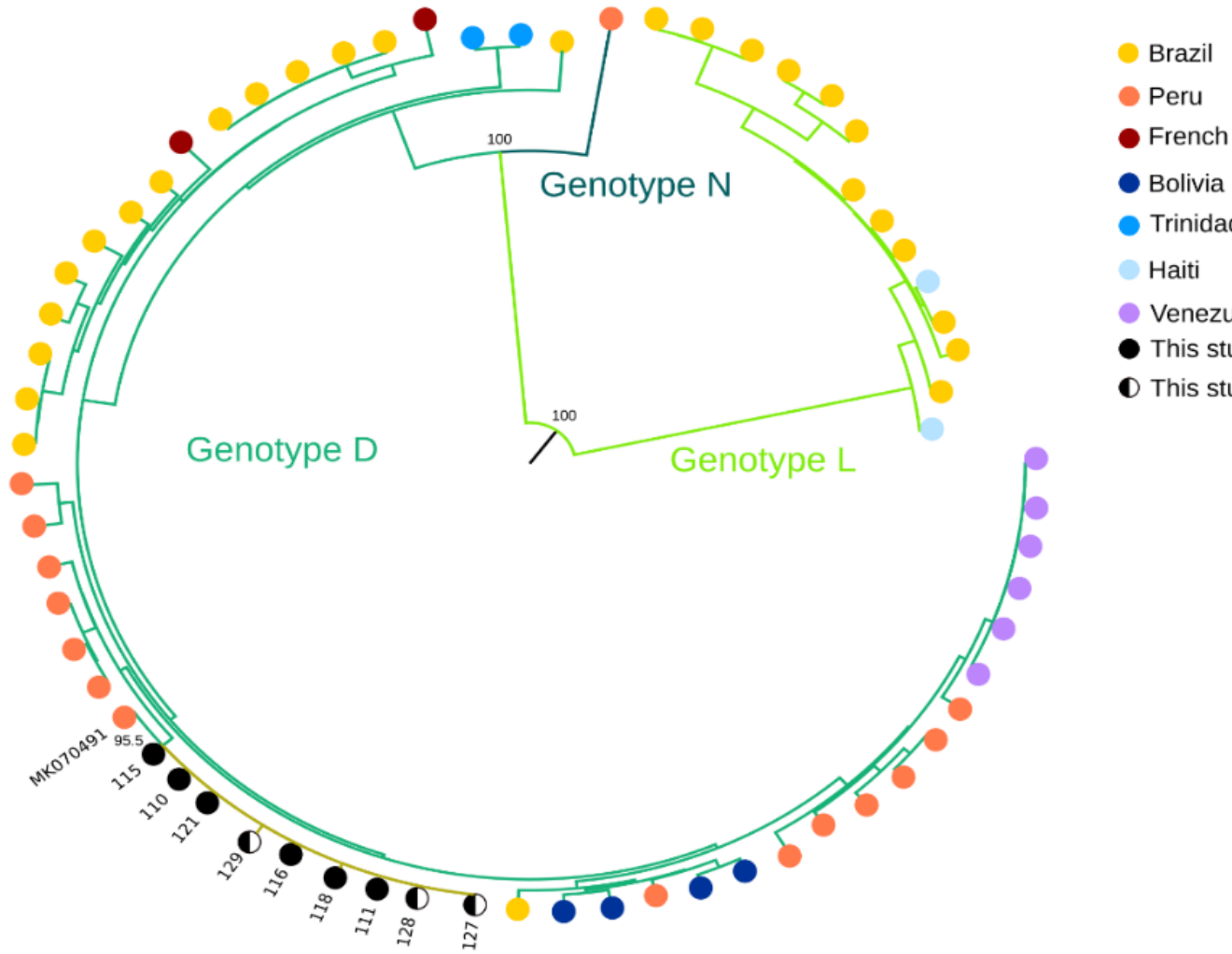


Figura 11. Resultados das Análises Filogenéticas por máxima verossimilhança ultra fast bootstrap (1000 replicas). Filogenética das amostras positivas para MAYV agrupados em países de maior ocorrência.

B

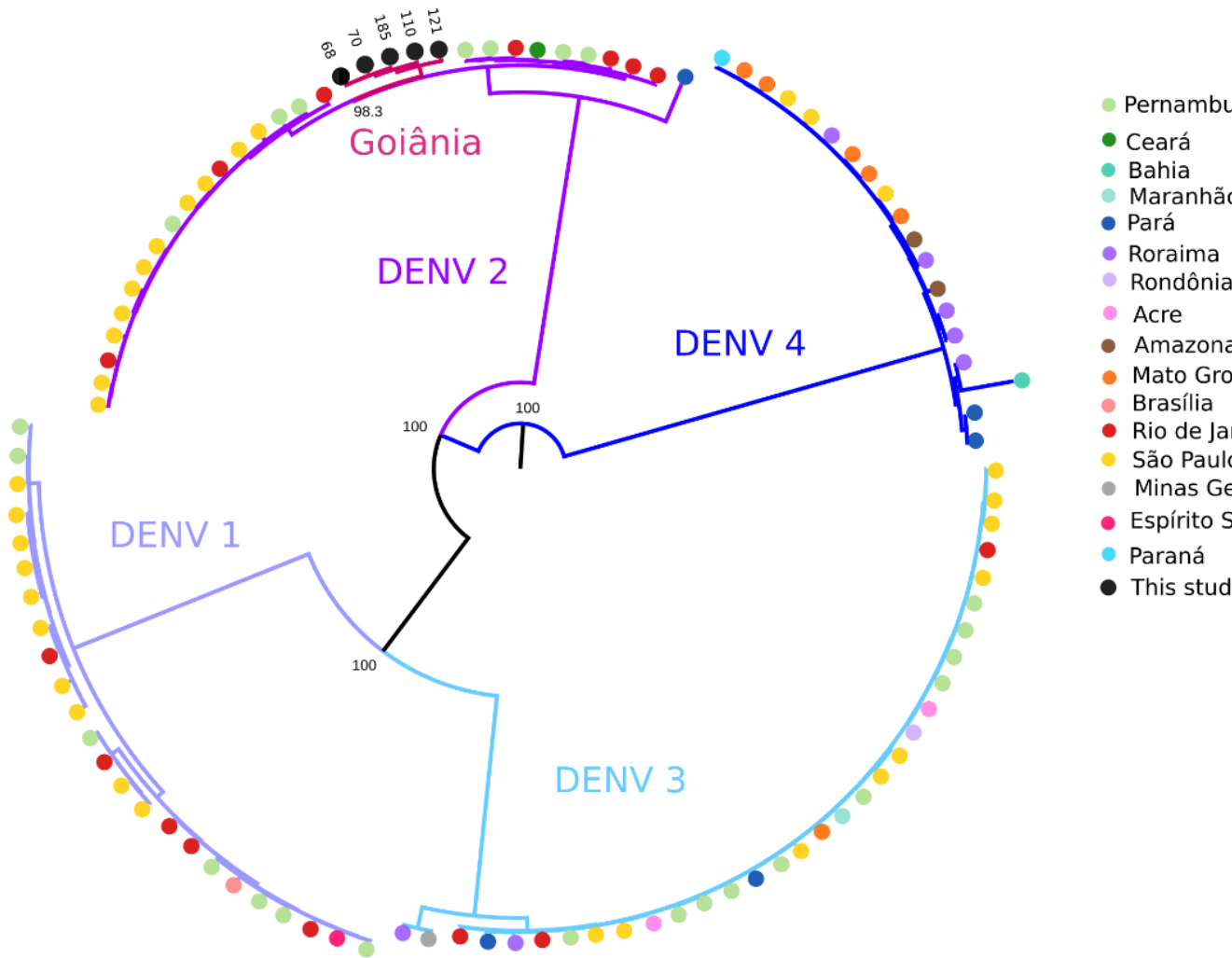


Figura 12. Análises Filogenéticas por máxima verossimilhança - ultra fast bootstrap (1000 réplicas). MAYV e DENV B: Análises de infecções para MAYV e DENV agrupados por localidades no Brasil.

A caracterização filogenética para MAYV realizada nas amostras de Goiânia agrupou todas em um clado comum e os casos para co-infecção (MAYV /DENV), as sequências se agrupam em um clado com sequências do Nordeste e Sudeste Brasileiro, caracterizando Dengue tipo 2.

No estudo de caracterização genética realizado por Powers (2006), é elucidado que todas as linhagens MAYV descendem de um ancestral comum (grupo monofilético), mostrando uma divergência nucleotídica entre as linhagens de 0.05% a 18.2%. Estas mutações entre linhagens não mostraram potencial de afetar a virulência ou o poder de transmissão viral, e o papel evolutivo destas divergências ainda não é completamente elucidado (POWERS *et al.*, 2006).

A abrangência do clado D se dá na América do Sul, incluindo Trinidad, Brasil, Guiana Francesa, Suriname, Peru e Bolívia, neste clado as estirpes variam geneticamente entre 0.05% e 5,9%. O clado L, é considerado exclusivamente brasileiro se limitando às regiões Norte e Centro-Oeste, com estirpes geneticamente semelhantes com variação nucleotídica entre 0.1% a 3%. A comparação entre genótipos D e L mostrou uma divergência máxima de 18% (POWERS *et al.*, 2006).

Após a caracterização do genótipo intermediário N em 2015 por Terzian *et al.* (2015), foi mostrada uma divergência de 17% entre os três genótipos existentes (TERZIAN *et al.*, 2015).

Mavian (2017) relacionou a mobilidade humana e a emergência de cepas recombinantes no Brasil e Haiti, contribuindo para eventos de recombinação e amplificação viral nas Américas. Em seu estudo é mostrado que o genótipo D está presente no Peru, Haiti e Brasil, corroborando com os resultados apresentados neste trabalho, com a detecção do Genótipo D na região Centro-Oeste do Brasil, sugerindo que uma amplificação já esteja acontecendo desde o estudo de Mavian (2017) que também foi realizado em Goiânia (MAVIAN *et al.*, 2017).

A transmissão do MAYV está relacionada a ciclos selvagens. Os achados na cidade de Goiânia refletem a adaptação do vírus ao vetor urbano e a provável capacidade deste vetor estar infectado simultaneamente com DENV, pois já é demonstrado que em uma mesma picada o vetor é capaz de transmitir infecção por mais de um vírus (RÜCKERT *et al.*, 2017; ZUCHI *et al.*, 2014)

Apesar dos estudos relacionados ao MAYV na região Norte serem amplos, os estudos em todo país ainda são escassos e precisam ser explorados. É estimado

que 1% de doenças arbovirose like estejam relacionados ao MAYV e a expansão viral ainda se agrava quando se considera viagens a regiões endêmicas da população e a evasão de casas em áreas selvagens (CAMINI et al., 2017).

Além do isolamento em Trinidad e Tobago (ANDERSON, et al.,1957), e relatos na América Central, Receveur (2010) relata um caso na França de um viajante que esteve na região Amazônica; Neumayr (2012) relata um caso na Suíça de um paciente advindo do norte do Peru; Vasilache (2014) confirma um diagnóstico para MAYV em uma viajante Alemã que retornou da Guiana Francesa. A transmissão via aerossóis e em laboratórios também é relatada (GOUANDIJKAVASILACHE et al., 2014; NEUMAYR et al., 2012; RECEVEUR et al., 2010; ZUCHI et al., 2014).

A necessidade da implantação de testes moleculares no sistema de saúde se faz importante na diminuição de diagnósticos falso-negativos para arboviroses, melhorando a metodologia clínica e o tratamento da população.

Junt et al. (1999) mostra o relato de um caso intrigante em que apresenta uma infecção de um técnico de laboratório que se infectou durante a manipulação do vírus em seu trabalho, sem evidências de que este teria sido picado por um mosquito. O trabalho traz que a fonte de transmissão causadora teria sido via inalação do ar contaminado pelo vírus, sendo o primeiro e o único relato relacionado à essa forma de transmissão pelo vírus (JUNT et al.. 1999). O trabalho tenta mostrar a necessidade de um olhar criterioso nos métodos de manipulação de materiais contaminados para evitar a contaminação dos responsáveis técnicos por amostras possivelmente contaminadas, assim como as condições de segurança de trabalho dos mesmos.

No estado de Goiás não se tem levantamentos atuais epidemiológicos relacionados ao MAYV e observa-se que os limites urbanos e rurais não são restritamente delimitados. A transmissão selvagem e urbana pode se misturar, favorecendo diagnósticos não seguros e muitas vezes não confirmados por exames laboratoriais como no caso de hemogramas.

O Estado de Goiás então pode se valer de melhores ferramentas em seu sistema de saúde, devido a presença de um agente nocivo que não está sendo diagnosticado pelos métodos vigentes, e se as notificações refletem adequadamente a epidemiologia local

CONCLUSÕES

O presente trabalho proporcionou a elaboração e aplicação de testes de diagnósticos moleculares para o vírus Mayaro em pacientes possivelmente contaminados com o MAYV, assim como também para a co-infecção do MAYV/DENV.

Este trabalho evidenciou a hipótese da urbanização do ciclo de transmissão do MAYV; Além do MAYV, a circulação de DENV 2 propõe transmissão concomitante e co-circulação sugerindo mais estudos para a confirmação com os vetores da região;

A detecção de pacientes sintomáticos traz a importância da inclusão do MAYV como diagnóstico diferencial no estado de Goiás.

Os dados sugerem uma otimização no sistema de saúde para o diagnóstico correto e vigilância epidemiológica.

Os próximos passos deste estudo, visa a realização de testes com amostras de outros fluidos biológicos que foram coletados conjuntamente com sangue, como a urina, e para a realização de testes de sensibilidade e especificidade a realização de qPCR para amostras que foram negativas na RT-PCR.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAD-FRANCH, Fernando *et al.* Mayaro Virus Infection in Amazonia : A Multimodel Inference Approach to Risk Factor Assessment. *[S. l.]*, v. 6, n. 10, 2012.
- ACHEE, Nicole L. *et al.* A Critical Assessment of Vector Control for Dengue Prevention. *[S. l.]*, p. 1–19, 2015.
- ACOSTA-AMPUDIA, Yeny *et al.* Mayaro: an emerging viral threat? **Emerging Microbes and Infections**, *[S. l.]*, v. 7, n. 1, p. 1–11, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41426-018-0163-5>
- ACOSTA-AMPUDIA, Yeny *et al.* Mayaro : an emerging viral threat ? Mayaro : an emerging viral threat ? **Emerging Microbes & Infections**, *[S. l.]*, v. 1751, 2019.
- ALVA-URCIA, Carlos *et al.* Emerging and reemerging arboviruses: A new threat in Eastern Peru. **PLoS ONE**, *[S. l.]*, v. 12, n. 11, p. 1–13, 2017.
- ARENÍVAR, Carlos *et al.* Osteoarticular manifestations of Mayaro virus infection. **Current opinion in rheumatology**, *[S. l.]*, v. 31, n. 5, p. 512–516, 2019.
- ASSUNÇÃO-MIRANDA, Irania; CRUZ-OLIVEIRA, Christine; POIAN, Andrea T. Da. Molecular Mechanisms Involved in the Pathogenesis of Alphavirus-Induced Arthritis. *[S. l.]*, v. 2013, 2013.
- AUGUSTE, Albert J. *et al.* Evolutionary and ecological characterization of mayaro virus strains isolated during an outbreak, Venezuela, 2010. **Emerging Infectious Diseases**, *[S. l.]*, v. 21, n. 10, p. 1742–1750, 2015.
- AZEVEDO, Raimunda do Socorro da Silva; OLIVEIRA, Consuelo Silva; VASCONCELOS, Pedro Fernando da Costa. Chikungunya risk for Brazil. **Revista de Saude Publica**, *[S. l.]*, v. 49, 2015.
- AZEVEDO, Raimunda S. S. *et al.* Mayaro fever virus, Brazilian amazon. **Emerging Infectious Diseases**, *[S. l.]*, v. 15, n. 11, p. 1830–1832, 2009.
- BATISTA, Paulo Mira *et al.* Detection of arboviruses of public health interest in free-living New World primates (*Sapajus* spp.; *Alouatta caraya*) captured in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, *[S. l.]*, v. 46, n. 6, p. 684–690, 2013.
- BENGUE, Michèle *et al.* Mayaro Virus Infects Human Chondrocytes and Induces the Expression of Arthritis-Related Genes Associated with Joint Degradation. **Viruses**, *[S. l.]*, v. 11, n. 9, 2019.
- BERNAL-VERA, Cynthia Magdalena; FÁTIMA MARÍA, Cardozo-Segovia; MENDOZA-TORRES, Laura Patricia. Standardization of a nested RT-PCR technique for alphavirus detection. **Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud**, *[S. l.]*, v. 15, n. 2, p. 30–36, 2017.
- BORGHERINI, Gianandrea *et al.* Outbreak of Chikungunya on Reunion Island : Early

- Clinical and Laboratory Features in 157 Adult Patients. [S. l.], p. 1401–1407, 2007.
- BRASIL. **Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde Epidemiológico.** [s. l.], 2018.
- BRONZONI, R. V. M. *et al.* Multiplex nested PCR for Brazilian Alphavirus diagnosis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, [S. l.], v. 98, n. 8, p. 456–461, 2004 a.
- BRONZONI, Roberta V. M. *et al.* Multiplex nested PCR for Brazilian Alphavirus diagnosis. [S. l.], p. 456–461, 2004 b.
- BRUNINI, Sandra *et al.* High frequency of mayaro virus IgM among febrile patients, central Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, [S. l.], v. 23, n. 6, p. 1025–1026, 2017.
- CACEDA, Edna R.; KOCHHEL, Tadeusz J. Application of modified shell vial culture procedure for arbovirus detection. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 2, n. 10, p. 1–4, 2007.
- CALDAS, Lucio Ayres *et al.* Major Article Prostaglandin A 1 triggers Mayaro virus inhibition and heat shock protein 70 expression in an epithelial cell model. [S. l.], v. 51, n. 5, p. 584–590, 2018.
- CÁMARA, Alicia *et al.* Seroprevalence of antibodies to Venezuelan equine encephalitis complex (subtypes IAB and VI) in humans from General Belgrano island, Formosa, Argentina. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, [S. l.], v. 45, n. 4, p. 201–204, 2003.
- CAMINI, Fernanda Caetano *et al.* Oxidative stress in Mayaro virus infection. **Virus Research**, [S. l.], v. 236, n. November 2016, p. 1–8, 2017.
- CAMPOS, Gubio; BANDEIRA, Antonio; SARDI, Silvia. Zika Virus Outbreak, Bahia Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, [S. l.], v. 21, n. 10, p. 1881, 2015.
- CAROSSINO, Mariano *et al.* Novel vaccination approaches against equine alphavirus encephalitides. **Vaccine**, [S. l.], v. 32, n. 3, p. 311–319, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.11.071>
- CARRASCO, Luis. The Regulation of Translation in Reovirus-infected Cells. [S. l.], n. 1985, p. 2161–2170, 1985.
- CARVALHO, Carlos A. M. *et al.* On the entry of an emerging arbovirus into host cells: Mayaro virus takes the highway to the cytoplasm through fusion with early endosomes and caveolae-derived vesicles. **PeerJ**, [S. l.], v. 5, p. e3245, 2017. Disponível em: <https://peerj.com/articles/3245>
- CHANDLER, LAURA J. *et al.* Genetic Relationships Among Mayaro and Una Viruses Suggest Distinct Patterns of Transmission. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [S. l.], v. 75, n. 3, p. 461–469, 2018.
- CHARLES R. ANDERSON, WILBUR G. DOWNS, GEORGE H. WATTLEY, NORMAN W. AHIN, Alick A. Reese. Mayaro Virus: A New Human Disease Agent II. Isolation from Blood of Patients in Trinidad, B.W.I.1. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [S. l.], v. 6, n. 6, p. 1012–1016, 1957.
- COIMBRA, T. L. *et al.* Mayaro virus: imported cases of human infection in Sao Paulo

State, Brazil. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, [S. l.], v. 49, n. 4, p. 221–224, 2007. Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=17823750

COSTA, M. C. De Souza *et al.* Acta Tropica Arbovirus investigation in patients from Mato Grosso during Zika and Chikungunya virus introduction in Brazil , 2015 – 2016. **Acta Tropica**, [S. l.], v. 190, n. December 2018, p. 395–402, 2019.

CRUZ, Ana Cecilia Riberio *et al.* Vigilância sorológica para arbovírus em Juruti, Pará, Brasil. **Cadernos de Saude Publica**, [S. l.], v. 25, n. 11, p. 2517–2523, 2009.

DA SILVA PESSOA VIEIRA, Carla Julia *et al.* Detection of Mayaro virus infections during a dengue outbreak in Mato Grosso, Brazil. **Acta Tropica**, [S. l.], v. 147, p. 12–16, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2015.03.020>

DANILLO LUCAS ALVES, Esposito; BENEDITO ANTONIO LOPES DA, Fonseca. Characterization of the immune response following in vitro mayaro and chikungunya viruses (Alphavirus, Togaviridae) infection of mononuclear cells. **Virus Research**, [S. l.], v. 256, n. May, p. 166–173, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2018.08.011>

DE CASTRO-JORGE, Luiza A. *et al.* The NLRP3 inflammasome is involved with the pathogenesis of Mayaro virus. **PLoS Pathogens**, [S. l.], v. 15, n. 9, p. 1–27, 2019.

DE MORAIS BRONZONI, Roberta Vieira *et al.* Duplex reverse transcription-PCR followed by nested PCR assays for detection and identification of Brazilian alphaviruses and flaviviruses. **Journal of Clinical Microbiology**, [S. l.], v. 43, n. 2, p. 696–702, 2005.

DINITS-PENSY, Mara *et al.* The Use of Vaccines in Adult Patients With Renal Disease. [S. l.], v. 46, n. 6, p. 997–1011, 2005.

DONALISIO, Maria Rita *et al.* Arboviroses emergentes no Brasil: desafios para a clínica e implicações para a saúde pública. **Revista de Saude Pública**, [S. l.], v. 51, n. 30, p. 10–15, 2017. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/rsp/v51/pt_0034-8910-rsp-S1518-87872017051006889.pdf

ESPOSITO, Danillo Lucas Alves; DA FONSECA, Benedito Antonio Lopes. Sensitivity and detection of chikungunya viral genetic material using several PCR-based approaches. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S. l.], v. 50, n. 4, p. 465–469, 2017.

ESPOSITO, Danillo Lucas Alves; FONSECA, Benedito Antonio Lopes da. Will Mayaro virus be responsible for the next outbreak of an arthropod-borne virus in Brazil? **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, [S. l.], v. 21, n. 5, p. 540–544, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjid.2017.06.002>

ESTOFOLETE, Cássia Fernanda *et al.* Mayaro fever in an HIV-infected patient suspected of having chikungunya fever. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S. l.], v. 49, n. 5, p. 648–652, 2016 a.

ESTOFOLETE, Cássia Fernanda *et al.* Case Report Mayaro fever in an HIV-infected patient suspected of having Chikungunya fever. [S. l.], v. 49, n. March, p. 648–652, 2016 b.

FERREIRA, P. G. *et al.* Detection of the antiviral activity of epicatechin isolated from *Salacia crassifolia* (Celastraceae) against Mayaro virus based on protein C homology modelling and virtual screening. **Archives of Virology**, [S. l.], v. 163, n. 6, p. 1567–1576, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00705-018-3774-1>

FIGUEIREDO, CM *et al.* Mayaro virus replication restriction and induction of muscular inflammation in mice are dependent on age and type-I interferon response. **bioRxiv**, [S. l.], p. 602920, 2019. Disponível em: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/602920v1>

FIGUEIREDO, L. T. *et al.* **Study of two different enzyme immunoassays for the detection of Mayaro virus antibodies.** [S. l.: s. n.]

FISCHER, Carlo; DE LAMBALLERIE, Xavier; DREXLER, Jan Felix. Enhanced Molecular Surveillance of Chikungunya Virus. **mSphere**, [S. l.], v. 4, n. 4, p. 1–7, 2019.

FORSHEY, Brett M. *et al.* Arboviral etiologies of acute febrile illnesses in western south America, 2000-2007. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [S. l.], v. 4, n. 8, p. 2000–2007, 2010.

FUMAGALLI, Marcílio Jorge *et al.* Enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant envelope protein 2 antigen for diagnosis of Chikungunya virus. **Virology Journal**, [S. l.], v. 15, n. 1, p. 1–7, 2018.

FUMAGALLI, Marcílio Jorge *et al.* Development of an enzyme-linked immunosorbent assay to detect antibodies targeting recombinant envelope protein 2 of Mayaro virus. **Journal of Clinical Microbiology**, [S. l.], v. 57, n. 5, p. 1–9, 2019.

GOMES, Vivaldo *et al.* International Journal of Infectious Diseases. **International Journal of Infectious Diseases**, [S. l.], v. 62, p. 84–85, 2017.

GOUANDIJKA-VASILACHE, Ionela *et al.* Genome Analysis of Mayaro Virus Imported to Germany from French Guiana. [S. l.], v. 20, n. 7, p. 2008–2010, 2014.

GROSSO, Mato *et al.* Acta Tropica Detection of Mayaro virus infections during a dengue outbreak in. **Acta Tropica**, [S. l.], v. 147, p. 12–16, 2015.

GUINDON S, DUFAYARD JF, LEFORT V, ANISIMOVA M, HORDIJK W, Gascuel O. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies : assessing the performance of PhyML 3 . 0. [S. l.], v. 59, p. 307–321, 2010.

HALSEY, Eric S. *et al.* Mayaro virus infection, Amazon Basin region, Peru, 2010-2013. **Emerging Infectious Diseases**, [S. l.], v. 19, n. 11, p. 1839–1842, 2013.

HASSING, R. J. *et al.* Cross-reactivity of antibodies to viruses belonging to the Semliki forest serocomplex. [S. l.], v. 23, n. 1, p. 2009, 2010.

HOANG, Diep Thi *et al.* UFBoot2 : Improving the Ultrafast Bootstrap Approximation. [S. l.], v. 35, n. 2, p. 518–522, 2017.

HOYOS-LÓPEZ, Richard *et al.* Molecular detection of flaviviruses and alphaviruses in mosquitoes (Diptera: Culicidae) from coastal ecosystems in the Colombian Caribbean. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S. l.], v. 111, n. 10, p. 625–634, 2016.

- ILLNESS, Febrile *et al.* Mayaro Virus in Child with Acute. [S. I.], v. 22, n. 11, p. 2015–2017, 2016.
- IZURIETA, Ricardo O.; MACALUSO, Maurizio; VERMUND, Sten H. Hunting in the Rainforest and Mayaro Virus Infection : An emerging Alphavirus in Ecuador Abstract Objectives : Materials and Methods : Results : Conclusions : Study population. [S. I.], p. 1–7, 2019.
- JOSE, Joyce; KUHN, Richard J. and assembly. [S. I.], p. 837–856, 2010.
- JUNT T; HERAUD JM; LELARGE J; LABEAU B; TALARMIN. Determination of natural versus laboratory human infection with Mayaro virus by molecular analysis. **Epidemiology and Infection**, [S. I.], v. 123, n. 3, p. 511–513, 1999.
- KANTOR, Isabel N. Dengue, zika, chikungunya and the development of vaccines. **Medicina**, [S. I.], v. 78, n. 1, p. 23–28, 2018.
- KATOH, Kazutaka; STANDLEY, Daron M. MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7 : Improvements in Performance and Usability Article Fast Track. [S. I.], v. 30, n. 4, p. 772–780, 2013.
- KHAN, Afjal Hossain *et al.* Complete nucleotide sequence of chikungunya virus and evidence for an internal polyadenylation site. [S. I.], n. 2002, p. 3075–3084, 2019.
- KIM, Yeong Hoon *et al.* Development and clinical evaluation of a rapid diagnostic test for yellow fever non-structural protein 1. **Korean Journal of Parasitology**, [S. I.], v. 57, n. 3, p. 283–290, 2019.
- KUBE, D. *et al.* Expression of Epstein-Barr Virus Nuclear Antigen 1 Is Associated with Enhanced Expression of CD25 in the Hodgkin Cell Line L428. [S. I.], v. 73, n. 2, p. 1630–1636, 1999.
- LAVERGNE, Anne *et al.* Mayaro virus: Complete nucleotide sequence and phylogenetic relationships with other alphaviruses. **Virus Research**, [S. I.], v. 117, n. 2, p. 283–290, 2006.
- LIANG, Guodong *et al.* Arboviruses and their related infections in China: A comprehensive field and laboratory investigation over the last 3 decades. **Reviews in Medical Virology**, [S. I.], v. 28, n. 1, p. 1–21, 2018.
- LLAGONNE-BARETS, Marion *et al.* A case of Mayaro virus infection imported from French Guiana. **Journal of Clinical Virology**, [S. I.], v. 77, p. 66–68, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcv.2016.02.013>
- LONG, Kanya C. *et al.* Experimental transmission of Mayaro virus by *Aedes aegypti*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [S. I.], v. 85, n. 4, p. 750–757, 2011.
- LORENZ, Camila; FREITAS RIBEIRO, Ana; CHIARAVALLLOTI-NETO, Francisco. Mayaro virus distribution in South America. **Acta Tropica**, [S. I.], v. 198, n. July, p. 105093, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105093>
- LUCINDA TROYES R *et al.* Etiología del síndrome febril agudo en la provincia de Jaén, Perú 2004-2005. **Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública**, [S. I.], v. 23, n. 1, p. 5–11, 2006.

MANIERO, Viviane C. *et al.* Dengue, Chikungunya E Zika Vírus No Brasil: Situação Epidemiológica, Aspectos Clínicos E Medidas Preventivas. **Almanaque Multidisciplinar de Pesquisa**, [S. l.], v. 1, n. 1, p. 118–145, 2016.

MARCÍLIO JORGE FUMAGALLI. **Desenvolvimento de métodos sorológicos para diagnóstico de infecções pelos vírus. Chikungunya e Mayaro.** 2018. - Universidade de São Paulo, [s. l.], 2018.

MARIA, Regina *et al.* Doenças exantemáticas e primeira epidemia de dengue ocorrida em Manaus , Amazonas , no período de 1998-1999 Exanthematous diseases and the first epidemic of dengue to occur. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S. l.], v. 37, n. 6, p. 476–479, 2004.

MARTINS, Valquiria Do Carmo Alves *et al.* Clinical and virological descriptive study in the 2011 outbreak of dengue in the Amazonas, Brazil. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 9, n. 6, 2014.

MAVIAN, Carla *et al.* Emergence of recombinant Mayaro virus strains from the Amazon basin. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 7, n. 1, p. 1–11, 2017.

MEDINA, Gladys *et al.* Genetic diversity of Venezuelan alphaviruses and circulation of a Venezuelan equine encephalitis virus subtype IAB strain during an interepizootic period. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [S. l.], v. 93, n. 1, p. 7–10, 2015.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **ebre do Mayaro: causas, sintomas, tratamento, diagnóstico e prevenção.** [s. l.], 2016.

MOURÃO, Maria Paula Gomes *et al.* Mayaro Fever in the City of Manaus, Brazil, 2007–2008. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, [S. l.], v. 12, n. 1, p. 42–46, 2012. Disponível em: <http://www.liebertonline.com/doi/abs/10.1089/vbz.2011.0669>

MOURÃO, Maria Paula Gomes *et al.* Arboviral diseases in the western brazilian amazon: A perspective and analysis from a tertiary health & research center in manaus, state of Amazonas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S. l.], v. 48, n. May 2014, p. 20–26, 2015.

NAPOLEÃO-PEGO, Paloma *et al.* Mayaro Virus Disease. **Journal of Human Virology & Retrovirology**, [S. l.], v. 1, n. 3, 2014. Disponível em: <http://medcraveonline.com/JHVRV/JHVRV-01-00018.php>

NASAR, Farooq *et al.* Eilat virus , a unique alphavirus with host range restricted to insects by RNA replication. [S. l.], v. 109, n. 36, 2012.

NAVARRETE-ESPINOSA, Joel; GÓMEZ-DANTÉS, Héctor. Arbovirus causing hemorrhagic fever at IMSS. **Revista médica del Instituto Mexicano del Seguro Social**, [S. l.], v. 44, n. 4, p. 347–353, 2006.

NAVARRO, Pedro *et al.* Mayaro: La cuarta arbovirosis de relevancia médica descrita en Venezuela TRABAJO ORIGINAL RESUMEN. **Bol Venez Infectol**, [S. l.], v. 27, p. 2016, 2016. Disponível em: <http://docs.bvsalud.org/biblioref/2016/10/2183/02-navarro-p-79-84.pdf>

NAVECA, Felipe Gomes *et al.* Multiplexed reverse transcription real-time polymerase chain reaction for simultaneous detection of Mayaro, Oropouche, and oropouche-like

- viruses. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S. l.], v. 112, n. 7, p. 510–513, 2017.
- NEUMAYR, Andreas *et al.* Mayaro Virus Infection in Traveler Returning from Amazon Basin, Northern Peru. **Emerging Infectious Diseases**, [S. l.], v. 18, n. 4, p. 695–696, 2012.
- NGUYEN, Lam-tung *et al.* IQ-TREE : A Fast and Effective Stochastic Algorithm for Estimating Maximum-Likelihood Phylogenies. [S. l.], v. 32, n. 1, p. 268–274, 2014.
- O, Jesús Reyes; *et al.* Estandarización de técnicas para el diagnóstico molecular de flavivirus yalfavirus. **Comunidad y Salud**, [S. l.], v. 14, n. 1, p. 27–32, 2016.
- OEIRAS DE CASTRO, Ceyla Maria. Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde Induzidas pelo Vírus Mayaro em Células Vero São José do Rio Preto 2015. [S. l.], 2015.
- OLIVEIRA, Éveny Cristine Luna De; ROSE, Elenir; CURY, Jardim. Alterações hematológicas em pacientes com dengue Hematological abnormalities in patients with dengue. [S. l.], v. 42, n. 6, p. 682–685, 2009.
- OLIVIA WESULA LWANDE, VINCENT OBANDA, GORAN BUCHT, GLADYS MOSOMTAI, VIOLA OTIENO, CLAS AHLM, Magnus Evander. Global emergence of Alphaviruses that cause arthritis in humans. **Infection Ecology & Epidemiology**, [S. l.], v. 63, p. 191–220, 2015.
- PAUVOLID-CORRÊA, Alex *et al.* Serologic evidence of the recent circulation of Saint Louis encephalitis virus and high prevalence of equine encephalitis viruses in horses in the Nhecolândia sub-region in South Pantanal, Central-West Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S. l.], v. 105, n. 6, p. 829–833, 2010.
- PAUVOLID-CORRÊA, Alex *et al.* Neutralising antibodies for mayaro virus in Pantanal, Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S. l.], v. 110, n. 1, p. 125–133, 2015.
- PEREIRA SERRA, Otacília *et al.* Mayaro virus and dengue virus 1 and 4 natural infection in culicids from Cuiabá, state of Mato Grosso, Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S. l.], v. 111, n. 1, p. 20–29, 2016.
- PEZZI, L. *et al.* GloPID-R report on chikungunya, o'nyong-nyong and Mayaro virus, part 2: Epidemiological distribution of o'nyong-nyong virus. **Antiviral Research**, [S. l.], v. 172, n. September, p. 104611, 2019 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2019.104611>
- PEZZI, L. *et al.* GloPID-R report on Chikungunya, O'nyong-nyong and Mayaro virus, part I: Biological diagnostics. **Antiviral Research**, [S. l.], v. 166, n. March, p. 66–81, 2019 b.
- PINHEIRO, Guilherme Garcia *et al.* Detection of yellow fever virus in sylvatic mosquitoes during disease outbreaks of 2017-2018 in minas gerais state, brazil. **Insects**, [S. l.], v. 10, n. 5, 2019.
- PISANO, María Belén *et al.* First detection of Rio Negro virus (Venezuelan equine encephalitis complex subtype VI) in Córdoba, Argentina. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S. l.], v. 107, n. 1, p. 125–128, 2012.

- PORTERFIELD, Russell; Westaway; Brinton; Gaidamovich; Horzinek; Igarashi ;. Kääriäinen;; TRENT. Togaviridae. **Intervirology**, [S. l.], v. 24, p. 125–139, 1985.
- POWERS, ANNA M ; AGUILAR, Patrícia M. ;. et al. GENETIC RELATIONSHIPS AMONG MAYARO AND UNA VIRUSES SUGGEST DISTINCT PATTERNS OF TRANSMISSION. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [S. l.], v. 75, n. 3, p. 461–469, 2006.
- POWERS, ANN M. *et al.* GENETIC RELATIONSHIPS AMONG MAYARO AND UNA VIRUSES SUGGEST DISTINCT PATTERNS OF TRANSMISSION. [S. l.], v. 75, n. 3, p. 461–469, 2006.
- RECEVEUR, M. C. *et al.* Infection with Mayaro virus in a French traveller returning from the Amazon region , Brazil ,. [S. l.], p. 2–5, 2010.
- REZENDE, Alexandre Gonçalves. “**Obtenção de virus-like particles (VLPs) de Mayaro usando diferentes sistemas de expressão**”. 2018. - Universidade de São Paulo, [s. l.], 2018.
- RICHARD HOYOS, L. *et al.* Molecular detection of Eastern Equine Encephalitis virus in mosquitoes from La Pintada (Antioquia). **Revista MVZ Cordoba**, [S. l.], v. 20, n. 3, p. 4800–4806, 2015.
- ROMEIRO, Marília Farignoli *et al.* Evaluation and optimization of SYBR green real-time reverse transcription polymerase chain reaction as a tool for diagnosis of the flavivirus genus in Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S. l.], v. 49, n. 3, p. 279–285, 2016.
- RÜCKERT, Claudia *et al.* Impact of simultaneous exposure to arboviruses on infection and transmission by *Aedes aegypti* mosquitoes. **Nature Communications**, [S. l.], v. 8, n. May, p. 1–9, 2017.
- SAM, I-ching *et al.* Genotypic and Phenotypic Characterization of Chikungunya Virus of Different Genotypes from Malaysia. [S. l.], v. 7, n. 11, p. 1–9, 2012.
- SAMPATH, Aruna; PADMANABHAN, and R. Molecular targets for flavivirus drug discovery. [S. l.], v. 81, n. 1, p. 6–15, 2010.
- SANTANA, Vinícius dos Santos *et al.* Concurrent dengue and malaria in the Amazon region. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S. l.], v. 43, n. 5, p. 508–511, 2010.
- SANTIAGO, Felix W. *et al.* Long-Term Arthralgia after Mayaro Virus Infection Correlates with Sustained Pro- inflammatory Cytokine Response. [S. l.], p. 1–14, 2015.
- SAÚDE, Ministério. Chikungunya : Manejo Clínico. [S. l.], 2017.
- SEIJO, Alfredo *et al.* Tenosinovitis por virus chikungunya. **Medicina (Argentina)**, [S. l.], v. 74, n. 6, p. 476–478, 2014.
- SHARMA, Rohit *et al.* Surveillance of donated blood during the 2016 arbovirus outbreak in Brazil. [S. l.], n. March, p. 1406–1410, 2018.
- SHAWN F. TAYLOR, Paresh R. Patel and Thomas J. S. Herold. Recurrent arthralgias in a patient with previous Mayaro fever infection. **Southern Medical Journal**, [S. l.],

v. 98, n. 4, p. p484+, 2005.

SILVA, ELIANA VIEIRA PINTO DA. **ELIANA VIEIRA PINTO DA SILVA Belém-PA 2014**. 2014. [S. l.], 2014.

SLEGGERS, C. A. D. *et al.* Persisting arthralgia due to Mayaro virus infection in a traveler from Brazil : Is there a risk for attendants to the 2014 FIFA World Cup ? **Journal of Clinical Virology**, [S. l.], v. 60, n. 3, p. 317–319, 2016.

SMITH, Jessica L. *et al.* Human Antibody Responses to Emerging Mayaro Virus and Cocirculating Alphavirus Infections Examined by Using Structural Proteins from Nine New and Old World Lineages. **mSphere**, [S. l.], v. 3, n. 2, p. 1–14, 2018.

SOUSA, ADRIANO ROBERTO VIEIRA DE. **Avaliação sorológica e molecular de pacientes com quadro clínico de dengue símile atendidos no hospital das forças armadas**. 2019. [S. l.], 2019.

SOUZA, Luiz José de; Laís Bastos Pessanha; Laura Carvalho Mansur;Luiza Assed de Souza; Monique do Vale da Silveira. Comparison of clinical and laboratory characteristics between children and adults with dengue. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, [S. l.], v. 17, n. 1, p. 27–31, 2013.

SUHRBIER, Andreas; JAFFAR-BANDJEE, Marie Christine; GASQUE, Philippe. Arthritogenic alphaviruses-an overview. **Nature Reviews Rheumatology**, [S. l.], v. 8, n. 7, p. 420–429, 2012.

TASSO, Mânlio *et al.* Complete Genome Sequence of Mayaro Virus Imported from the Amazon Basin to São Paulo State , Brazil. [S. l.], v. 3, n. 6, p. 4269, 2015 a.

TASSO, Mânlio *et al.* Mayaro virus : a neglected arbovirus of the Americas. [S. l.], v. 10, p. 1109–1122, 2015 b.

TERZIAN, Ana Carolina B. *et al.* Isolation and Characterization of Mayaro Virus from a Human in Acre , Brazil. [S. l.], v. 92, n. 2, p. 401–404, 2015 a.

TERZIAN, Ana Carolina B. *et al.* Isolation and characterization of Mayaro virus from a human in Acre, Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, [S. l.], v. 92, n. 2, p. 401–404, 2015 b.

TERZIAN, Ana Carolina Bernardes *et al.* Detection of Saint Louis Encephalitis virus in Dengue-suspected cases during a Dengue 3 outbreak. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, [S. l.], v. 11, n. 3, p. 291–300, 2011.

THEILACKER, Christian *et al.* Prolonged polyarthralgia in a German traveller with Mayaro virus infection without inflammatory correlates. [S. l.], n. June 2012, p. 2011–2014, 2013.

TORRES, Jaime R. *et al.* Family cluster of Mayaro fever, Venezuela. **Emerging Infectious Diseases**, [S. l.], v. 10, n. 7, p. 1304–1306, 2004.

TUEKPRAKHON, Aekkachai *et al.* Broad-spectrum monoclonal antibodies against chikungunya virus structural proteins: Promising candidates for antibody-based rapid diagnostic test development. **PLoS ONE**, [S. l.], v. 13, n. 12, p. 1–30, 2018.

VICTOR HUGGO CÓRDOVA-PLUMA, CÉSAR AUGUSTO VEGA-LÓPEZ, ALEJANDRA ALARCÓN-SOTELO, Erika Sallinas-Lezama. **enfermedad de**

chikunguã. Ciudad de México: Medicina interna de México, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.24245/mim.v34i3.2173>

WAGGONER, Jesse J. *et al.* Real-time RT-PCR for Mayaro virus detection in plasma and urine. **Journal of Clinical Virology**, [S. l.], v. 98, n. November 2017, p. 1–4, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2017.11.006>

WANG, Eryu *et al.* Reverse Transcription-PCR – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Rapid Detection and Differentiation of Alphavirus Infections. [S. l.], v. 44, n. 11, p. 4000–4008, 2006 a.

WANG, Eryu *et al.* Reverse transcription-PCR-enzyme-linked immunosorbent assay for rapid detection and differentiation of alphavirus infections. **Journal of Clinical Microbiology**, [S. l.], v. 44, n. 11, p. 4000–4008, 2006 b.

WHITE, Sarah K. *et al.* Detection and phylogenetic characterization of arbovirus dual-infections among persons during a chikungunya fever outbreak, Haiti 2014. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [S. l.], v. 12, n. 5, p. 1–13, 2018.

YUE, Constanze *et al.* Inactivation and removal of chikungunya virus and mayaro virus from plasma-derived medicinal products. **Viruses**, [S. l.], v. 11, n. 3, 2019.

ZUCHI, Nayara *et al.* Molecular detection of Mayaro virus during a dengue outbreak in the state of Mato Grosso, Central-West Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, [S. l.], v. 109, n. 6, p. 820–823, 2014.

ANEXO 1

Tabela 7: Médias e desvios Padrão das amostras positivas para DENV.

DENGUE		
PARAMETRO	MÉDIA	DESVIO PADRÃO
GB	5.741579	3.829378
GV	4.683948	0.5111542
HGB	13.83684	1.69553
HCT	41.31579	4.553201
PLA	171.3105	47.79878
PCT	15.10665	42.26307
VGM	77.82858	28.3843
MCH	29.56316	2.192299
MCHC	33.45789	1.160995
RDW	13.63947	0.9810473
LYM	12.78316	16.45714
MON	4.974211	6.164432
GRA	23.22868	26.8293
BASTÃO	5.368421	5.711161
SEGMENTADO	48.66895	21.3354
EOSINÓFILO	1.210526	2.081552
BASÓFILO	0.480263	1.348482
MONÓCITO	6.114211	2.523082
LINFÓCITOS ATÍPICOS	0.783784	1.227806

Legenda: GB: Glóbulos Brancos, GV: Glóbulos Vermelhos, HGB: Hemoglobina, HCT: Hematócrito, PLA: Plaquetas, PCT: Plaquetócrito, VGM: Volume Globular Médio, MHC: Hemoglobina Média por Cél, MCHC: Concentração média de Hemoglobina, RDW: Distribuição de Tamanho Celular, LYM: Linfócitos, MON: Monócitos, GRA: Granulócitos.

Tabela 8: Médias e desvio Padrão das amostras positivas para MAYARO

MAYARO		
PARAMETRO	MÉDIA	DESVIO PADRÃO
GB	3.975	1.95
GV	4.7825	0.3474071
HGB	13.625	0.5439054
HCT	39.625	2.054873
PLA	162.5	9.746795
PCT	0.08975	0.06275548

VGM	83	2.94392
MCH	28.75	0.9110435
MCHC	34.4	0.6976144
RDW	14.475	0.4425306
LYM	47.5	11.81609
MON	13.7	3.703152
GRA	38.8	14.04896
BASTÃO	9.25	6.946222
SEGMENTADO	35	15.81139
EOSINÓFILO	0.5	0.5773503
BASÓFILO	0	0
MONÓCITO	7.5	2.516612
LINFÓCITOS ATÍPICOS	2.75	2.5

Tabela 9: Médias e desvio Padrão das amostras positivas para DENV e MAYV.

DENGUE E MAYARO		
PARAMETRO	MÉDIA	DESVIO PADRÃO
GB	4.84	2.631585
GV	4.709737	0.525745
HGB	14.18684	1.47193
HCT	41.47368	4.497368
PLA	195.1579	55.86979
PCT	0.160174	0.063314
VGM	86.30526	14.14617
MCH	30.21842	2.154675
MCHC	34.22368	1.115356
RDW	13.61316	1.335214
LYM	32.49	17.64614
MON	12.02947	6.547616
GRA	54	21.59861
BASTÃO	6.973684	5.420117
SEGMENTADO	45.42105	21.3423
EOSINÓFILO	1.001081	1.508509
BASÓFILO	0.868919	5.260114
MONÓCITO	6.210526	3.02385
LINFÓCITOS ATÍPICOS	0.894737	1.484869

Anexo 2: Valores de referência para Hemogramas segundo o PNCQ Fonte : PROGRAMA NACIONAL DE CONTROLE DA QUALIDADE (PNCQ).

SÉRIE ERITROCITÁRIA						
VALORES NORMAIS						
	Hemoglobina (g/dL)	Hematócrito (%)	Hemácias (x10 ¹² /L)	VGM (fL)	HGM (pg)	CHGM (g/dL)
Idade						
1 - 3 dias	18,5 (14,5 – 22,5)	56 (45 – 67)	5,3 (4,0 – 6,6)	108 (95 – 121)	34 (31 – 37)	33 (29 – 37)
1 semana	17,5 (13,5 – 21,5)	54 (42 – 66)	5,1 (3,9 – 6,3)	107 (88 – 126)	34 (28 – 40)	33 (28 – 38)
2 semanas	16,5 (12,5 – 20,5)	51 (39 – 63)	4,9 (3,6 – 6,2)	105 (86 – 124)	34 (28 – 40)	33 (28 – 38)
1 mês	14,0 (10,0 – 18,0)	43 (31 – 55)	4,2 (3,0 – 5,4)	104 (85 – 123)	34 (28 – 40)	33 (29 – 37)
2 meses	11,5 (9,0 – 14,0)	35 (28 – 42)	3,8 (2,7 – 4,9)	96 (77 – 115)	30 (26 – 34)	33 (29 – 37)
3 – 6 meses	11,5 (9,5 – 13,5)	35 (29 – 41)	3,8 (3,1 – 4,5)	91 (74 – 108)	30 (25 – 35)	33 (30 – 36)
6 m - 2 anos	12 (10,5 – 13,5)	36 (33 – 39)	4,5 (3,7 – 5,3)	78 (70 – 86)	27 (23 – 31)	33 (30 – 36)
2 - 6 anos	12,5 (11,5 – 13,5)	37 (34 – 40)	4,6 (3,9 – 5,3)	81 (75 – 87)	27 (24 – 30)	34 (31 – 37)
6 - 12 anos	13,5 (11,5 – 15,5)	40 (35 – 45)	4,6 (4,0 – 5,2)	86 (77 – 95)	29 (25 – 33)	34 (31 – 37)
12- 18 anos						
Feminino	14,0 (12,0 – 16,0)	41 (36 – 46)	4,6 (4,1 – 5,1)	90 (78 – 102)	30 (25 – 35)	34 (31 – 37)
Masculino	14,5 (13,0 – 16,0)	43 (37 – 49)	4,9 (4,5 – 5,3)	88 (78 – 98)	30 (25 – 35)	34 (31 – 37)

VALORES NORMAIS EM ADULTOS			
		Masculino	Feminino
Leucócitos	X 10 ³ / µL	7,8 (4,4 – 11,3)	
Hemácias	X 10 ⁶ / µL	5,21 (4,52 – 5,90)	4,60 (4,10 – 5,10)
Hemoglobina	g/dl	15,7 (14,0 – 17,5)	13,8 (12,3 – 15,3)
Hematócrito	(%)	46 (42 – 50)	40 (36 – 45)
VGM	fL	88,0 (80,0 – 96,1)	
HGM	pg	30,4 (27,5 – 33,2)	
CHGM	g/dL	34,4 (33,4 – 35,5)	
RDW	CV (%)	13,1 (11,5 – 14,5)	
Plaquetas	X 10 ³ / µL	311 (172 – 450)	

Anexo 3 –Acesso de todas as sequências usadas neste estudo.

Acesso Organismo

MK070491 MAYV
MK070492 MAYV
KY026195 MAYV
KY026197 MAYV
KY026198 MAYV
KY026199 MAYV
KY026200 MAYV
MH513597 MAYV
KY618127 MAYV
KY618128 MAYV
KY618129 MAYV
KY618130 MAYV
KY618131 MAYV
KY618132 MAYV
KY618133 MAYV
KY618134 MAYV
KY618135 MAYV
KY618136 MAYV
KY618137 MAYV
KY618138 MAYV
KY618139 MAYV
KY618140 MAYV
KY985361 MAYV
KX496990 MAYV
KT754168 MAYV
KP842794 MAYV
KP842795 MAYV
KP842796 MAYV
KP842797 MAYV
KP842798 MAYV
KP842799 MAYV
KP842800 MAYV
KP842801 MAYV
KP842802 MAYV
KP842803 MAYV
KP842804 MAYV
KP842805 MAYV
KP842806 MAYV
KP842807 MAYV
KP842808 MAYV
KP842809 MAYV
KP842810 MAYV
KP842811 MAYV
KP842812 MAYV
KP842813 MAYV
KP842814 MAYV
KP842815 MAYV
KP842816 MAYV
KP842817 MAYV
KP842818 MAYV
KP842819 MAYV
KP842820 MAYV
KT818520 MAYV
KM400591 MAYV
KJ013266 MAYV
DQ001069 MAYV
AF237947 MAYV

NC_003417MAYV
KY369951 DENV
KU513441 DENV
KJ579244 DENV
KJ579245 DENV
KP188561 DENV
JN983813 DENV
KJ579241 DENV
KJ579242 DENV
KP188564 DENV
KJ596661 DENV
KT794007 DENV
JN559741 DENV
JQ513338 DENV
JQ513330 DENV
JQ513340 DENV
JN559740 DENV
JQ513345 DENV
JQ513334 DENV
JQ513337 DENV
KY369949 DENV
KP188543 DENV
KF672759 DENV
KP188544 DENV
KP188567 DENV
KP188548 DENV
KP188546 DENV
KP188547 DENV
KP188539 DENV
JX669465 DENV
JX669464 DENV
KP188542 DENV
KP188541 DENV
KF672760 DENV
JX669462 DENV
KF672764 DENV
JX669470 DENV
KF672763 DENV
JX669468 DENV
JX669467 DENV
AB519681 DENV
JX669469 DENV
KF672761 DENV
KF672762 DENV
JN697379 DENV
EF629370 DENV
EF629369 DENV
EF629368 DENV
GU131866 DENV
GU131873 DENV
JX669505 DENV
EF629367 DENV
JF808126 DENV
EF643017 DENV
GU131845 DENV
GU131857 DENV
GU131861 DENV
GU131877 DENV
JX669501 DENV
JX669489 DENV
JX669508 DENV
JX669490 DENV
GU131844 DENV

JF808120 DENV
JX669498 DENV
JF808125 DENV
JF808127 DENV
GU131868 DENV
JX669495 DENV
JF808124 DENV
JX669499 DENV
JX669507 DENV
JX669497 DENV
JF808118 DENV
JF808119 DENV
AY679147 DENV
JQ686088 DENV
HQ012538 DENV
HQ012537 DENV
JX669487 DENV
JX669488 DENV
HQ012535 DENV
HQ012536 DENV
JX669480 DENV
JX669483 DENV
HQ012533 DENV
KP188569 DENV
JX286517 DENV
JX286516 DENV
JX567951 DENV
KP188554 DENV
KP188549 DENV
JX286521 DENV
JX286518 DENV
JX669478 DENV
KP188550 DENV
JX669476 DENV
HQ026763 DENV
GU131883 DENV
GU131884 DENV
GU131881 DENV
JX669477 DENV
JX567950 DENV