



# ZIKA

O vírus que  
pegou o país  
de surpresa

Ricardo Zorzetto

## Cerca de 30 laboratórios de São Paulo se unem para investigar o agente infeccioso que ameaça o Brasil com uma epidemia de microcefalia

Vestida como uma cirurgiã, a pesquisadora Stella Melo trabalhava em total silêncio em um laboratório de biossegurança da Universidade de São Paulo (USP) na tarde da sexta-feira 11 de dezembro. No interior de uma cabine na qual só circula ar filtrado, ela semeava células de rim de macaco em garrafas plásticas contendo um líquido rosado nutritivo. Embora usasse máscara, evitava falar para não correr o risco de contaminar o material. Dias mais tarde aquelas células serviriam para reproduzir o vírus Zika, um agente infeccioso que por décadas foi considerado inofensivo e agora assusta o Brasil e o mundo porque, suspeita-se, está associado ao nascimento de bebês com o cérebro menor que o normal, um problema sem cura conhecido como microcefalia congênita.

Na quinta-feira seguinte, dia 17, a virologista Danielle Leal de Oliveira usou parte das células preparadas por Stella para iniciar a cultura de Zika e anunciou em um *e-mail*: “Inoculei os vírus hoje. Estamos de dedos cruzados para ver se eles crescem”. Danielle e Stella integram a equipe do virologista Edison Durigon no Instituto de Ciências Biomédicas (ICB) da USP e trabalhavam duro para replicar as amostras de Zika recebidas do Instituto Evandro Chagas, no Pará. O objetivo era multiplicar o vírus e compartilhar com grupos do Brasil e do exterior que planejavam estudá-lo. Interessados não faltavam.

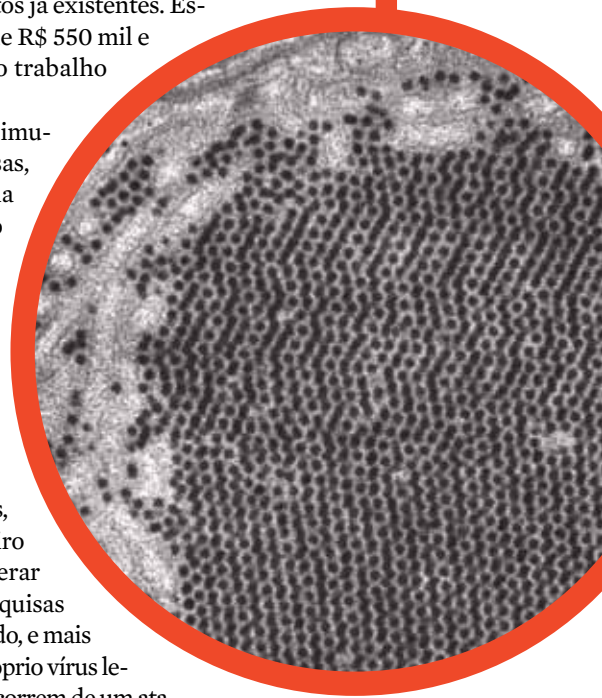
Desde que o Zika ganhou importância mundial em novembro com os casos de microcefalia, o virologista Paolo Zanotto, colega de Durigon e seu vizinho de sala na USP, não pensa em outra coisa a não ser conter o vírus. Especialista em evolução dos flavivírus, o grupo a que pertence o Zika, Zanotto sabe que é grande o risco de o vírus se espalhar pelo país – em especial pelo estado de São Paulo, onde se encontra disseminada a população urbana de seu transmissor, o mosquito *Aedes aegypti*. Ele sabe também que só há chance de conter o Zika com um esforço coordenado de pesquisadores, poder público e população.

Por essa razão, ainda em novembro, Zanotto iniciou a mobilização de virologistas, epidemiologistas, médicos e entomologistas de São Paulo e do exterior para estudar tudo o que for possível sobre o Zika. No final de dezembro, 32 grupos paulistas (quase 300 pesquisadores) já haviam aceitado integrar essa rede de investigação do vírus – que recebeu o nome informal de Rede Zika – e vários aguardavam amostras de vírus do laboratório de Durigon para iniciar as pesquisas.

Essa pronta reação foi possível porque, no passado, a FAPESP apoiou a criação de laboratórios de virologia em todo o estado de São Paulo que mantiveram forte interação entre si. Muitos deles detêm projetos temáticos ou auxílios regulares financiados pela Fundação e, para reativar o trabalho coletivo do grupo, a FAPESP concedeu pequenos aditivos aos projetos já existentes. Esses aditivos somarão cerca de R\$ 550 mil e permitirão complementar o trabalho que já está sendo realizado.

Jean Pierre Peron é neuroimunologista e, entre outras coisas, estuda em seu laboratório na USP inflamações no cérebro provocadas pelo sistema de defesa do próprio corpo. Ele é um dos que aderiram à Rede Zika e está com sua equipe preparada para começar ao menos dois experimentos. Em um deles, Peron planeja injetar o vírus diretamente no cérebro de camundongos, com dois objetivos. O primeiro é deixá-lo se multiplicar e gerar mais amostras para suas pesquisas e a de outros grupos. O segundo, e mais importante, é verificar se o próprio vírus leza o cérebro ou se os danos decorrem de um ataque exacerbado do sistema de defesa contra o Zika.

Imagens do cérebro de bebês que nasceram com microcefalia e são filhos de mães possivelmente infectadas por Zika na gravidez em geral mostram pequenos círculos brancos bem próximos uns dos outros, como as contas de um colar. Segundo neurologistas, são sinais de calcificação, uma espécie de cicatriz que se forma em áreas lesadas do cérebro e ocorrem também em bebês cujas mães tiveram infecção por citomegalovírus ou toxoplasmose na gestação. No caso do Zika, não se sabe se essas calcificações são provocadas pelo vírus ou são uma lesão secundária, resultado de um superataque das células de defesa ao invasor.



Uma dupla de risco: o mosquito *Aedes aegypti* e cópias de vírus (pontos escuros) da família Flaviviridae, a mesma do Zika

# O caminho para as Américas

O vírus Zika possivelmente já havia migrado em dois momentos distintos para o oeste da África e uma vez para a Ásia antes de ser identificado em 1947 em um macaco sentinela em uma floresta de Uganda



Também não se sabe ainda como o vírus chega ao cérebro, como foi observado em um bebê do Ceará que nasceu com microcefalia e morreu minutos após o parto. Foi a partir de amostras de vários tecidos dessa criança que o virologista Pedro Vasconcelos e sua equipe conseguiram isolar no Evandro Chagas, centro nacional de referência em virologia, as amostras de Zika enviadas para São Paulo. A suspeita principal é de que o vírus – assim como outros dos quase 60 da família Flaviviridae, a mesma do vírus da dengue e da febre amarela – se desenvolva melhor em células do sistema nervoso.

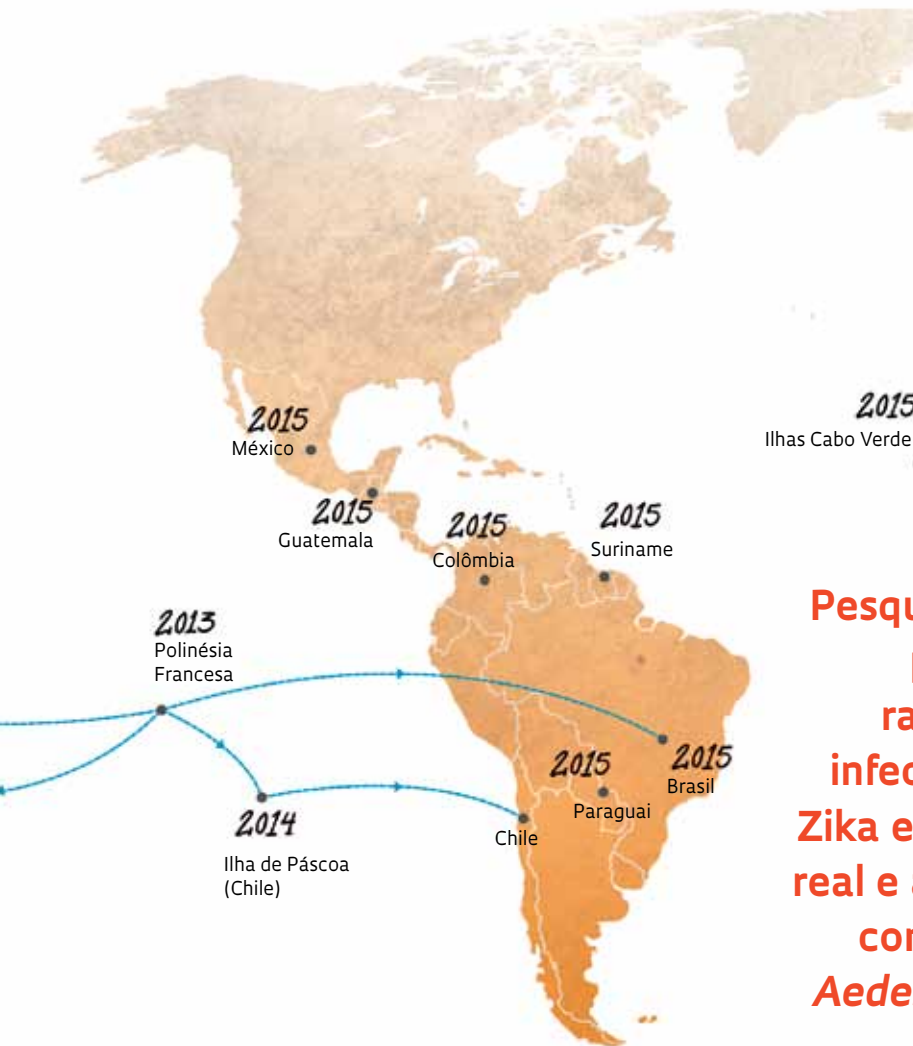
Um segundo experimento planejado por Peron pode ajudar a confirmar a preferência do Zika por células do tecido cerebral e a traçar o caminho percorrido pelo vírus até o sistema nervoso central. Ele e sua equipe estão prontos para inocular o vírus em camundongos fêmeas prenhes e acompanhar o que ocorre com os fetos. “Isso vai permitir verificar se o vírus chega até o cérebro dos fetos e se causa lesão, morte ou microcefalia”, disse Peron em uma visita ao laboratório de Durigon na tarde em que Stella preparava as células para multiplicar o Zika.

O trabalho de Peron com os roedores deve ser complementado pelos experimentos da bióloga

Patrícia Beltrão Braga com células humanas. “A primeira coisa que precisamos saber é se, de fato, o vírus infecta células humanas do sistema nervoso e qual tipo de morte celular ele provoca”, diz Patrícia. Com base nas informações que circulam entre os pesquisadores e na extrapolação do que se conhece sobre outros flavivírus, o Zika deve invadir as células do tecido cerebral, mas ainda não se sabe quais nem como. Essa informação pode no futuro orientar os médicos sobre qual terapia adotar para tentar conter o vírus ou os danos que ele pode causar – por ora, no entanto, ainda não há medicamento seguro para combater o Zika.

Patrícia deve analisar os efeitos do vírus sobre células humanas usando uma tecnologia inovadora. Ela vai usar células-tronco adultas extraídas do dente de leite de crianças e reprogramá-las quimicamente para se transformarem em células mais versáteis, capazes de originar diferentes tecidos. Cultivadas em uma matriz tridimensional, essas células, ao receberem os estímulos químicos certos, originam os diferentes tipos de células do sistema nervoso central e se organizam em camadas, como se fossem cérebros microscópicos – alguns têm o tamanho da cabeça de um alfinete.

Patrícia planeja infectar os minicérebros com o Zika e acompanhar as alterações que surgirem.



## Pesquisadores planejam rastrear as infecções por Zika em tempo real e auxiliar o combate ao *Aedes aegypti*

Uma das ferramentas necessárias para isso seria um teste de laboratório confiável para identificar infecções antigas por Zika e saber por onde o vírus já passou e quando. A forma atual de fazer esse rastreamento é por meio de exames sorológicos, que detectam anticorpos contra o vírus no sangue. Esse tipo de teste permite saber se uma infecção é antiga ou recente, mas não funciona bem no caso do Zika. É que os anticorpos contra ele são semelhantes aos gerados contra os vírus da dengue, que ocorre em quase todo o país.

O modo alternativo de averiguar a infecção, já disponível em quase 20 laboratórios da rede pública de saúde, é um teste que usa a técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR). Ele amplifica uma região do material genético do vírus, mas é mais complexo e exige pessoal treinado e equipamentos caros. Além disso, ele só permite detectar o Zika quando a infecção está ativa e a pessoa apresenta os sintomas.

Como boa parte dos laboratórios da Rede Zika já dispõe de equipamentos para realizar PCR – muitos são antigos membros da Rede de Diversidade Genética de Vírus (VGDN), equipada com financiamento da FAPESP –, Zanotto planeja aproveitar essa capacidade instalada para auxiliar no monitoramento do Zika no estado de

São Paulo. A ideia é que esses laboratórios realizem o diagnóstico molecular de pessoas suspeitas de estarem infectadas. Assim, seria possível acompanhar quase em tempo real o avanço das infecções e auxiliar os serviços de vigilância epidemiológica a combater os focos de infecção ativos.

Há motivos de sobra para a urgência. O verão já começou e com ele o período de chuvas no Sudeste, onde vivem 82 milhões de pessoas ou quatro de cada 10 brasileiros. O receio de virologistas, epidemiologistas e especialistas em saúde pública é de que o Zika encontre um terreno fértil para prosperar. O vírus é inoculado nos seres humanos pela picada da fêmea do *Aedes aegypti*, um mosquito escuro de pernas listradas de branco que costuma se alimentar de sangue durante o dia. Além de sangue, o mosquito só precisa de um pouco de água parada para gerar sua prole. E já faz alguns anos vem se tornando resistente a inseticidas (ver Pesquisa FAPESP nº 147).

Outro motivo de preocupação é que o *Aedes*, transmissor também dos vírus da dengue, da febre amarela e da febre chikungunya, já se espalhou pelo Sudeste. A evidência mais contundente da presença do mosquito são os casos de dengue de 2015.

“Minha ideia é avaliar se o vírus prejudica o crescimento das células, a produção de proteínas e a formação de sinapses, que são as conexões entre os neurônios”, diz. “Acredito que os minicérebros devem permitir termos uma resposta rápida para algumas questões”, conta a pesquisadora, que participou da primeira reunião da Rede Zika no início de dezembro. Até aquele momento o Ministério da Saúde havia registrado a presença do vírus em 18 estados, principalmente no Nordeste, onde foram identificados os primeiros casos. E o vírus podia avançar mais.

Uma das dificuldades de planejar ações eficientes para conter o vírus é que ainda não se conhece seu padrão de circulação na população brasileira – nem em outras populações. Ninguém sabe com precisão quantas pessoas já foram infectadas no país nem quantos casos novos surgem por mês. Também não há dados sobre a taxa de infecção dos mosquitos e a sua eficiência em transmitir o vírus pela picada. “Com essas informações, poderíamos calcular a capacidade de a infecção se espalhar”, conta o epidemiologista Eduardo Massad, da Faculdade de Medicina da USP, que aderiu à rede.

Um modo de começar a conhecer essas variáveis é registrar os casos de infecção em tempo real, para ver como evoluem no tempo e no espaço.



No ano passado o Ministério da Saúde identificou 1,6 milhão de casos suspeitos da infecção no país, dos quais 990 mil ou 61% ocorreram no Sudeste (718 mil no estado de São Paulo). É possível, sugerem alguns pesquisadores, que boa parte desses mosquitos já esteja contaminada com o Zika.

Já faz algum tempo se sabe que o Zika circula, ainda que timidamente, pelo Sudeste brasileiro. Os estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Espírito Santo haviam registrado até o fim de novembro uns poucos casos contraídos em seu próprio território e confirmados por exames moleculares. Mas não havia uma contabilidade oficial – e precisa.

O primeiro caso em São Paulo foi detectado em 19 de maio, quando o Instituto Adolfo Lutz, um dos laboratórios de referência para a detecção de vírus no país, confirmou a presença do Zika no sangue de um homem de 52 anos morador de Sumaré, na região de Campinas. Outro caso foi registrado em São José do Rio Preto, no noroeste do estado, e mais dois em Ribeirão Preto, no norte. “É possível que o Zika esteja circulando há alguns meses no estado, mas não de maneira disseminada”, disse o infectologista Marcos Boulos, chefe da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo. “Caso contrário, já teríamos a confirmação de problemas neurológicos”, contou na tarde de 14 de dezembro, antes de o secretário David Uip anunciar que seis bebês com microcefalia estavam sob investigação para infecção por Zika.

**A**inda não se conhece o tamanho do problema. Em meados de dezembro o Ministério da Saúde publicou um documento no qual faz uma projeção, ainda com grande nível de incerteza, sobre o número de infectados pelo vírus no país. Entre 443 mil e 1,3 milhão de brasileiros já podem ter tido Zika, doença que se confunde com a dengue, mas em 80% dos casos não gera sinal aparente ou causa, no máximo, um mal-estar passageiro (*ver quadro abaixo*). Os autores do documento chegaram a esses números tomando por base estimativas da literatura médica internacional e os casos suspeitos de dengue não confirmados por exames de laboratório.

O médico e virologista Maurício Lacerda Nogueira, professor da Faculdade de Medicina de Rio Preto, é um dos que suspeitam de que parte dos casos identificados como dengue, na realidade, seja de Zika. Há quase uma década ele acompanha os surtos de dengue em São José do Rio Preto e em abril e maio de 2015 identificou algo atípico: casos da síndrome de Guillain-Barré, doença inflamatória que degenera os nervos, em pessoas com sintomas de dengue. “Olhando retrospectivamente, pode ter sido o Zika”, contou. Em breve ele deve testar para o vírus cerca de 300 amostras de sangue do início de 2015 classificadas como dengue – Zanotto planeja fazer o mesmo com outras 1,2 mil da capital.

Caso o vírus esteja no estado há mais tempo e seja, de fato, o causador da microcefalia, novos ca-



## Variações sutis

Alguns sinais clínicos ajudam a distinguir a infecção causada pelo Zika de dengue e *chikungunya*

Sintomas	DENGUE	ZIKA	CHIKUNGUNYA
Febre	Superior a 38°C por 4 a 7 dias	Ausente ou até 38°C por 1 a 2 dias	Superior a 38°C por 2 a 3 dias
Manchas vermelhas na pele (exantema)	Surgem a partir do quarto dia em 30% a 50% dos casos	Surgem no primeiro ou segundo dia em mais de 90% dos casos	Surgem entre o segundo e o quinto dia em 50% dos casos
Dor nos músculos	Muito frequente	Frequente	Pouco frequente
Dor nas articulações	Pouco frequente e leve	Frequente e de leve a moderada	Muito frequente e de moderada a intensa
Inchaço nas articulações	Raro	Frequente e leve	Frequente e de moderado a intenso
Conjuntivite	Rara	Ocorre em 50% a 90% dos casos	Ocorre em 30% dos casos
Cefaleia	Muito frequente e muito intensa	Frequente e de intensidade moderada	Frequente e de intensidade moderada
Coceira	Leve	Moderada a intensa	Leve
Hipertrofia dos gânglios	Leve	Intensa	Moderada
Tendência a sangramento	Moderada	Ausente	Leve
Acometimento neurológico	Raro	Mais frequente do que em dengue e <i>chikungunya</i>	Raro (ocorre principalmente em recém-nascidos)



Stella Melo analisa ao microscópio cultura de células na USP. Acima, células de rim de macaco infectadas com vírus Zika

os podem aparecer em breve. “O pico de circulação da dengue em São Paulo e, portanto, de circulação do *Aedes* ocorreu entre abril e maio e quem era gestante na época está para ter bebê”, lembra Nogueira. Ele e seu grupo devem monitorar 2,2 mil pessoas por cinco anos para verificar a porcentagem de casos assintomáticos de Zika e o risco de microcefalia nos bebês de gestantes infectadas pelo vírus.

A suspeita da conexão do Zika com a microcefalia, algo inédito no mundo, surgiu em outubro. Um mês antes a neurologista pediátrica Vanessa Van Der Linden começou a identificar um aumento incomum nos casos de microcefalia no Hospital Barão de Lucena, onde trabalha no Recife, e notificou a Secretaria de Estado da Saúde de Pernambuco. Em seguida o pesquisador Carlos Brito, da Universidade Federal de Pernambuco, sugeriu que o Zika poderia estar por trás dos casos e o problema foi comunicado ao ministério, que notificou a Organização Mundial da Saúde.

**A**s evidências mais fortes só vieram no fim de novembro, quando Vasconcelos isolou o vírus do bebê do Ceará e a Fiocruz do Rio confirmou a presença do Zika no líquido amniótico de duas gestantes da Paraíba cujos fetos tinham microcefalia. Até 15 de dezembro, o ministério havia confirmado 134 casos associados à infecção por Zika – em Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte e Sergipe – e descartado 102. Outros 2.165 continuavam sob investigação.

Vários especialistas consultados pela reportagem afirmam que o Zika é o principal suspeito de causar a microcefalia. Além da conexão temporal entre os dois problemas, o vírus parece estar se

adaptando a infectar os seres humanos. Em estudo feito com pesquisadores do Instituto Pasteur no Senegal, o biomédico Caio de Melo Freire, da Universidade Federal de São Carlos, demonstrou que a linhagem em circulação no Brasil veio da África via Ásia (ver mapa nas páginas 48 e 49). No caminho, o vírus se humanizou: alguns de seus genes registram a receita para fazer proteínas de modo mais semelhante aos genes humanos.

Mesmo assim, alguns pesquisadores dizem que são necessários mais dados para fechar a questão. “Não sabemos, por exemplo, se a vulnerabilidade do feto se restringe ao primeiro trimestre ou se também é mais tardia e leva a outros problemas”, lembra o neurologista Fernando Kok, da USP. “A relação de causalidade é plausível e os sinais são fortes”, diz o infectologista Celso Granato, da Universidade Federal de São Paulo (Unifesp). “Mas precisamos ter casos mais bem estudados, porque podem haver outros cofatores que ainda não conhecemos.”

“Se me perguntassem se Zika causa microcefalia, eu diria que não sei”, contou o epidemiologista Eduardo Massad no início de dezembro. Para ele, havia muitas perguntas sem resposta. “Agora, se a causalidade for comprovada”, completou, “o Zika pode se tornar o Godzilla das infecções”. ■

#### Artigos científicos e outros documentos

- FAYE, O. *et al.* Molecular evolution of Zika virus during its emergence in the 20<sup>th</sup> century. *PLoS Neglected Diseases*. 9 jan. 2014.
- FREIRE, C.C.M. *et al.* Spread of the pandemic Zika virus lineage is associated with NS1 codon usage adaptation in humans. *Biorxiv.org*. ZANLUCA, C. *et al.* First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 11 jun. 2015.
- CAMPOS, G. S.; BANDEIRA, A. C.; SARDI, S. I. Zika virus outbreak, Bahia, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*. out. 2015.
- Protocolo de vigilância e resposta à ocorrência de microcefalia relacionada à infecção pelo vírus Zika – <http://bit.ly/1REOZZw>.