



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS  
LABORATÓRIO INTERDISCIPLINAR DE BIOCIÊNCIAS

**Tayane Ferreira Nobre**

**Inquérito soropidemiológico de infecção por  
arboviroses (dengue, Zika e chikungunya) na  
população de São Sebastião, Distrito Federal**

**Brasília, 2024**

**Inquérito soropidemiológico de infecção por arboviroses (dengue, Zika e chikungunya) na população de São Sebastião, Distrito Federal**

**Tayane Ferreira Nobre**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Ciências Médicas. Área de concentração Ciências Aplicadas em Saúde

Orientadora: Dra Nadjar Nitz Silva Lociks de Araújo

Coorientador: Dr Walter Massa Ramalho

Brasília, 2024

## FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

F236ii Ferreira Nobre, Tayane  
Inquérito soroepidemiológico de infecção por arboviroses  
(dengue, Zika e chikungunya) na população de São Sebastião,  
Distrito Federal / Tayane Ferreira Nobre; orientador Nadjar  
Nitz Silva Lociks de Araújo; co-orientador Walter Massa  
Ramalho. -- Brasília, 2024.  
189 p.

Tese (Doutorado em Ciências Médicas) -- Universidade de  
Brasília, 2024.

1. arboviroses. 2. soroprevalência. 3. dengue. 4. Zika.  
5. chikungunya. I. Nitz Silva Lociks de Araújo, Nadjar,  
orient. II. Massa Ramalho, Walter, co-orient. III. Título.

## **DATA DA DEFESA**

19 de agosto de 2024

## **BANCA EXAMINADORA**

Doutora Nadjar Nitz Silva Lociks de Araújo (presidente)

Universidade de Brasília

Doutora Lívia Carla Vinhal Frutuoso (membro externo)

Ministério da Saúde

Doutora Ana Izabel Passarella Teixeira (membro externo)

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Doutora Elisabeth Carmem Duarte (membro interno)

Universidade de Brasília

Doutor Rodrigo Gurgel Gonçalves (suplente)

Universidade de Brasília

## DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho à minha mãe, Edileuza Nobre, às minhas segundas mães Ivanilde Vieira (in memoriam) e Marinalva Vieira (in memoriam), e ao meu pai, José Vieira.*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a **Tayane Nobre** por não ter sido forte o tempo todo, mas por nunca ter desistido. Sempre tive fé, e com ela, nada é impossível.

À minha querida orientadora **Nadjar Nitz**, por acreditar em meu potencial desde o mestrado. Muitas vezes, você acreditou até mais do que eu mesma. Obrigada por sempre me apoiar e amparar nos momentos difíceis da vida e no desenvolvimento deste trabalho. Você é uma fonte de inspiração, um ser humano lindo e um exemplo de pesquisadora e mulher.

Ao meu querido coorientador **Walter Ramalho**, agradeço pela oportunidade de trabalhar com este tema. Obrigada por acreditar em meu potencial e me impulsionar a transcender minhas limitações e buscar o conhecimento. Agradeço por todos os ensinamentos e pelo acolhimento.

Ao meu querido amigo **Silvio Fonseca**, por sempre estar ao meu lado, me apoiando e fortalecendo. Seu incentivo foi fundamental para que eu seguisse em frente.

Ao meu melhor amigo, **Magno Barbosa**, que, mesmo não sendo da área, sempre se mostrou disposto a me ajudar.

Às amigadas construídas no mestrado e doutorado, especialmente: **Tauana, Bruno, Virgínia, Geysa, Moisés, Isabella, Ana Paula, Ana Cláudia** e **Krishna**.

A todos da equipe **ZARICS** (motoristas, entrevistadores e flebotomistas) do Núcleo de Medicina Tropical, que trabalharam arduamente na coleta dos dados de campo.

Agradeço ao professor **Rodrigo Haddad**, que gentilmente cedeu o espaço do Laboratório de Diagnóstico Molecular do HUB para a realização dos testes sorológicos.

A todos do **LabIBC/UnB** que com certeza, de alguma forma, contribuíram com este trabalho. Em especial, agradeço às professoras **Mariana, Luciana** e **Juliana**, ao professor **Dallago** e aos colegas do LabIBC por todos os momentos de aprendizado

e descontração. O LabIBC é um exemplo de união e trabalho em equipe, e sinto muito orgulho de fazer parte desse laboratório.

Agradeço imensamente a **Thiago Vidotto** por compartilhar seu amor pela ciência e seu desejo de ajudar, especialmente na criação de cursos que foram fundamentais para meu desenvolvimento pessoal e científico.

Aos moradores de São Sebastião e Jardim Botânico que voluntariamente participaram desta pesquisa.

A todos que de alguma forma contribuíram para que mais um ciclo em minha vida fosse concluído.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Distribuição e carga global da dengue .....	<b>25</b>
<b>Figura 2.</b> Série histórica de casos prováveis de dengue no Brasil de 2000 a 2024.....	<b>27</b>
<b>Figura 3.</b> Série histórica de casos prováveis de dengue no Distrito Federal de 2000 a 2024.....	<b>28</b>
<b>Figura 4.</b> Perfil de infecção primária e secundária da dengue.....	<b>32</b>
<b>Figura 5.</b> Distribuição global de casos autóctones de infecção por ZIKV.....	<b>34</b>
<b>Figura 6.</b> Série histórica de casos prováveis de Zika no Brasil de 2015 a 2024.....	<b>35</b>
<b>Figura 7.</b> Série histórica de casos prováveis de Zika no Distrito Federal de 2015 a 2024.....	<b>36</b>
<b>Figura 8.</b> Distribuição global da chikungunya.....	<b>40</b>
<b>Figura 9.</b> Série histórica de casos prováveis de chikungunya no Brasil de 2014 a 2024.....	<b>41</b>
<b>Figura 10.</b> Série histórica de casos prováveis de chikungunya no Distrito Federal de 2014 a 2024.....	<b>42</b>
<b>Figura 11.</b> Sintomatologia das arboviroses.....	<b>44</b>
<b>Figura 12.</b> Algoritmo para teste sorológico de casos suspeitos de dengue e Zika.....	<b>54</b>
<b>Figura 13.</b> Mapa de localização da área de estudo.....	<b>59</b>

## LISTA DE FIGURAS ARTIGOS

### ARTIGO 1

<b>Figure 1.</b> Location of the São Sebastião Administrative Region, Federal District, Brazil.....	<b>72</b>
<b>Figure 2.</b> Data collection flowchart.....	<b>75</b>
<b>Figure 3.</b> Profile analysis and classification of antibody classes.....	<b>78</b>
<b>Figure 4.</b> Linear correlation matrix between age and antibody index according to immunoglobulin classes.....	<b>80</b>
<b>Figure 5.</b> Prevalence of total IgM and or/IgG antibodies to each of the arboviruses and co-infection.....	<b>81</b>
<b>Additional file 3.</b> Seroprevalence analysis of antibody classes and their confidence intervals with and without borderline results.....	<b>99</b>

### ARTIGO 2

<b>Figure 1.</b> Graphical abstract .....	<b>103</b>
<b>Figure 2.</b> Result of classification analysis using the Random Forest algorithm.. .....	<b>109</b>
<b>Figure 3.</b> Validation analyzes of the classification tree model.....	<b>110</b>

## LISTA DE TABELAS ARTIGOS

### ARTIGO 1

**Table 1.** Demographic characteristics and positive results by collection phase. São Sebastião, Distrito Federal, Brazil, 2020-2021.....**76**

**Table 2.** Overall seroprevalence of DENV, ZIKV, CHIKV, FLAV, FLAV+CHIKV and “No Arbovírus” to gender, age group and education level. São Sebastião, Distrito Federal, Brazil, 2020-2021.....**98**

**Additional file 1.** Description of commercial ELISA kits for IgM detection by study collection phase.....**99**

**Additional file 2.** Description of commercial ELISA kits for IgG detection by study collection phase.....**99**

**Additional file 4.** Seroprevalence analysis of antibody classes and their confidence intervals with and without borderline results.....**100**

### ARTIGO 2

**Table 1.** Main variables for seropositivity identified by Random Forest analysis in São Sebastião, Distrito Federal, Brazil, 2020-2021.....**111**

**Table 2.** Individual characteristics associated with arbovirus seropositivity. São Sebastião, Federal District, Brazil, 2020-2021.....**129**

**Table 3.** Perception about dengue associated with arbovirus seropositivity. São Sebastião, Federal District, Brazil, 2020-2021.....**113**

**Table 4.** Household characteristics associated with arbovirus seropositivity. São Sebastião, Federal District, Brazil, 2020-2021.....**131**

**Table 5.** Peridomestic characteristics associated with arbovirus seropositivity. São Sebastião, Federal District, Brazil, 2020-2021.....**115**

## **APÊNDICES**

<b>Apêndice 1.</b> Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	<b>149</b>
<b>Apêndice 2.</b> Termo de Assentimento Livre e Esclarecido.....	<b>152</b>
<b>Apêndice 3.</b> Questionário.....	<b>155</b>

## **ANEXOS**

<b>Anexo 1.</b> Parecer de aprovação do CEP.....	<b>184</b>
<b>Anexo 2.</b> Submissão Artigo 1.....	<b>188</b>
<b>Anexo 3.</b> Artigo publicado relacionado ao tema da pesquisa.....	<b>189</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>DENV</b>	vírus dengue
<b>ZIKV</b>	vírus Zika
<b>CHIKV</b>	vírus chikungunya
<b>OMS</b>	Organização Mundial da Saúde
<b>WHO</b>	World Health Organization
<b>PAHO</b>	Organização Pan-Americana da Saúde
<b>SES/DF</b>	Secretaria de Saúde do Distrito Federal
<b>FHD</b>	Febre Hemorrágica da Dengue
<b>SCD</b>	Síndrome do Choque da Dengue
<b>IgM</b>	Imunoglobulina M
<b>IgG</b>	Imunoglobulina G
<b>RT-PCR</b>	Transcrição Reversa seguida de Reação em Cadeia da Polimerase
<b>ELISA</b>	Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
<b>PRNT</b>	Teste de Neutralização por Redução de Placa
<b>IFI</b>	Imunofluorescência Indireta
<b>IH</b>	Inibição da Hemaglutinação
<b>NS1</b>	Proteína não estrutural 1
<b>OPAS</b>	Organização Pan-Americana da Saúde
<b>SGB</b>	Síndrome de Guillain-Barré
<b>ESPII</b>	Emergência de Saúde Pública de Interesse Internacional
<b>SCZ</b>	Síndrome Congênita associada à infecção pelo vírus Zika
<b>ORF</b>	Open Reading Frame
<b>RNA</b>	Ácido Ribonucleico
<b>ECSA</b>	Cepa do Leste-Centro-Sul Africano

<b>IOL</b>	Cepa do Oceano Índico
<b>SINAN</b>	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
<b>ADCC</b>	Intensificação da infecção dependente de anticorpos
<b>PIB</b>	Produto Interno Bruto
<b>UF</b>	Unidade Federativa
<b>RA</b>	Região Administrativa
<b>DF</b>	Distrito Federal
<b>CNEFE</b>	Cadastro Nacional de Endereços para Fins Estatísticos
<b>HUB</b>	Hospital Universitário de Brasília
<b>UnB</b>	Universidade de Brasília
<b>nm</b>	Nanômetro
<b>FLAV</b>	Flavivirus
<b>RF</b>	Radom Forest
<b>RMSE</b>	Erro Quadrático Médio
<b>CEP</b>	Comitê de Ética em Pesquisa
<b>CAAE</b>	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
<b>TCLE</b>	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
<b>TALE</b>	Termo de Assentimento Livre e Esclarecido

## **FINANCIAMENTO**

Este trabalho foi financiado pelas seguintes instituições:

- Laboratório Misto International (LMI Sentinela), composto por uma parceria entre o instituto nacional francês de pesquisa para o desenvolvimento sustentável (Institut de Recherche pour le Développement, IRD), Universidade de Brasília (UnB) e Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz);
- Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Ministério da Educação, Brasil - Código Financeiro 001;
- Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS).

## ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO.....	22
1.2 Dengue.....	23
1.2.1 Aspectos gerais .....	23
1.2.2 Etiologia.....	24
1.2.3 Epidemiologia .....	24
1.2.4 Aspectos clínicos e fisiopatologia.....	28
1.2.5 Diagnóstico .....	30
1.3 Zika.....	33
1.3.1 Aspectos gerais e epidemiologia.....	33
1.3.2 Etiologia.....	36
1.3.3 Aspectos clínicos e fisiopatologia.....	37
1.3.4 Diagnóstico .....	38
1.4 Chikungunya.....	39
1.4.1 Aspectos gerais e epidemiologia.....	39
1.4.2 Etiologia.....	42
1.4.3 Aspectos clínicos e fisiopatologia.....	43
1.4.4 Diagnóstico .....	45
1.5 Transmissão .....	46
1.6 Prevenção, controle, tratamento e vacinas .....	47
1.7 Sistema de Vigilância.....	50
1.8 Testes sorológicos e reações cruzadas .....	52
1.9 Fatores associados.....	54
2. JUSTIFICATIVA.....	57
3. OBJETIVOS.....	58
3.1 Objetivo geral.....	58
3.2 Objetivos específicos .....	58
4. MÉTODOS.....	59
4.1 Tipo, área e população do estudo.....	59
4.2 Critérios de inclusão e exclusão.....	61
4.3 Cálculo amostral .....	61
4.4 Coleta dos dados .....	61
4.5 Testes sorológicos.....	62
4.6 Definição de caso .....	63

4.7 Análise dos dados.....	64
4.7.1 Fatores associados.....	64
4.7.2 Análise comparativa entre soroprevalência estimada e casos notificados de arbovírus.....	65
4.8 Aspectos éticos.....	66
5. RESULTADOS .....	67
5.1 Artigo 1 .....	68
5.2 Artigo 2 .....	101
6. CONCLUSÕES.....	133
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	134
8. REFERÊNCIAS .....	137
9. APÊNDICES .....	149
9.1 Apêndice 1 – TCLE.....	149
9.2 Apêndice 2 – TALE .....	152
9.3 Apêndice 3 – QUESTIONÁRIO.....	155
10. ANEXOS.....	184
10.1 Anexo 1 – Parecer de aprovação do CEP .....	184
10.2 Anexo 2 – Submissão Artigo 1 .....	188
10.3 Anexo 3 – Artigo publicado relacionado ao tema da pesquisa .....	189

## RESUMO

**Introdução:** as arboviroses urbanas como a dengue, Zika e chikungunya representam um fardo global significativo, particularmente em regiões tropicais como o Brasil. São Sebastião, uma área urbana de classe média baixa a apenas 26 km da capital brasileira, é uma área hiperendêmica de dengue. No entanto, casos assintomáticos podem obscurecer a ocorrência dessa doença. Assim, os inquéritos sorológicos podem fornecer uma estimativa mais acurada da prevalência das arboviroses urbanas. Contudo, essas avaliações são escassas na região Centro-Oeste do país. **Objetivo:** estimar a prevalência de anticorpos IgM e IgG (anti - dengue, Zika e chikungunya) e seus fatores associados na população de São Sebastião, Distrito Federal. **Métodos:** foi conduzido um estudo transversal envolvendo 1.535 domicílios, com a coleta de dados realizada em duas fases: a primeira entre fevereiro e março de 2020 e a segunda entre outubro de 2020 e janeiro de 2021. Testes sorológicos ELISA detectaram anticorpos IgM e IgG. Os dados foram coletados por meio de questionário, abrangendo histórico de dengue no domicílio, percepções e medidas preventivas, características domiciliares e peridomiciliares, características individuais, viagens, locais frequentados, acesso à saúde e contato com arboviroses. Os participantes com resultado positivo para IgM e/ou IgG foram classificados como positivos para arbovírus. Fatores associados à soropositividade foram analisados por *machine learning* para classificação das variáveis. As análises incluíram estatística descritiva, associações, comparações de médias e correlações. A prevalência foi calculada com intervalos de confiança de 95% e o nível de significância  $p < 0,05$ . Os resultados sorológicos positivos foram comparados com os casos capturados pela vigilância epidemiológica local. **Resultados:** o estudo incluiu 1.405 indivíduos, divididos em fases pré-pandêmica e pandêmica da COVID-19. Entre os participantes, 0,7% a 28,8% relataram histórico de dengue, zika ou chikungunya. No entanto, a soroprevalência global estimada foi de 64,3% para dengue, 51,4% para Zika e 5,4% para

chikungunya. O avanço da idade, menor escolaridade, abastecimento de água, formato e cor do telhado, e número de quartos foram significativamente associados à maior exposição a arbovírus ( $p < 0,05$ ). A estimativa de soroprevalência foi 84 vezes maior do que o relatado pela vigilância epidemiológica. **Conclusão:** a disparidade entre os relatos de infecção por arbovírus e as evidências sorológicas sugerem uma circulação silenciosa dos vírus na população avaliada. Além disso, os principais preditores de soropositividade ressaltam a necessidade de aprimorar os métodos diagnósticos, fortalecer a vigilância e implementar estratégias integradas de controle.

**Palavras chave:** arboviroses, soroprevalência, dengue, Zika, chikungunya, estudos soropidemiológicos.

## ABSTRACT

**Introduction:** urban arboviruses such as dengue, Zika, and chikungunya pose a significant global burden, particularly in tropical regions like Brazil. São Sebastião, a lower-middle-class urban area just 26 km from the Brazilian capital, is hyperendemic for dengue. However, asymptomatic cases can obscure the actual extent of these disease. Thus, serological surveys provide a more accurate assessment of the urban arbovirus burden, but such evaluations are scarce in the Central-West region of the country. **Objective:** to estimate the prevalence of IgM and IgG antibodies (anti-dengue, Zika, and chikungunya) and their associated factors in the population of São Sebastião, Federal District. **Methods:** a cross-sectional study was conducted involving 1,535 households, with data collection carried out in two phases: the first between February and March 2020 and the second between October 2020 and January 2021. ELISA serological tests detected IgM and IgG antibodies. Data were collected through questionnaires covering dengue history in the household, perceptions and preventive measures, household and peridomestic characteristics, individual characteristics, travel, frequented locations, access to health care, and contact with arboviruses. Participants who tested positive for IgM and/or IgG were classified as positive for arboviruses. Factors associated with seropositivity were analyzed using machine learning for variable classification. The analyses included descriptive statistics, associations, comparisons of means, and correlations. Prevalence was calculated with 95% confidence intervals. The significance level was defined as  $p < 0.05$ . Positive serological results were compared with cases captured by local epidemiological surveillance. **Results:** the study included 1,405 individuals, divided into pre-pandemic and pandemic phases of COVID-19. Among the participants, 0.7% to 28.8% reported a history of dengue, Zika, or chikungunya. However, the estimated overall seroprevalence was 64.3% for dengue, 51.4% for Zika, and 5.4% for chikungunya. Advancing age, lower education level, water supply issues, roof shape and color, and number of

rooms were significantly associated with higher exposure to arboviruses ( $p < 0.05$ ). The seroprevalence estimates were 84 times higher than reported by epidemiological surveillance. **Conclusion:** the disparity between reported arbovirus infections and serological evidence suggests silent circulation of the viruses within the evaluated population. Furthermore, the main predictors of seropositivity highlighted need for improved diagnostics, surveillance, and integrated control strategies.

**Keywords:** vector-borne viruses, seroepidemiologic studies, urban arboviruses, and epidemiological surveillance.

## 1. INTRODUÇÃO

A constante ameaça das arboviroses urbanas, como dengue, Zika e chikungunya, exige uma resposta urgente e multifacetada. O manejo eficaz dessas doenças requer uma compreensão detalhada de sua complexidade e uma vigilância epidemiológica robusta, que deve integrar abordagens ativas e passivas para uma alocação mais eficiente dos recursos. A vigilância ativa, que busca identificar casos de forma proativa, e a vigilância passiva, que se baseia em notificações de casos sintomáticos, desempenham papéis complementares na monitorização das arboviroses.

No entanto, a monitorização passiva tende a subestimar a ocorrência dessas doenças, pois pode não captar todos os casos existentes. Inquéritos soropidemiológicos oferecem uma visão adicional que pode ajudar a preencher lacunas no conhecimento sobre a carga das arboviroses. Esses inquéritos fornecem dados importantes sobre a prevalência de anticorpos em uma população, o que pode ser útil para complementar a vigilância baseada em casos sintomáticos.

Este trabalho contextualiza o impacto das arboviroses urbanas e apresenta os resultados de um inquérito soropidemiológico, destacando tanto os desafios enfrentados quanto os *insights* valiosos obtidos para fortalecer a vigilância epidemiológica.

## 1.2 Dengue

### 1.2.1 Aspectos gerais

Dengue, Zika e chikungunya são doenças causadas por arbovírus transmitidos por vetores artrópodes conhecidos como arbovírus. Atualmente, estima-se que existam aproximadamente 150 arbovírus capazes de causar doenças em seres humanos. No Brasil, os principais arbovírus em circulação pertencem às famílias *Flaviviridae*, incluindo o vírus dengue (DENV), o vírus Zika (ZIKV) e o vírus da febre amarela, além da família *Togaviridae*, que inclui o vírus chikungunya (CHIKV). Esses arbovírus são transmitidos principalmente por mosquitos do gênero *Aedes* (CLETON et al., 2012; YOUNG, 2018a).

Embora a dengue seja uma doença antiga, não se sabe exatamente quando a infecção por DENV começou em humanos, devido ao fato de muitas vezes ser assintomática. O registro mais antigo provém de uma enciclopédia chinesa datada de aproximadamente 265 a 420 d.C. As primeiras descrições de eventos epidêmicos ocorreram no século 18 na Ásia, África e América do Norte (GUBLER, 2006; SALLES et al., 2018).

O desmatamento e a expansão de assentamentos humanos em áreas florestais alteraram o habitat natural do vírus da dengue. Originalmente transmitido por mosquitos peri-domésticos, como o *Aedes albopictus*, DENV deslocou-se do ambiente selvagem para áreas rurais e, eventualmente, para as cidades devido aos processos migratórios populacionais. Ademais, o comércio e o tráfico de escravos facilitaram a inserção e disseminação do *Aedes aegypti* nesses novos ambientes. Essa espécie altamente adaptável se espalhou pelo mundo por meio dos navios à vela (GUBLER, 2006).

Dessa forma, a notável capacidade de adaptação de *Ae. aegypti*, combinada com sua predileção alimentar por seres humanos, tornou-o um vetor extremamente eficiente para a transmissão de DENV. Consequentemente, desde os primeiros eventos epidêmicos, a dengue se

estabeleceu como a doença viral transmitida por mosquitos mais comum no mundo (WHO, 2024a).

### **1.2.2 Etiologia**

O primeiro isolamento de DENV ocorreu em 1943, no Japão (KIMURA, 1944). Posteriormente, o vírus dengue foi subdividido em quatro sorotipos (DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4). No entanto, recentemente, foi identificado um quinto sorotipo do vírus da dengue, conhecido como DENV-5, que circula principalmente entre primatas e segue um ciclo silvestre (MUSTAFA et al., 2015). Embora os sorotipos causem sintomas semelhantes, estes são antigenicamente distintos (BARROWS et al., 2018).

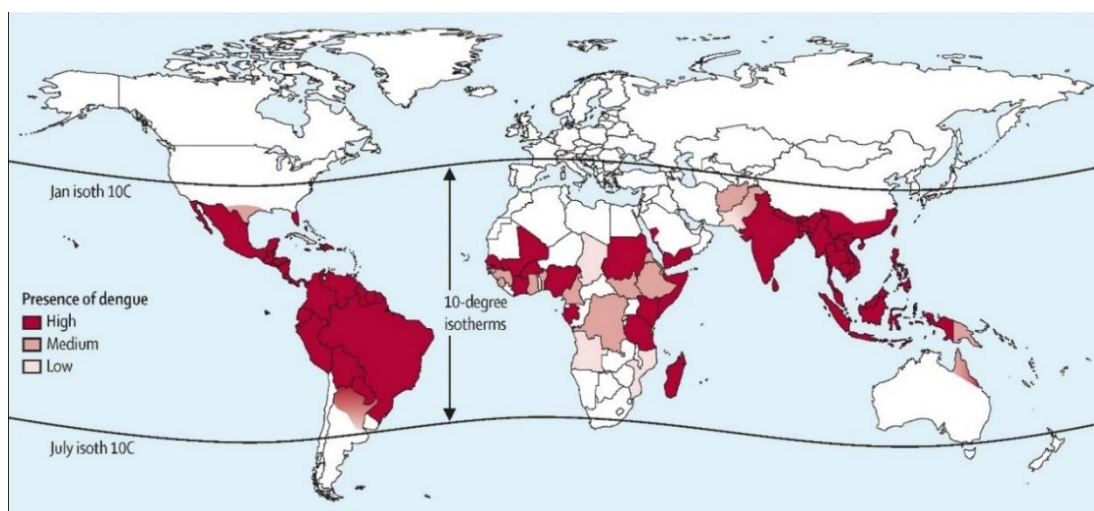
DENV é envelopado e constituído por três proteínas estruturais (proteína C, prM e E) e sete proteínas não estruturais (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5). Essas proteínas desempenham funções essenciais, desde a montagem do vírion até a replicação viral. A proteína NS1, em particular, desempenha um papel fundamental no reconhecimento pelo sistema imune e é frequentemente utilizada como alvo no desenvolvimento de testes de diagnóstico sorológico (CHONG et al., 2019a; ZEIDLER et al., 2017).

### **1.2.3 Epidemiologia**

A dengue representa um desafio constante, com um aumento significativo na incidência global ao longo das últimas décadas. Entre 2000 e abril de 2024, os casos notificados à Organização Mundial da Saúde (OMS) aumentaram de 505.430 para mais de 7,6 milhões, refletindo a ampla distribuição da doença em diversas regiões. Estima-se que aproximadamente metade da população mundial esteja em risco de contrair a doença, destacando a urgência de estratégias mais direcionadas de vigilância e controle (WHO, 2024b).

A complexidade da dengue é ampliada pelo fato de que cerca de 70% dos casos são assintomáticos, o que dificulta o monitoramento preciso e a compreensão completa de seu real impacto (FRITZELL et al., 2018). Além disso, a semelhança dos sintomas frequentemente leva a erros de diagnóstico, fazendo com que casos de dengue sejam confundidos com outras doenças febris, como Zika e chikungunya (SUKHRALIA et al., 2019). Ademais, a dengue pode resultar em casos graves, contribuindo para mais de 3.000 mortes apenas em 2024 (WHO, 2024b).

A dengue é endêmica em mais de 100 países, abrangendo várias regiões como as Américas, o Mediterrâneo Oriental, o Sudeste Asiático e o Pacífico Ocidental (Figura 1). Áreas como as Américas, o Sudeste Asiático e o Pacífico Ocidental são as mais impactadas, com a Ásia responsável por cerca de 70% da carga global da doença (GUZMAN; HARRIS, 2015).



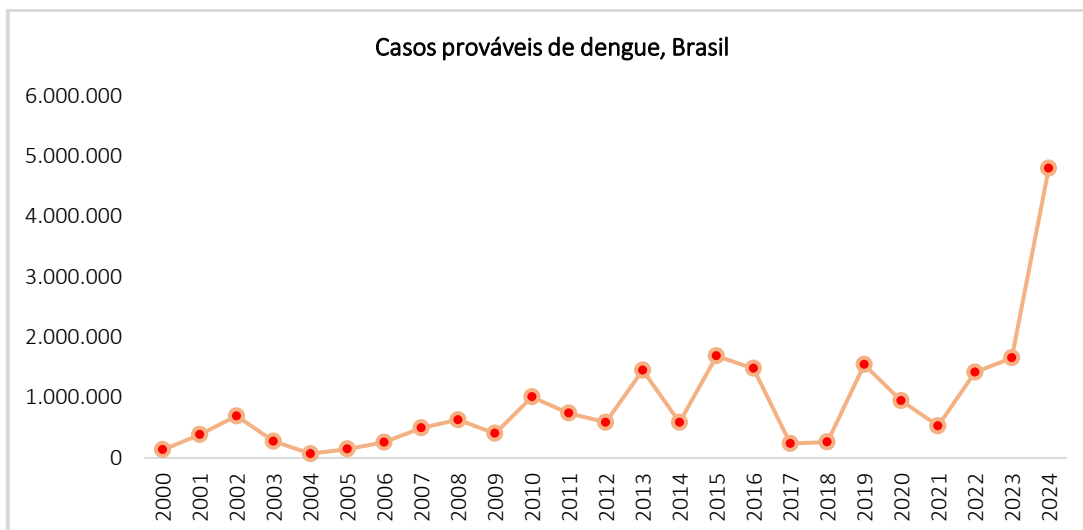
**Figura 1. Distribuição e carga global da dengue (GUZMAN; HARRIS, 2015).**

Em 2024, houve um aumento significativo nos casos da doença em várias regiões, especialmente nas Américas. Entre as semanas epidemiológicas 1 e 20, mais de 8 milhões de casos suspeitos foram

registrados, marcando um aumento de 425% em comparação com a média dos últimos cinco anos (PAHO, 2024).

A vasta extensão territorial do Brasil, combinada com sua diversidade socioeconômica, demográfica, climática e ambiental, molda os padrões de transmissão de doenças no país. No entanto, a dengue tem se espalhado para áreas antes livres da doença, como a região Sul, devido a mudanças climáticas, como o aumento das temperaturas, que têm elevado as taxas de incidência. Regiões de maior altitude, como o Planalto Central, antes consideradas barreiras naturais à transmissão da dengue, agora se mostram vulneráveis à expansão dessa e de outras arboviroses (LEE et al., 2021; BARCELLOS et al., 2024; CODECO et al., 2022; DE ALMEIDA et al., 2022; ROMEO-AZNAR et al., 2022).

A Figura 2 ilustra que, no Brasil, a incidência da doença variou ao longo dos últimos 24 anos. Em 2010, foi registrado o primeiro ano com mais de 1 milhão de casos. Nos anos seguintes, ocorreram flutuações, com picos notáveis em 2013 e 2015, que foram os anos com as maiores incidências da década. A partir de 2016, houve uma queda significativa até 2018. Já nos primeiros anos da década de 2020, foi observada uma tendência de redução de casos em 2020 e 2021 devido à pandemia de COVID-19 e uma menor taxa de notificação. No entanto, a partir de 2022, houve um aumento expressivo, com mais de 1,4 milhões de casos em 2022 e mais de 1,6 milhões em 2023 (BRASIL, 2023a). Contudo, o ano de 2024 registrou um aumento dramático, com mais de 4,5 milhões de casos, o maior número já documentado no período analisado e na história do país, além de mais de 2.500 óbitos confirmados (BRASIL, 2024a).

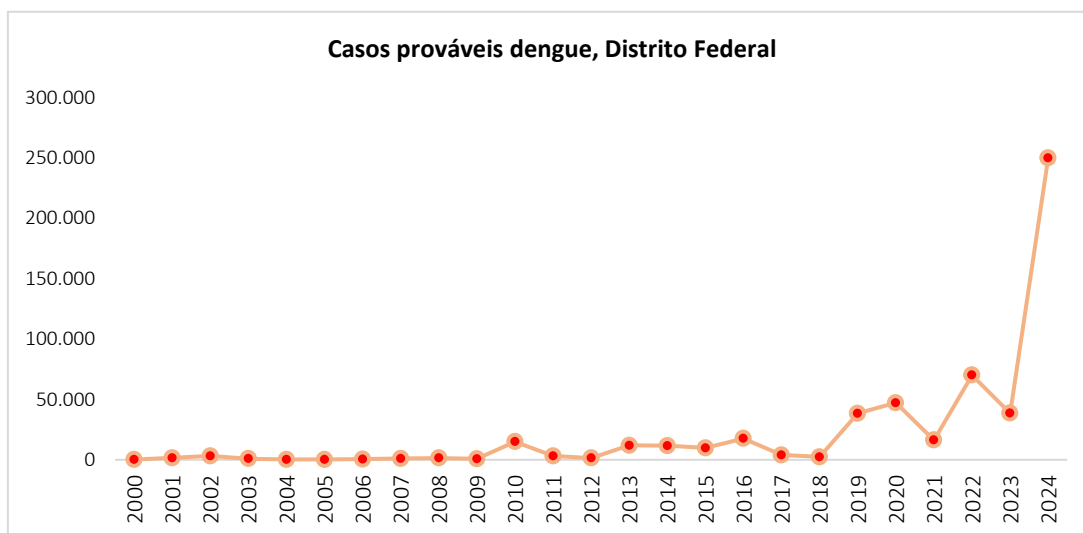


**Figura 2. Série histórica de casos prováveis de dengue no Brasil de 2000 a 2024.** Dados atualizados até 10/05/2024 (BRASIL, 2023a, 2024a).

Esse cenário de expansão da área de transmissão da dengue também se reflete nas oscilações de incidência observadas em diferentes regiões do Brasil. Na Região Centro-Oeste, por exemplo, a taxa de incidência foi de 1.318,3 casos prováveis por 100 mil habitantes em 2019, diminuindo para 1.212,1 casos por 100 mil habitantes em 2020. Em 2021, foi observada uma nova redução para 616,8 casos por 100 mil habitantes. No entanto, em 2022, houve um aumento significativo, alcançando 2.086,9 casos por 100 mil habitantes (BRASIL, 2019, 2020, 2021, 2022a).

O Distrito Federal, localizado na Região Centro-Oeste, iniciou a década de 2010 com um aumento acentuado, registrando 15.018 casos de dengue. Após uma queda em 2011 e 2012, novos picos de incidência foram observados em 2013 e 2014. O ano de 2016 marcou o ápice da década, com 17.666 casos, seguido por uma queda significativa em 2017 e 2018. Contudo, em 2019, houve um novo aumento para 38.409 casos. Nos primeiros anos da década de 2020, os casos continuaram a crescer, mas com um declínio em 2021, coincidindo com a pandemia de COVID-19. No entanto, em 2022, ocorreu um aumento expressivo para 70.116 casos. Em 2023, houve uma

diminuição (BRASIL, 2023a), mas em 2024, os casos aumentaram drasticamente para 246.816, marcando a maior incidência já registrada na história do país (BRASIL, 2024a), Figura 3.



**Figura 3. Série histórica de casos prováveis de dengue no Distrito Federal de 2000 a 2024.** Dados atualizados até 10/05/2024 (BRASIL, 2023a, 2024a).

Os dados históricos mostram que o Distrito Federal apresenta um padrão sazonal, com aumento dos casos de dengue principalmente entre os meses de outubro e maio. Esse perfil pode estar relacionado às condições climáticas favoráveis à reprodução e proliferação do mosquito. Além disso, ao longo dos anos, foram identificados diferentes subtipos do vírus dengue circulando, como DENV-1 e DENV-2 (SES/DF, 2024).

#### 1.2.4 Aspectos clínicos e fisiopatologia

A dengue apresenta um amplo espectro de sintomas clínicos que variam de febre leve a condições fisiológicas graves. A classificação dos sintomas é estabelecida com base em critérios clínico-laboratoriais, que resultam três formas clínicas reconhecidas atualmente: dengue sem sinais de

alarme, dengue com sinais de alarme e dengue grave. A expressão "sinais de alarme" visa identificar oportunamente os casos que podem evoluir para formas graves da doença, ajudando a prevenir complicações fatais (BRASIL, 2024b).

A dengue sem sinais de alarme apresenta sintomas iniciais como febre, mialgia, cefaleia, dor retro-orbital, artralgia e erupção cutânea, sem manifestações de hemorragia ou disfunção de órgãos. Já a forma com sinais de alarme, além dos sintomas mencionados, pode ocorrer complicações como dor abdominal intensa, vômitos persistentes, sangramento de mucosas, letargia e alterações no hematócrito (ROTHMAN; ENNIS, 1999; ROY; BHATTACHARJEE, 2021).

Por outro lado, a dengue grave é caracterizada por sintomas mais severos. Além das manifestações anteriores, envolvem complicações como sangramento intenso, choque, disfunção orgânica, dificuldade respiratória e outras complicações sistêmicas. Entre as formas graves estão a Febre Hemorrágica da Dengue (FHD) e a Síndrome do Choque da Dengue (SCD), que são condições críticas que requerem intervenção médica imediata (ROTHMAN; ENNIS, 1999; ROY; BHATTACHARJEE, 2021). Ademais, fatores como infecções secundárias, idade, carga viral e sorotipo estão associados ao desenvolvimento da forma grave da doença (SANGKAWIBHA et al., 1984).

Na infecção por DENV, a resposta imune é complexa devido à interação entre diferentes sorotipos do vírus. A exposição a um sorotipo específico induz imunidade duradoura contra o mesmo sorotipo (sorotipo homólogo), conferindo proteção contra reinfecção. No entanto, essa imunidade pode ser "inadequada" contra sorotipos diferentes (sorotipos heterólogos), aumentando o risco de desenvolvimento de formas graves (CHONG et al., 2019).

Durante uma infecção secundária, os anticorpos produzidos em infecções anteriores possuem uma capacidade subneutralizante, o que facilita

a entrada do vírus nas células e resulta em uma replicação viral intensificada. Em resposta, o sistema imunológico libera mediadores vasoativos que aumentam a permeabilidade vascular, contribuindo para o desenvolvimento de quadros hemorrágicos (ROY; BHATTACHARJEE, 2021).

### **1.2.5 Diagnóstico**

O diagnóstico da dengue deve considerar critérios clínicos, epidemiológicos e laboratoriais. A observação dos sintomas é crucial para identificar e tratar a doença de forma assertiva e, principalmente, para prevenir formas graves e mortes. Assim, sinais de alarme devem ser rotineiramente pesquisados e valorizados (BRASIL, 2024b).

Os critérios epidemiológicos incluem fatores como residir em áreas com casos de dengue ou ter viajado para locais endêmicos nos últimos 14 dias. Adicionalmente, apresentar febre entre 2 e 7 dias e pelo menos dois dos seguintes sintomas: náusea, vômitos, exantema, mialgias, artralgia, cefaleia, dor retro-orbital, petéquias, prova do laço positiva, leucopenia. Já os critérios laboratoriais devem considerar o tempo desde o início dos sintomas para garantir uma interpretação precisa e um diagnóstico oportuno (BRASIL, 2024b).

Geralmente, os testes laboratoriais são utilizados para confirmar a infecção e/ou para direcionar a conduta clínica. Os testes mais indicados para a fase inicial dos sintomas são os de detecção direta do vírus. Estes são conhecidos como testes diretos. É recomendável que esses testes sejam empregados até cinco dias após o início do quadro febril, que é o momento em que a carga viral é mais elevada (MULLER; DEPELSENAIRE; YOUNG, 2017).

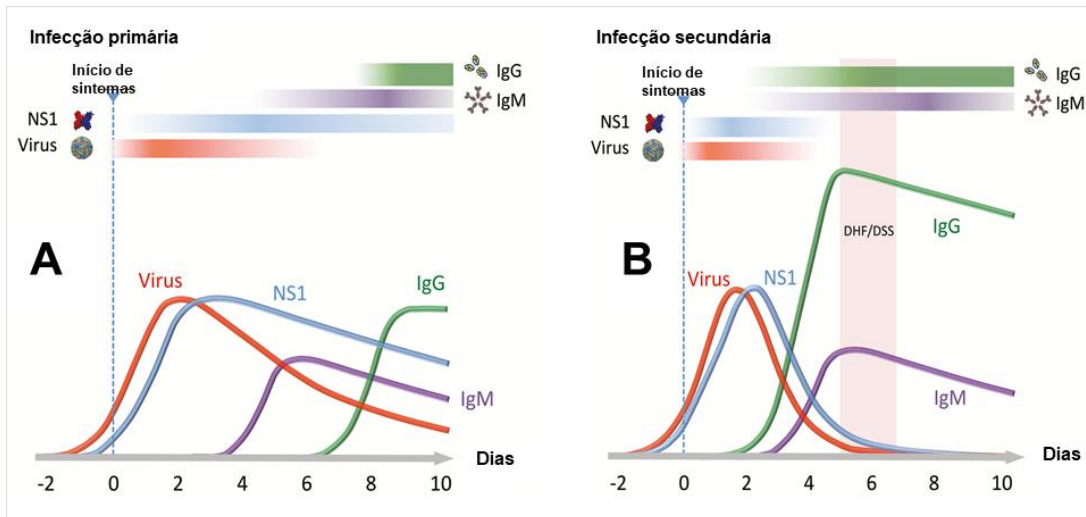
Os testes diretos incluem: isolamento viral por meio de cultivo celular, RT-PCR (Transcrição Reversa seguida de Reação em Cadeia da Polimerase) e a pesquisa da proteína NS1. A pesquisa do vírus por cultivo celular exige

uma estrutura e equipe técnica altamente especializada. Além disso, demanda um tempo significativo para a liberação dos resultados, tornando a técnica obsoleta na prática clínica. A RT-PCR é reconhecida por sua alta especificidade. No entanto, devido ao curto período virêmico da dengue, a sensibilidade da RT-PCR pode diminuir com o passar dos dias. Ademais, exige uma infraestrutura técnica robusta e é relativamente cara, afetando seu custo-benefício (NAJIOULLAH; VIRON; CÉSAIRE, 2014).

Assim, atualmente, a pesquisa pelo antígeno NS1 é uma alternativa promissora para o diagnóstico confirmatório na fase inicial da dengue. O teste de detecção do antígeno NS1 é frequentemente realizado por meio de um imunoenensaio de fluxo lateral, um tipo de teste cromatográfico rápido. A proteína NS1 é secretada em abundância por células infectadas e pode ser detectada nos primeiros dias até nove dias após o início dos sintomas. Essa condição torna a técnica uma opção viável em locais com recursos laboratoriais limitados, proporcionando resultados rápidos em poucas horas (SHU et al., 2004; YOUNG et al., 2000).

Por outro lado, os testes indiretos utilizam técnicas para detectar anticorpos das classes IgM e IgG, como ELISA (Ensaio de Imunoabsorção Enzimática), PRNT (Teste de Neutralização por Redução de Placa), IFI (Imunofluorescência Indireta) e IH (Inibição da Hemaglutinação) (MULLER; DEPELSENAIRE; YOUNG, 2017).

Cerca de três dias após o início dos sintomas, os níveis de antígenos NS1 começam a diminuir. Nesse período, os anticorpos IgM já podem ser detectados e permanecem por até seis meses. O tempo para o surgimento desses anticorpos varia: é mais longo em infecções primárias e mais rápido em infecções secundárias (Figura 4). Após aproximadamente 15 dias do início dos sintomas, recomenda-se realizar testes para detectar anticorpos IgG, que podem persistir por toda a vida (WHO, 2009).



**Figura 4. Perfil de infecção primária e secundária da dengue.** Na infecção primária (A), a detecção da proteína NS1 e do vírus é possível desde o início da doença, enquanto a imunoglobulina M (IgM) surge aproximadamente no terceiro dia de doença e a imunoglobulina G (IgG) surge no final do período agudo. Por outro lado, infecções secundárias (B) são caracterizadas pela presença de IgG no início da fase aguda da doença e por uma duração mais curta na detecção de NS1 e vírus. Adaptado de (MULLER; DEPELSENAIRE; YOUNG, 2017).

Estudos mostram que a combinação dos resultados de IgG e IgM pode ser útil para diferenciar infecções primárias e secundárias (KIT LAM et al., 2000; SANG; CUZZUBBO; DEVINE, 1998), sendo esta distinção importante considerando que as infecções secundárias tendem a ser mais graves (DEJNIRATTISAI et al., 2010; JAENISCH et al., 2016).

A circulação simultânea de arboviroses como Zika e chikungunya e a semelhança dos sintomas entre essas doenças tornam o diagnóstico preciso da dengue desafiador. Além disso, não há biomarcadores preditivos para a evolução para dengue grave (MULLER; DEPELSENAIRE; YOUNG, 2017a). Por isso, o diagnóstico da dengue deve sempre levar em conta critérios clínicos, epidemiológicos e laboratoriais para aumentar a precisão e melhorar o manejo dos casos graves. Quando a diferenciação entre doenças febris é difícil, especialmente no início, é recomendado priorizar a abordagem clínica

para a dengue devido ao seu potencial de complicações graves e maior taxa de morbidade em comparação com Zika e chikungunya (BRASIL, 2024b).

## **1.3 Zika**

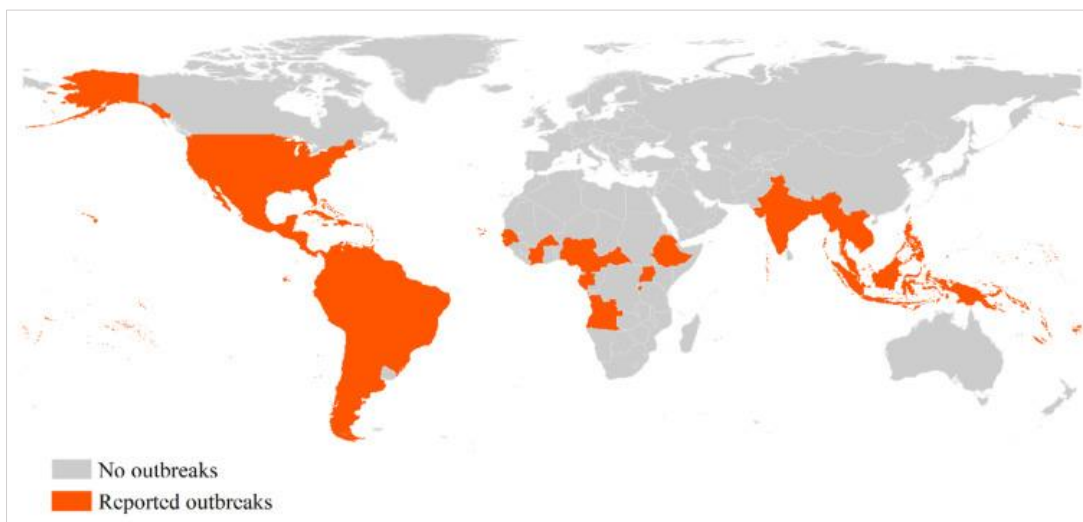
### **1.3.1 Aspectos gerais e epidemiologia**

A primeira evidência de infecção humana por ZIKV ocorreu em meados de 1950, no continente africano (MACNAMARA, 1954). Em 2007, um surto documentado na ilha de Yap marcou a expansão do vírus além da África e Ásia (DUFFY et al., 2009). Posteriormente, em 2013 e 2014, ocorreram outros surtos na Polinésia Francesa e ilhas do Pacífico, respectivamente. Por conseguinte, em 2015, um explosivo surto com potencial pandêmico ocorreu em toda a América do Sul, Central e Caribe, atingindo o Brasil (MUSSO; GUBLER, 2016).

Este cenário levou a OMS e Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) a emitir um alerta relacionado ao aumento de anomalias congênitas e síndrome de Guillain-Barré (FAUCI; MORENS, 2016a). Em fevereiro de 2016, a OMS declarou que os casos recentemente relatados de microcefalia e outros distúrbios neurológicos constituíam uma Emergência de Saúde Pública de Interesse Internacional (ESPII) (HEYMANN et al., 2016). Em maio de 2015, ocorreu o primeiro registro de infecção autóctone por ZIKV no Brasil e nas Américas, envolvendo a linhagem asiática do vírus (ZANLUCA et al., 2015).

Atualmente, a transmissão autóctone de ZIKV já foi registrada em 87 países (Figura 5). No entanto, aproximadamente 55% dos casos podem ser assintomáticos (FRITZELL et al., 2018). Além disso, os sintomas da Zika são semelhantes aos de outras arboviroses e doenças febris, dificultando a vigilância e diagnóstico acurado da doença. Esses desafios contribuem para a não detecção de epidemias em andamento, como foi observado no caso da

Ilha de Yap, onde a presença de anticorpos indicativos de infecção prévia revelou que o vírus já circulava antes do surto de 2007 (LANCIOTTI et al., 2008).

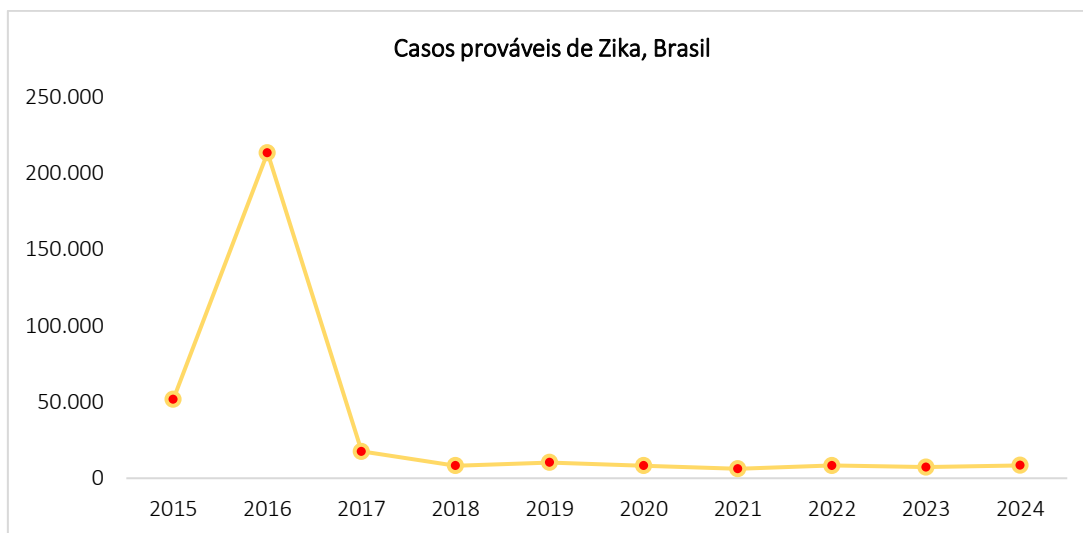


**Figura 5. Distribuição global de casos autóctones de infecção por ZIKV (WIMALASIRI-YAPA et al., 2020).**

O Brasil desempenha um papel importante na disseminação e impacto da Zika. O maior surto global registrado ocorreu no Nordeste brasileiro, com estimativas variando entre 440.000 e 1.300.000 casos. Esse surto foi associado a mais de 4.000 casos de microcefalia (FAUCI; MORENS, 2016; GYAWALI; BRADBURY; TAYLOR-ROBINSON, 2016; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2016). No entanto, o Ministério da Saúde do Brasil relatou 213.350 casos de Zika em 2016 (BRASIL, 2023b).

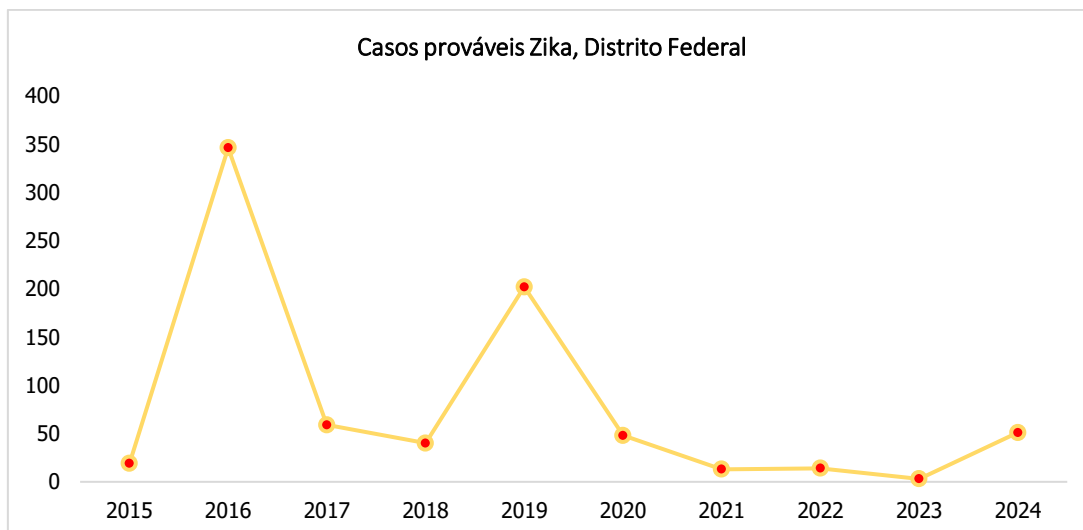
O período de 2015-2016 foi marcado por um surto de Zika no Brasil alcançando seu pico em 2016. Esse momento foi indispensável para o reconhecimento global da gravidade da Zika, especialmente devido à sua associação com complicações neurológicas graves, como a microcefalia em recém-nascidos. A partir de 2017, houve um declínio substancial nos casos. Houve a continuidade da diminuição até 2021 e partir de 2022, foi observada

uma leve ressurgência de casos (BRASIL, 2023b, 2024c), Figura 6. Embora o número de casos de microcefalia tenha diminuído a partir de 2017 e a ESPII tenha sido encerrada, o país ainda registra novos casos de Síndrome Congênita Associada ao Vírus Zika (SCZ), que inclui microcefalia e óbitos associados (BRASIL, 2023c).



**Figura 6. Série histórica de casos prováveis de Zika no Brasil de 2015 a 2024.** Dados atualizados até 09/05/2024 (BRASIL, 2023b, 2024c).

No Distrito Federal, o surto inicial de Zika ocorreu entre 2015 e 2016, atingindo o pico em 2016. Após esse aumento expressivo, houve uma queda acentuada nos anos seguintes. Embora os casos tenham permanecido baixos após 2017, houve pequenas flutuações, com um aumento em 2019 e uma leve ressurgência em 2024. Essas variações indicam que o vírus ainda representa uma ameaça e ressaltam a necessidade de vigilância contínua para prever novos surtos (BRASIL, 2023b, 2024c), Figura 7.



**Figura 7. Série histórica de casos prováveis de Zika no Distrito Federal de 2015 a 2024.** Dados atualizados até 09/05/2024 (BRASIL, 2023b, 2024c).

### 1.3.2 Etiologia

Zika vírus foi isolado pela primeira vez em 1947 a partir do macaco *Rhesus* na floresta de Zika, em Uganda, o que deu origem ao seu nome (DICK; KITCHEN; HADDOW, 1952). Posteriormente, o vírus foi isolado a partir do mosquito *Aedes africanus* no mesmo local (HADDOW et al., 1964). Até o momento, duas linhagens do vírus são conhecidas e descritas: uma africana e outra asiática, distinguindo-se por suas origens geográficas (GATHERER; KOHL, 2016; HADDOW et al., 2012).

ZIKV compartilha semelhanças com DENV, como o uso do mesmo vetor e uma estrutura genômica similar. Seu genoma consiste em uma única ORF (Open Reading Frame), que codifica as proteínas estruturais C, M e E, além das proteínas não estruturais NS1 a NS5, responsáveis pela replicação e montagem do vírus. Essa organização genômica do vírus Zika segue o padrão observado em outros flavivírus relacionados (GATHERER; KOHL, 2016).

### 1.3.3 Aspectos clínicos e fisiopatologia

A infecção por ZIKV geralmente causa sintomas leves ou pode ser assintomática na maioria dos casos (FRITZELL et al., 2018). Geralmente, a doença é autolimitada e caracterizada por febre, artralgia, erupção cutânea, conjuntivite e dores musculares que podem durar de 2 a 7 dias (WHO, 2022a). No entanto, apesar de muitas vezes apresentar sintomas brandos, a infecção pode desencadear complicações graves, como a SCZ e síndrome de Guillain-Barré.

A SCZ é caracterizada por um conjunto de alterações congênitas, tanto estruturais quanto funcionais, que afetam o crescimento e desenvolvimento de embriões ou fetos expostos ao ZIKV durante a gestação. Entre essas alterações estão inclusas a microcefalia e outras malformações congênitas no feto. A microcefalia é definida pelo perímetro cefálico abaixo de (-2) desvios-padrão (DP) da média para a idade e sexo, sendo considerada grave quando inferior a (-3) DP. No entanto, nem todos os casos de SCZ apresentam microcefalia (ARROYO, 2018).

As anomalias associadas ao vírus Zika resultam da sua afinidade pelas células progenitoras neurais humanas. Isso leva à redução do crescimento e proliferação dessas células. Além disso, a infecção por ZIKV causa alterações morfológicas e funcionais, como a formação de aglomerados celulares e a interrupção da diferenciação celular normal. Esses efeitos explicam como o ZIKV pode interferir no desenvolvimento cerebral fetal, causando microcefalia e outras lesões no neurodesenvolvimento (TANG et al., 2016).

Por outro lado, a síndrome de Guillain-Barré é uma polineuropatia aguda e autolimitada causada por um distúrbio autoimune. Geralmente surge após um processo infeccioso, resultando em fraqueza muscular e redução ou ausência de reflexos. No contexto da infecção por Zika, acredita-se que os anticorpos neutralizantes contra o vírus possam atacar os glicolipídios dos nervos periféricos. Isso pode causar lesões na bainha de mielina, levando a

uma polineuropatia desmielinizante inflamatória (RAMÍREZ-RAYÓN et al., 2018).

#### **1.3.4 Diagnóstico**

O diagnóstico da infecção por ZIKV pode ser feito com base nas apresentações clínicas e epidemiológicas. No entanto, devido à similaridade dos sintomas da Zika com outras doenças causadas por arbovírus e outras condições febris, a confirmação precisa requer testes laboratoriais (WHO, 2022b).

O diagnóstico laboratorial envolve dois tipos principais de testes: a detecção viral (métodos diretos) e a detecção de anticorpos (métodos indiretos). A detecção do RNA (Ácido Ribonucleico) é realizada por meio de RT-PCR e fornece um diagnóstico definitivo. Contudo, como a viremia é curta e transitória, esse teste é mais sensível na primeira semana após o início de sintomas. Já na detecção de anticorpos o método ELISA é amplamente utilizado, como por exemplo o MAC-ELISA (CDC, 2018) e confirmado pela técnica PRNT.

Embora o teste PRNT seja considerado o “padrão ouro” para diferenciar infecções entre flavivírus (ROEHRIG; HOMBACH; BARRETT, 2008), este exige uma equipe técnica altamente qualificada, tem baixo rendimento e demanda muito tempo devido ao cultivo celular (PETERSEN et al., 2016a) . Por isso, torna-se impraticável em emergências de saúde pública.

Assim como na dengue, o diagnóstico preciso da Zika é desafiador. A reatividade cruzada com outros flavivírus dificulta a interpretação dos resultados dos testes sorológicos, principalmente para indivíduos que foram previamente expostos a outro flavivírus (MORENS; BURKE; HALSTEAD, 2010). Assim, os casos de Zika são definidos com base em critérios específicos: um caso suspeito inclui erupções cutâneas e/ou febre, associado a sintomas como artralgia, artrite ou conjuntivite. Um caso provável é um caso

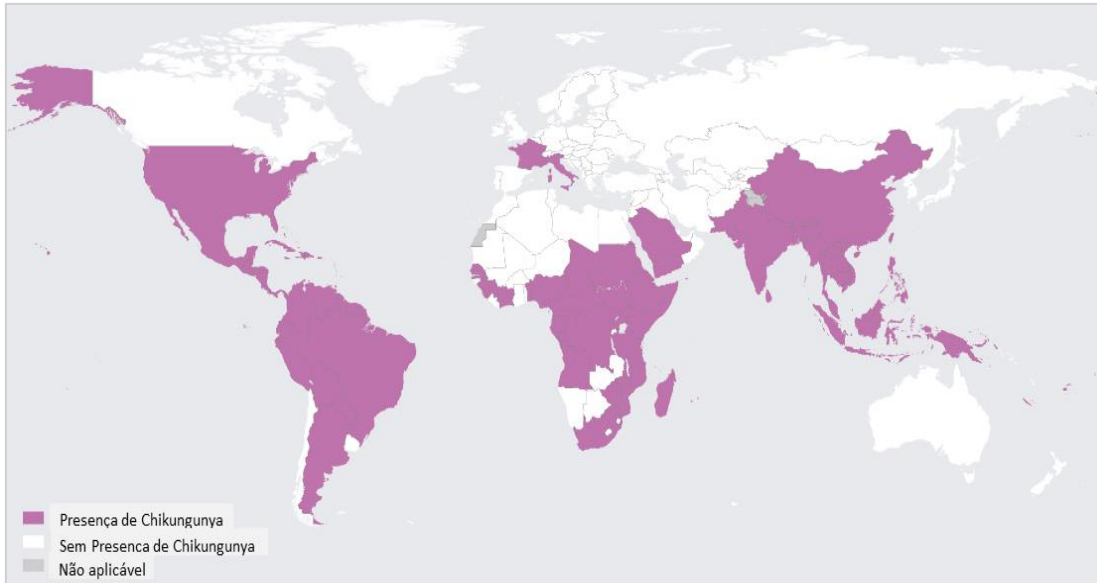
suspeito com anticorpos IgM e uma conexão epidemiológica, como contato com um caso confirmado ou viagem a áreas endêmicas. Já um caso confirmado requer resultados positivos em exames de detecção viral (RT-PCR) ou anticorpos IgM confirmados pelo teste PRNT (OMS, 2016).

## **1.4 Chikungunya**

### **1.4.1 Aspectos gerais e epidemiologia**

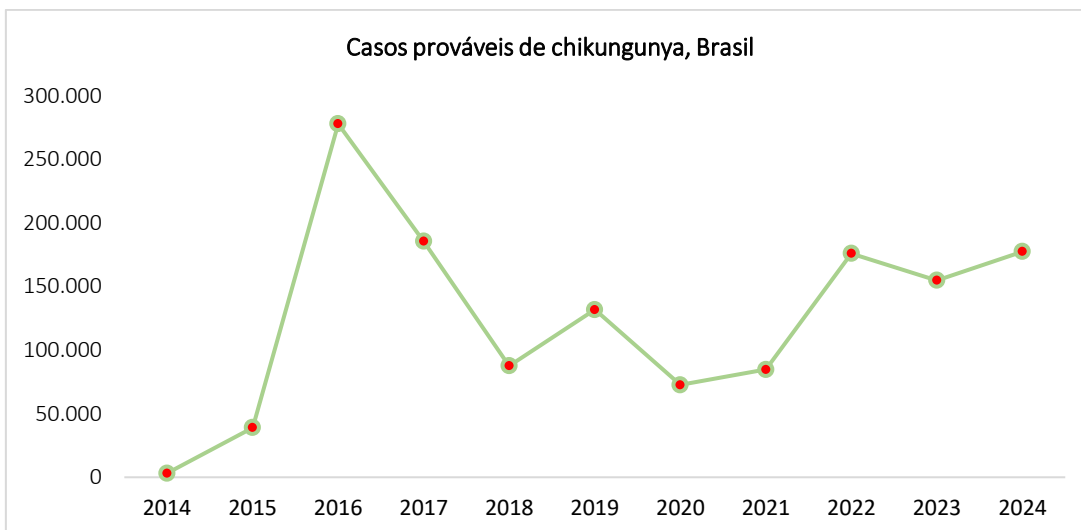
A febre chikungunya foi descrita pela primeira vez em humanos na Tanzânia entre 1952 e 1953. O vírus foi isolado a partir do soro de um paciente durante um surto de uma enfermidade semelhante à dengue, mas com características distintas, como artralgia debilitante e erupções cutâneas nos indivíduos afetados (Lumsden, 1955; Robinson, 1955).

Após um período de ocorrência esporádica e pouco frequente, CHIKV tem sido responsável por surtos em diversas regiões do mundo, abrangendo África, Ásia, Oceano Índico, Caribe e Américas. Sua reemergência global teve início em 2004, no Quênia, e posteriormente se expandiu para o sudoeste do Oceano Índico em 2005 e o subcontinente indiano em 2006. O último surto na Índia registrou cerca de 1,4 milhão de casos. Em 2013, o vírus também emergiu nas Américas, resultando em 22.796 casos confirmados entre 2013 e 2014. Atualmente, casos de infecção por CHIKV têm sido relatados em mais de 110 países nas regiões da Ásia, África, Europa e Américas (BURT et al., 2017; SILVA et al., 2018; SUKHRALIA et al., 2019), Figura 8.



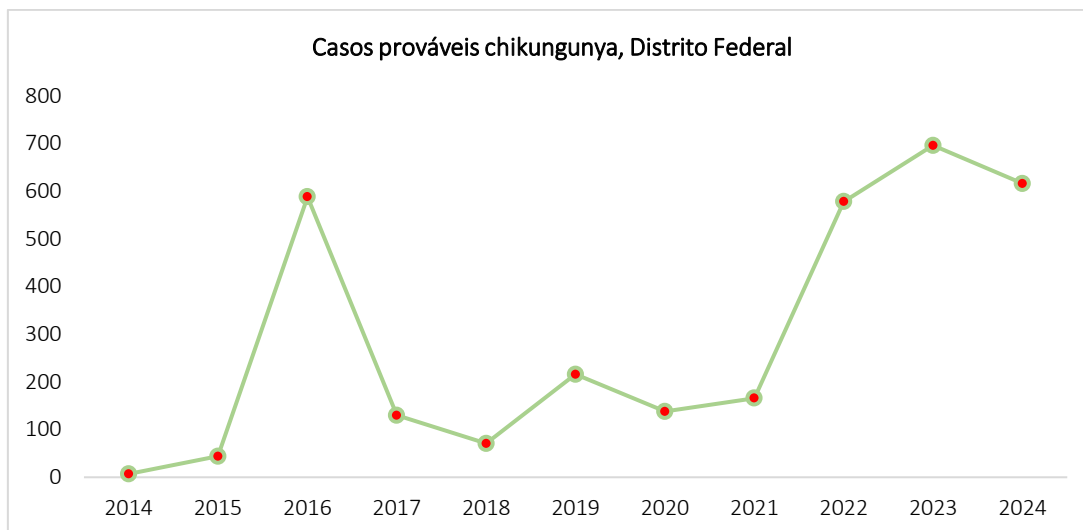
**Figura 8. Distribuição global da chikungunya (WHO, 2022c)**

No Brasil, o primeiro caso autóctone de chikungunya foi confirmado em 2014 no estado do Amapá (NUNES et al., 2015). De 2014 a 2016, os casos aumentaram exponencialmente, com o maior pico em 2016. A partir de então, houve flutuações expressivas nos casos. Entre 2017 e 2020, observou-se uma tendência geral de redução, embora com variações anuais. A partir de 2021, ocorreu uma ressurgência, culminando em um aumento substancial em 2022. Os altos números de casos, especialmente os picos em 2022 e 2024, sublinham a necessidade de vigilância constante (BRASIL 2023c; BRASIL, 2024c), Figura 9.



**Figura 9. Série histórica de casos prováveis de chikungunya no Brasil de 2014 a 2024.** Dados atualizados até 09/05/2024 (BRASIL, 2023c e 2024c).

A região Centro-Oeste tem se destacado pela incidência de chikungunya, e no Distrito Federal, houve variações ao longo dos anos. Entre 2014 e 2016, ocorreu um aumento inicial, culminando em um pico em 2016. A partir de então, os casos mostraram uma tendência de redução até 2018. No entanto, a partir de 2019, houve uma ressurgência, com picos significativos em 2022 e 2023 (BRASIL, 2023c; BRASIL, 2024c), Figura 10.



**Figura 10. Série histórica de casos prováveis de chikungunya no Distrito Federal de 2014 a 2024.** Dados atualizados até 09/05/2024 (BRASIL, 2023c e 2024c).

#### 1.4.2 Etiologia

O termo "chikungunya" é originado do idioma africano makonde e significa "aquele que se dobra" ou "que se contorce", referindo-se à postura curvada que os pacientes adotam devido às intensas dores articulares causadas pelo vírus chikungunya (ROBINSON, 1955). Atualmente, são conhecidos quatro genótipos de CHIKV: Oeste Africano, Leste-Centro-Sul Africano (ECSA), Asiático e Oceano Índico (IOL). No Brasil, até o momento, foram identificadas as linhagens Asiática e ECSA (WEAVER, 2014).

CHIKV apresenta um genoma de RNA de sentido positivo, é envelopado e tem uma estrutura esférica composta por uma única fita de RNA. Seu genoma inclui quatro proteínas não estruturais (NSP1, NSP2, NSP3 e NSP4) e cinco proteínas estruturais (C, E3, E2, 6K e E1). As glicoproteínas E1 e E2 desempenham papéis essenciais na replicação viral: a glicoproteína E1 está envolvida no processo de fusão da membrana, enquanto a glicoproteína E2 permite a entrada do vírus na célula por endocitose (BARTHOLOMEEUSEN et al., 2023).

### **1.4.3 Aspectos clínicos e fisiopatologia**

A chikungunya, na maioria das vezes, se apresenta de forma autolimitada. Em média, 26% das pessoas infectadas são assintomáticas (FRITZELL et al., 2018). Normalmente, a infecção é caracterizada por uma febre abrupta, acompanhada de poliartalgia, presente em 87-98% dos casos, denominada como fase aguda. A poliartalgia, geralmente incapacitante, pode perdurar por dias, semanas ou até mesmo anos, sendo então conhecida como fase crônica. Sintomas como dor muscular, cefaleia, fadiga e erupção cutânea também são comuns. Outras manifestações, como diarreia, náuseas, vômitos ou dor abdominal, estão presentes em cerca de 15 a 47% dos casos na fase aguda (THIBERVILLE et al., 2013; WHO, 2024c).

Chikungunya, dengue e Zika compartilham sinais e manifestações clínicas semelhantes, dificultando o diagnóstico diferencial. Embora cada doença tenha algumas características distintas que podem auxiliar no diagnóstico, essas diferenças não são suficientes para garantir um diagnóstico preciso (FIOCRUZ, 2019), Figura 11.

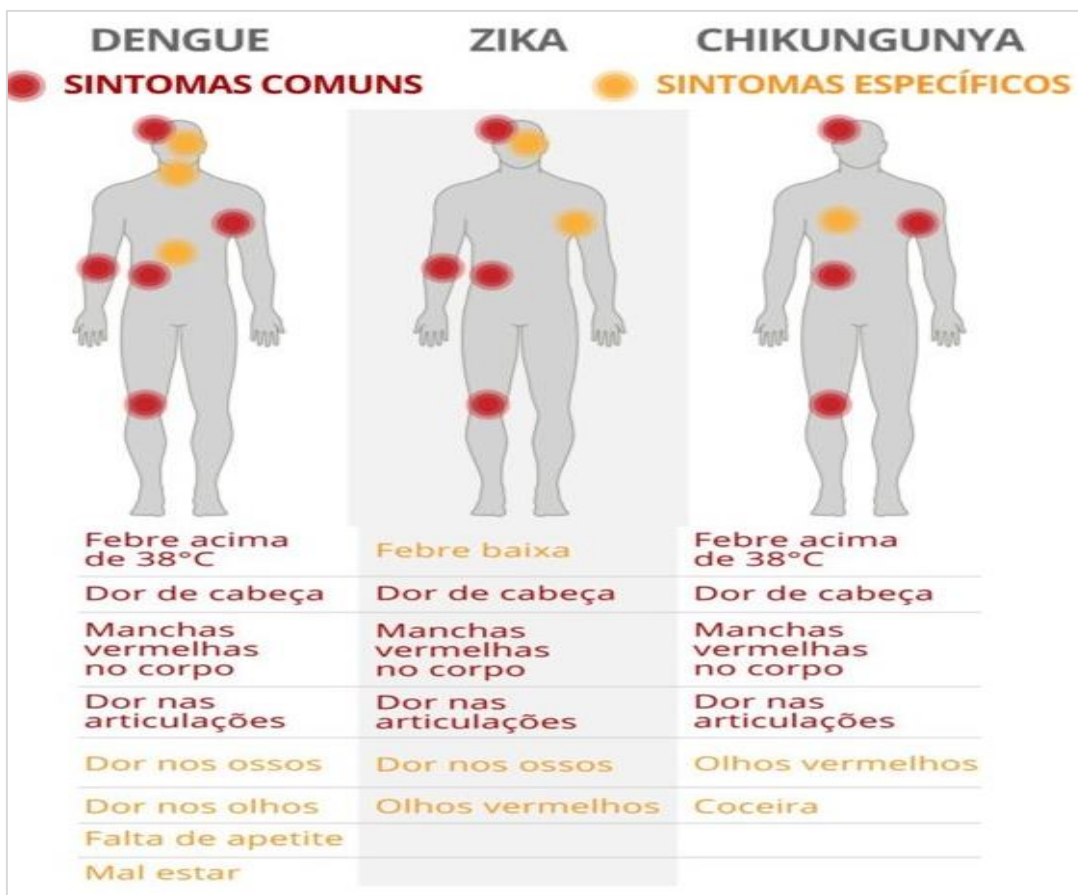


Figura 11. Sintomatologia das arboviroses. Adaptado de (FIOCRUZ, 2019).

A doença articular inflamatória crônica pós chikungunya é desencadeada por mecanismos imunopatológicos nos quais as citocinas desempenham um papel fundamental. Em um estudo clínico, foram identificados diferentes perfis imunológicos ao longo das várias fases da doença. Durante a fase aguda, o primeiro perfil mostrou uma resposta imune inicial antiviral, caracterizada por uma alta produção de citocinas correlacionada com uma carga viral elevada. Na fase inicial da convalescença, o segundo perfil apresentou níveis aumentados de citocinas envolvidas na resposta imune inata e na resposta antiviral das células T. Durante a fase de convalescença tardia, o terceiro perfil evidenciou a recuperação da trombocitopenia. Já na fase crônica da infecção, o quarto

perfil revelou níveis elevados de citocinas inflamatórias, sugerindo uma resposta imune persistente que pode estar relacionada à ocorrência de artrite (CHOW et al., 2011).

A fisiopatologia da chikungunya envolve a replicação viral em células epiteliais, endoteliais, fibroblastos primários e macrófagos derivados de monócitos, resultando na disseminação do vírus no hospedeiro. Esta infecção desencadeia uma resposta imune inata e adaptativa, com a produção de citocinas, quimiocinas e interferons, além da ativação e proliferação de células T e B. No entanto, uma resposta imune desregulada pode levar a uma inflamação crônica e danos nos tecidos, derivando em dor intensa, inchaço e rigidez. É importante destacar que mesmo após a resolução da infecção aguda, a resposta imune tardia pode persistir, contribuindo para a ocorrência de sintomas crônicos como artrite, dor muscular e fadiga (GASQUE et al., 2016; LUM; NG, 2015).

A chikungunya crônica pode causar impactos significativos na qualidade de vida dos indivíduos afetados, resultando em problemas físicos como dores persistentes e limitações de mobilidade. Além disso, há associação com questões psicológicas, como depressão, sensação de incapacidade, dependência, mau humor e insegurança. Assim, mesmo que a maioria das pessoas se recupere, a chikungunya pode evoluir para dores articulares persistentes por meses ou anos. Essas observações destacam a importância de adotar abordagens multidisciplinares e holísticas no tratamento e cuidado de pacientes com chikungunya crônica, levando em consideração todos os aspectos físicos, emocionais e sociais da doença (ELSINGA et al., 2017; SIMON et al., 2022).

#### **1.4.4 Diagnóstico**

O manejo clínico adequado de indivíduos com suspeita de chikungunya exige um diagnóstico diferencial preciso entre essa doença, outras

arboviroses e condições clínicas similares. Assim como na dengue e Zika, a confirmação laboratorial do diagnóstico de chikungunya pode ser feita pela detecção de RNA viral ou anticorpos IgM. A escolha do teste laboratorial depende do momento de início dos sintomas. O RT-PCR é indicado na fase aguda da infecção para detecção viral, enquanto o ELISA para IgM é apropriado na fase de convalescença para identificar a resposta imunológica.

A janela favorável para a aplicação de testes moleculares geralmente é de 4 a 6 dias após o início dos sintomas. A detecção de anticorpos pode ser realizada a partir do 5º ao 7º dia. Em casos de chikungunya crônica, os anticorpos IgM podem persistir por três a quatro meses, podendo chegar a 1 ano. No entanto, em casos sem cronicidade, a presença desses anticorpos geralmente se mantém por cerca de 2 meses. Por sua vez, os anticorpos IgG podem ser detectados por vários anos após a infecção (VAIRO et al., 2019).

### **1.5 Transmissão**

O modo mais frequente de transmissão da dengue, Zika e chikungunya é por meio de mosquitos fêmeas, principalmente das espécies *Ae. albopictus* e *Ae. aegypti*. Esses mosquitos se infectam ao se alimentar de hospedeiros que estão no estágio virêmico da infecção. Na próxima refeição de sangue, eles podem transmitir o vírus ao injetar sua saliva, em um processo chamado transmissão vetorial (ANTÓNIO et al., 2018).

Esses arbovírus possuem ciclos de transmissão vetorial classificados como silvestre e urbano. No ciclo silvestre, os vírus são mantidos naturalmente entre mosquitos vetores, como o *Ae. albopictus*, e vertebrados, como primatas, pássaros e pequenos mamíferos. No ciclo urbano, o indivíduo ou animal doméstico infectado pelo ciclo silvestre atua como amplificador, disseminando os vírus para outros indivíduos ou animais domésticos no ambiente urbano. É nesse ciclo que ocorrem as epidemias, devido à capacidade do *Ae. aegypti* de se adaptar ao ambiente urbano e transmitir os vírus de forma eficiente entre os seres humanos (YOUNG, 2018b).

No ciclo de transmissão urbano, o ser humano é considerado um hospedeiro acidental, pois não é essencial para o ciclo biológico do vírus. A infecção ocorre somente se o indivíduo for picado por um mosquito vetor infectado, principalmente o *Ae. aegypti*. No entanto, os seres humanos desempenham um papel vital na disseminação e manutenção dos vírus, pois seu comportamento facilita a criação de criadouros para o vetor (KUNO; CHANG, 2005).

Além da transmissão vetorial, esses arbovírus podem ser transmitidos verticalmente (de mãe para filho) e por meio de transfusões sanguíneas. No caso do vírus Zika, também foi relatada a transmissão sexual. Além disso, ZIKV foi isolado em vários fluidos biológicos, como líquido cefalorraquidiano, líquido amniótico, sêmen, leite materno e urina. Observou-se também que as larvas e pupas do *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* podem ser infectadas por ZIKV em ambientes com reservatórios de água contaminados por urina (BASU; TUMBAN, 2016; COLT et al., 2017; DU et al., 2019).

## **1.6 Prevenção, controle, tratamento e vacinas**

A compreensão dos ciclos de transmissão dos arbovírus é essencial para implementar estratégias eficientes de prevenção e controle. Nesse contexto, uma abordagem bem sucedida é o controle químico utilizando os próprios mosquitos vetores para disseminar produtos larvicidas (ABAD-FRANCH et al., 2015; ABAD-FRANCH et al., 2017). Um estudo conduzido por Garcia et al. (2020) observou uma redução de 60% na população de *Ae. aegypti* por meio da disseminação de piriproxifeno em estações disseminadoras (GARCIA et al., 2020).

Nesse sentido, a utilização da bactéria *Wolbachia* para infectar *Ae. aegypti* tem se mostrado uma técnica custo-efetiva no controle vetorial (ZIMMERMANN et al., 2024). Essa intervenção visa interromper ou dificultar

a transmissão do DENV. Resultados significativos foram observados por Utarini et al. (2021), que relataram uma redução de até 77% nos casos de dengue em áreas onde essa estratégia de controle biológico foi implementada (UTARINI et al., 2021).

Atualmente, não há tratamento específico disponível para essas arboviroses. O foco do tratamento é aliviar os sintomas e garantir uma hidratação adequada. Para reduzir a febre e aliviar a dor, recomenda-se medicamentos como dipirona, paracetamol ou ibuprofeno. Anti-histamínicos são indicados para tratar erupções cutâneas pruriginosas. No caso da chikungunya, a ribavirina pode ser considerada como um tratamento adicional. No entanto, é importante ressaltar que, no caso da dengue, o uso de ácido acetilsalicílico e medicamentos anti-inflamatórios não esteroides é fortemente desencorajado devido ao aumento do risco de síndrome hemorrágica (KALLAS et al., 2020).

Para o controle da dengue, existem duas vacinas disponíveis: a Dengvaxia® e a QDENGGA®. Ambas são comercialmente disponibilizadas em vários países, incluindo o Brasil. No entanto, o uso da Dengvaxia é limitado, sendo indicado apenas para pessoas que já tiveram uma infecção primária por DENV. Isso se deve ao risco aumentado de dengue grave em indivíduos vacinados que venham a contrair uma infecção subsequente, o que se assemelha a uma segunda infecção por DENV (CAPEDING et al., 2014; VILLAR et al., 2015). Portanto, é essencial conhecer a exposição prévia ao DENV na população, o que pode ser avaliado por inquéritos sorológicos, considerando que o DENV pode causar até quatro infecções distintas nos seres humanos (CDC, 2024).

Quanto à vacina QDENGGA, estudos mostraram que, após 12 meses, ela previne 80,2% dos casos de dengue sintomática. Esse percentual aumenta para 90,4% em casos de hospitalização após 18 meses, com apenas duas doses administradas. Além disso, não foram observados riscos significativos de complicações por dengue entre os voluntários vacinados,

mesmo entre aqueles que nunca haviam sido infectados anteriormente (RIVERA et al., 2022).

O Brasil, com sua capacidade de produzir vacinas de forma autônoma, tem um papel fundamental no enfrentamento das arboviroses. A vasta extensão territorial do país permite influenciar significativamente o cenário epidêmico dessas doenças nas Américas. Um exemplo é a vacina para dengue desenvolvida pelo Instituto Butantan. A Butantan-DV demonstrou uma eficácia geral de 79,6% após 2 anos de ensaios clínicos de fase III. A vacina foi eficaz tanto para indivíduos sem exposição prévia ao vírus, com eficácia de 73,6%, quanto para aqueles com histórico de exposição, alcançando 89,2% (KALLÁS et al., 2024). Parte dos ensaios clínicos da Butantan-DV foram realizados na Região Administrativa de São Sebastião, no Distrito Federal, uma área endêmica escolhida estrategicamente para os testes (WHO, 2017).

Atualmente, não existem vacinas licenciadas para prevenir a infecção por Zika ou chikungunya. No entanto, diversas vacinas candidatas contra o vírus Zika já concluíram ensaios de fase I ou II, mostrando segurança, boa tolerância e capacidade de induzir uma resposta imunológica em voluntários adultos saudáveis (WANG et al., 2022).

Em relação à chikungunya, resultados promissores foram observados nos ensaios clínicos de fase III realizados nos Estados Unidos com a vacina VLA1553. Desenvolvido em parceria entre a empresa farmacêutica francesa Valneva e o Instituto Butantan, o estudo envolveu 4.115 participantes e demonstrou que uma única dose da vacina gerou anticorpos neutralizantes em 98,5% dos voluntários após 28 dias (SCHNEIDER et al., 2023). Atualmente, um ensaio clínico de fase III está em andamento em nove cidades brasileiras para confirmar a eficácia do imunizante em áreas endêmicas, representando um avanço significativo para o controle da chikungunya.

Em resumo, a produção de vacinas é uma abordagem promissora para combater essas doenças, mas é uma solução a longo prazo devido à necessidade de pesquisas intensivas e testes rigorosos para garantir eficácia e segurança. Dado o caráter urgente das arboviroses urbanas, o controle do vetor se destaca como a estratégia mais eficaz e rápida para conter essas doenças. No entanto, essa estratégia depende muito da conscientização e participação ativa da população. Além disso, investimentos públicos são essenciais para garantir condições básicas, como acesso à água potável e saneamento adequado. Dada a falta de planejamento urbano e o crescimento desordenado das cidades, esses investimentos tornam-se ainda mais importantes. Portanto, o controle dessas doenças é complexo e envolve desafios biológicos, territoriais e sociais. Para uma mitigação sustentável, é crucial adotar abordagens multifacetadas que integrem controle vetorial, melhorias educacionais e estruturais.

### **1.7 Sistema de Vigilância**

No Brasil, dengue, Zika e chikungunya são doenças de notificação compulsória, o que significa que é obrigatório reportar casos desses agravos ao Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN). Este sistema desempenha um papel fundamental na vigilância epidemiológica, no planejamento em saúde, no monitoramento de programas de controle e na pesquisa em saúde. Sua principal função é coletar dados sobre a ocorrência e distribuição dessas doenças, permitindo a detecção oportuna de surtos e epidemias, além de contribuir para a formulação de estratégias eficazes de prevenção e controle (BRASIL, 2024d).

Profissionais de saúde que lidam diretamente com casos suspeitos ou confirmados das doenças de notificação compulsória são responsáveis pela realização da notificação. Para isso, devem preencher um formulário específico contendo informações relevantes sobre o paciente, como dados pessoais, sintomas, diagnóstico, tratamento e evolução da doença. A

notificação pode ser feita por meio de formulários em papel, preenchidos manualmente, ou por meio do sistema eletrônico do SINAN, onde os dados são inseridos diretamente. As notificações são enviadas regularmente às autoridades de saúde locais, estaduais e federais, que realizam a análise e o monitoramento dos casos (BRASIL, 2022b; GALVÃO et al., 2008).

Como um sistema de vigilância passivo, o SINAN pode apresentar algumas limitações. A subnotificação é uma das principais preocupações, já que nem todos os casos são registrados. Isso pode resultar na alocação inadequada de recursos para atividades de prevenção, diagnóstico e controle. Além disso, a qualidade dos dados pode ser comprometida por erros de preenchimento e falta de informações importantes (SILVA et al., 2016).

Outro desafio é o acesso restrito aos dados e a falta de integração com outros sistemas informatizados de saúde. Essas limitações afetam tanto a qualidade quanto a abrangência das informações coletadas, o que impacta diretamente a representatividade dos dados e a capacidade de capturar adequadamente casos em grupos populacionais vulneráveis. A ausência de dados oportunos e completos prejudica a capacidade de mensurar com precisão a carga das arboviroses. Assim, mostra que o SINAN, por si só, pode não fornecer uma estimativa real das arboviroses no Brasil (OLIVEIRA et al., 2020).

Nesse sentido, a avaliação contínua dos sistemas de vigilância é essencial para garantir indicadores confiáveis. A sensibilidade do sistema, que mede sua capacidade de detectar casos de doenças, é fundamental para atingir os objetivos propostos. No entanto, avaliar a sensibilidade pode ser desafiador devido à ausência de um padrão de referência para comparar o número real de casos (COELHO et al., 2016).

É indispensável que o sistema de vigilância das arboviroses seja capaz de abranger todos os casos notificados, tanto na rede pública quanto na rede particular de saúde. No entanto, análises filogenéticas e relógio molecular

revelaram que ZIKV circulou por um período superior a um ano e meio antes de ser identificado pela primeira vez no Brasil (FARIA et al., 2017). Além disso, ao comparar os casos notificados pelo SINAN com os confirmados por testes laboratoriais, constatou-se uma baixa sensibilidade. Isso indica que apenas uma proporção dos casos confirmados laboratorialmente foi devidamente reportada ao sistema de vigilância (SILVA et al., 2016).

Em síntese, o SINAN é uma ferramenta valiosa para a vigilância das arboviroses, mas é necessário adotar estratégias adicionais. Ampliar o acesso à saúde, informatizar os processos de notificação, melhorar a infraestrutura e investir em recursos humanos especializados em vigilância epidemiológica são passos essenciais. Com essas medidas, é possível fortalecer o monitoramento das arboviroses e aprimorar a capacidade de resposta às emergências de saúde pública.

### **1.8 Testes sorológicos e reações cruzadas**

Os testes sorológicos são essenciais no diagnóstico das arboviroses, fornecendo uma base sólida para decisões clínicas precisas e vigilância epidemiológica eficiente. Como a viremia nessas infecções geralmente é de curta duração, a detecção de anticorpos é primordial. Esses testes também permitem prever a severidade da doença e identificar indivíduos com maior risco de desenvolver manifestações graves em infecções subsequentes, como ocorre com a dengue (FISCHER et al., 2021).

Contudo, a co-circulação de diferentes arbovírus impõe desafios significativos na diferenciação sorológica em áreas endêmicas. Embora os testes sorológicos sejam valiosos para identificar casos não capturados pelo SINAN, seu desempenho pode ser influenciado por diversas características individuais. Entre elas, destacam-se infecções subsequentes pelo mesmo vírus ou por vírus relacionados antigenicamente, o que pode levar a resultados cruzados e dificultar o diagnóstico.

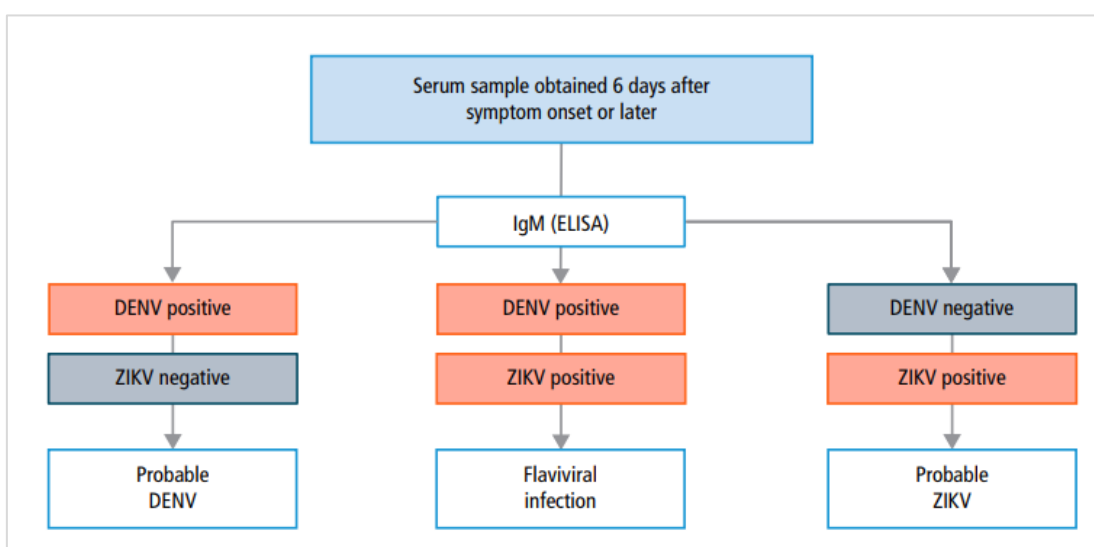
Foi observado que aproximadamente 9% dos anticorpos monoclonais anti-DENV têm a capacidade de neutralizar infecções por ZIKV (SWANSTROM et al., 2016). No entanto, a maioria desses anticorpos não é neutralizante; pelo contrário, eles podem promover a replicação viral por ZIKV, levando a uma condição conhecida como intensificação da infecção dependente de anticorpos (ADCC). A ADCC é um mecanismo paradoxal pelo qual os anticorpos facilitam a entrada e replicação do patógeno em células hospedeiras. Esse processo ocorre quando os anticorpos ligados ao patógeno interagem com os receptores Fcγ presentes nas células imunes, desencadeando uma resposta inflamatória que pode favorecer a infecção (DEJNIRATTISAI et al., 2016; STETTLER et al., 2016).

Dessa forma, a diferenciação de infecções por DENV ou ZIKV a partir de sorologia é desafiador em áreas com múltiplos flavivírus, devido à reatividade cruzada dos anticorpos causados por epítomos compartilhados na proteína E. No Brasil, esse problema é agravado, pois anticorpos contra essa classe de vírus podem levar a falsos positivos em testes sorológicos para DENV e ZIKV.

Para contornar esse problema, é recomendada a combinação das sorologias IgM e IgG com a detecção do antígeno NS1, que possui alta especificidade e não apresenta reatividade cruzada com outros flavivírus. No entanto, a sensibilidade dos testes de detecção do antígeno NS1 é reduzida em cerca de 30% em infecções secundárias por DENV, devido ao esgotamento do antígeno por anticorpos pré-existentes (ARYATI et al., 2013). Portanto, o manejo clínico de pacientes infectados por esses arbovírus continua enfrentando desafios significativos, especialmente pela falta de biomarcadores confiáveis para o diagnóstico e monitoramento da infecção (FISCHER et al., 2021).

A OPAS propôs um algoritmo de interpretação de resultados para pesquisa de anticorpos, com o objetivo de auxiliar no diagnóstico diferencial entre infecções por DENV e ZIKV. De acordo com o algoritmo, quando há

dupla positividade de anticorpos para DENV e ZIKV, a classificação deve ser "infecção por flavivirus", como mostrado na Figura 12. É importante notar que o algoritmo não aborda a sorologia para CHIKV, devido à sua reatividade cruzada significativamente menor dentro da família dos alphavirus em comparação com a sorologia para flavivirus (PAHO, 2018)



**Figura 12. Algoritmo para teste sorológico de casos suspeitos de dengue e Zika (PAHO, 2018)**

### 1.9 Fatores associados

A ocorrência de dengue, Zika e chikungunya está vinculada a uma variedade de fatores que afetam substancialmente sua ocorrência. Entre esses fatores, destaca-se a estreita relação com a presença e a proliferação do mosquito vetor, bem como outros aspectos ambientais e sociais. Condições climáticas, urbanização, comportamento humano, densidade populacional e nível socioeconômico são alguns dos elementos identificados

como influências significativas (CHIEN; SY; PÉREZ, 2019; FULLER et al., 2017; MWANYIKA et al., 2021).

A dengue está associada a fatores como idade avançada, baixo nível socioeconômico, menor escolaridade e a ausência de medidas de proteção domiciliar contra o vetor (BRAGA et al., 2010a; FARINELLI et al., 2018). Adicionalmente, a identificação de áreas de risco para dengue e a compreensão da disseminação dos sorotipos do DENV podem auxiliar na previsão da ocorrência de outras arboviroses, como Zika e chikungunya (FARINELLI et al., 2018). No entanto, observa-se que indivíduos afetados por chikungunya tendem a ser mais vulneráveis socialmente em comparação com aqueles afetados por dengue (BONIFAY et al., 2017).

Para a Zika, fatores como baixo Produto Interno Bruto (PIB) e alta densidade populacional têm sido significativamente associados à infecção (GARDNER et al., 2018). Além disso, variáveis meteorológicas demonstram uma relação significativa com a incidência de Zika em diferentes regiões geográficas (Chien et al., 2019). A falta de infraestrutura adequada para abastecimento de água foi inversamente associada à incidência de Zika (FULLER et al., 2017).

Ademais, indivíduos que residem em áreas com baixa condição socioeconômica frequentemente enfrentam condições inadequadas de saneamento básico, criando ambientes propícios para a proliferação dos mosquitos vetores. Isso resulta em maior exposição à essas doenças. Apesar dos conhecimentos existentes sobre a dinâmica de transmissão de dengue, Zika e chikungunya, ainda persistem incertezas sobre os fatores de risco individuais e contextuais que podem influenciar a probabilidade de adoecimento em diferentes localidades geográficas (ADAMS et al., 2022; BONIFAY et al., 2017; GARDNER et al., 2018).

O Distrito Federal é uma das 27 Unidades Federativas do Brasil, distinguindo-se como a menor em termos de área. É a única subdividida em Regiões Administrativas (RA), ao contrário das demais unidades federativas.

A notável disparidade socioeconômica presente no Distrito Federal resulta em variações significativas nos fatores de risco para arboviroses. A região exibe uma distribuição desigual de renda e desenvolvimento humano, onde áreas de alta concentração de riqueza e desenvolvimento convivem com favelas e regiões com acesso limitado a serviços essenciais. A proximidade entre zonas de alto poder aquisitivo e áreas de baixa renda intensifica a heterogeneidade na transmissão de arboviroses. Condições precárias de moradia e falta de infraestrutura em áreas desfavorecidas impulsionam a proliferação do mosquito vetor e a falta de acesso a medidas de prevenção e cuidados médicos agrava o cenário. Essa variabilidade socioeconômica, ambiental e geográfica é um fator crítico que molda a dinâmica das arboviroses na região central do país (CODEPLAN, 2022; VASCONCELOS, 2018).

## 2. JUSTIFICATIVA

As arboviroses urbanas são um grave problema de saúde pública em expansão contínua. Os esforços de controle frequentemente são insuficientes, indicando que a ocorrência dessas doenças pode estar subestimada. Nesse contexto, considerando as limitações do sistema de vigilância, a realização de um inquérito soroepidemiológico torna-se essencial. Esse tipo de estudo permite uma visão mais precisa dos fatores individuais e contextuais que influenciam a incidência dessas infecções.

Compreender essas variáveis é fundamental para desenvolver estratégias de prevenção, controle e manejo clínico mais eficazes, adaptadas às características da população. Além de beneficiar diretamente a saúde pública local, essa abordagem oferece subsídios importantes para a formulação de políticas de saúde mais direcionadas e efetivas no enfrentamento das arboviroses no Distrito Federal.

Embora inquéritos sorológicos já forneçam estimativas mais precisas da frequência de infecções por arbovírus, a maioria dos estudos se concentra nas regiões Nordeste e Sudeste do Brasil. Essa realidade deixa uma lacuna significativa de conhecimento na região Centro-Oeste. Um exemplo é São Sebastião, uma região administrativa urbana do Distrito Federal, que, nos últimos dez anos, registrou taxas de incidência de dengue superiores a 1.700 casos por 100.000 habitantes. Diante desse cenário, estudos soroepidemiológicos em regiões como São Sebastião podem revelar a verdadeira carga dessas infecções, contribuindo para o aprimoramento das políticas públicas de saúde.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Estimar a prevalência de anticorpos IgM e IgG (anti - dengue, Zika e chikungunya) e seus fatores associados na população de São Sebastião, Distrito Federal.

#### **3.2 Objetivos específicos**

1. Estimar a soroprevalência das infecções por DENV, ZIKV e CHIKV em São Sebastião, Distrito Federal entre fevereiro a março de 2020 e outubro a janeiro de 2021;
2. Estimar a frequência de anticorpos IgM e IgG (anti - dengue, Zika e chikungunya);
3. Estimar a proporção de infecções primárias e secundárias por DENV;
4. Descrever a população identificando os fatores associados à soropositividade;
5. Avaliar a concordância de autorrelato sobre ter tido ou não a infecção por DENV, ZIKV e CHIKV e se houve ou não confirmação sorológica;
6. Comparar a soroprevalência estimada das infecções por DENV, ZIKV e CHIKV com os casos capturados pela vigilância epidemiológica.

## 4. MÉTODOS

### 4.1 Tipo, área e população do estudo

Trata-se de um inquérito soropidemiológico de base populacional realizado no Distrito Federal, especificamente na Região Administrativa XIV (RA XIV) de São Sebastião, cuja localização central é marcada pelas coordenadas 15.9034° S de latitude e 47.7757° W de longitude. O estudo incluiu também um componente analítico exploratório para investigar os fatores associados à soropositividade para as arboviroses em questão. É importante mencionar que, durante o período de coleta de dados, alguns bairros atualmente pertencentes à RA Jardim Botânico ainda faziam parte da RA São Sebastião, uma vez que a reorganização administrativa foi implementada posteriormente pelas autoridades locais. (CODEPLAN, 2020), Figura 13.

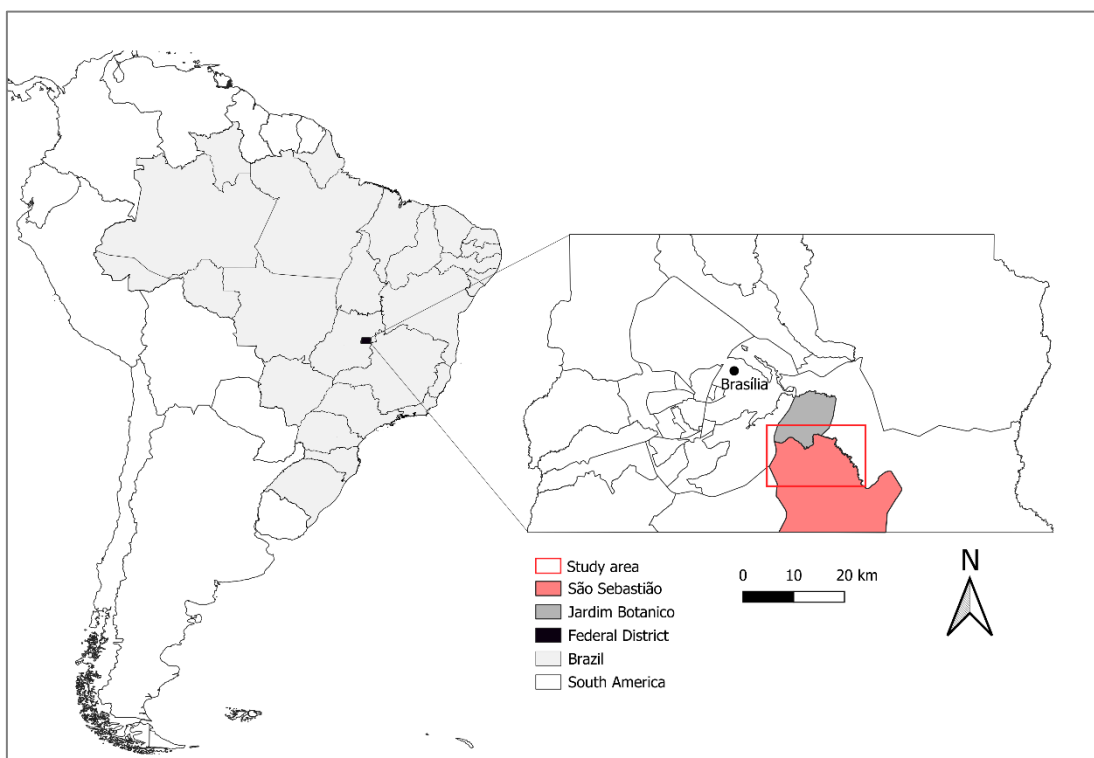


Figura 13. Mapa de localização da área de estudo.

O Distrito Federal, localizado no Planalto Central do Brasil, abriga Brasília, a capital do país. Com um relevo marcado por suaves ondulações e platôs, a área situa-se em altitudes que variam entre 900 e 1.200 metros. A região é cortada por afluentes do Rio Paranoá, desempenhando um papel importante no abastecimento hídrico local. Quanto ao clima, predomina o tropical, dividido em duas estações bem definidas. Durante o inverno, de maio a setembro, observa-se uma estação seca, caracterizada por baixas precipitações e temperaturas amenas. Já no verão, de outubro a abril, a estação chuvosa traz consigo chuvas mais intensas, principalmente nos meses de dezembro a fevereiro (IBGE, 2024; INMET, 2024).

São Sebastião, diferente das outras RA, surgiu de uma aglomeração espontânea da população, sem intervenção governamental. Alheia a qualquer rigor ligado a um planejamento urbano, resultou em uma estrutura urbana desprovida da qualificação tradicional de cidade planejada. A RA formou-se com a desapropriação das fazendas Taboquinha, Papuda e Cachoeirinha durante a construção de Brasília. Posteriormente, a Fundação Zoobotânica do Distrito Federal arrendou essas terras, impulsionando atividades comerciais como extração de areia, olarias e cerâmicas para atender às demandas da construção civil do Plano Piloto, capital do Distrito Federal (CODEPLAN, 2022b).

Com a conclusão das obras e a facilitação do acesso a materiais industrializados por meio de estradas, a necessidade de recursos locais diminuiu. Os contratos de arrendamento expiraram, resultando no desenvolvimento gradual de um núcleo urbano ao longo dos córregos Mato Grande e Ribeirão Santo Antônio da Papuda, devido ao parcelamento irregular do solo. São Sebastião abrange aproximadamente 276,34 km<sup>2</sup> de extensão, com densidade demográfica de cerca de 395 habitantes por km<sup>2</sup> e uma população estimada em 118.972 habitantes em 2021(CODEPLAN, 2022b).

## **4.2 Critérios de inclusão e exclusão**

Para inclusão no estudo, foram considerados os moradores dos domicílios selecionados, com idade superior a 5 anos no dia da abordagem para coleta de dados e amostras. Foram excluídos indivíduos com menos de 5 anos de idade.

## **4.3 Cálculo amostral**

Trata-se de uma amostra aleatória simples, em que a seleção foi feita a partir dos domicílios. A seleção foi conduzida a partir do Cadastro Nacional de Endereços para Fins Estatísticos (CNEFE) (IBGE, 2024b), que organiza todos os endereços urbanos e rurais brasileiros, distribuídos pelos setores censitários e classificados por tipo de unidade (residencial, ensino, saúde, etc.). O procedimento amostral utilizado foi o presente no pacote 'AmostraBrasil' (CORDEIRO; STEPHAN; DONALÍSIO, 2016), disponível no software estatístico R, que usa o CNEFE como base para planejar amostras aleatórias em inquéritos populacionais.

O tamanho da amostra foi calculado com base nos seguintes parâmetros: prevalência de 50%, pois a real magnitude das arboviroses na RA é desconhecida; limite de confiança de 2,5%; efeito de desenho amostral de 1 (variabilidade); e um  $\alpha \leq 0,05$ , resultando em uma amostra de 1.535 indivíduos, ou 1.689 indivíduos ao se considerar uma perda de 10%.

## **4.4 Coleta dos dados**

A coleta de dados foi realizada entre fevereiro e março de 2020, e entre outubro de 2020 e janeiro de 2021. Após a seleção, o acesso ao domicílio foi a partir guiado por meio de coordenadas geográficas. Um morador na faixa etária elegível foi convidado a se voluntariar para participar do estudo. Caso houvesse mais de um interessado, era realizado um sorteio para definir o participante. O morador selecionado concordou e assinou o Termo de

Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE – APÊNDICE 1) e/ou o Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE – APÊNDICE 2), para menores de 18 anos. Os dados sobre histórico de dengue no domicílio, percepção sobre dengue e medidas preventivas, características domiciliares e peridomiciliares, características individuais, viagens, locais frequentados, saúde e acesso a cuidados de saúde e contato com arboviroses foram coletados por meio de um questionário estruturado e validado (APÊNDICE 3).

Foram coletadas amostras de sangue venoso, aproximadamente 8 mL, em tubos com gel separador e ativador de coágulo SST™ BD Vacutainer®. Estas amostras foram mantidas à temperatura de 2 a 8°C até o transporte para o local de processamento. Posteriormente, foram centrifugadas por 10 minutos a 2000 rpm para separar o soro, que foi aliquoteado em três criotubos e armazenado a -80°C até a execução dos testes sorológicos.

Os indivíduos incluídos no estudo receberam um código único e a entrada dos dados dos participantes foi realizada utilizando a plataforma web REDCap (HARRIS et al., 2009).

#### **4.5 Testes sorológicos**

Os testes sorológicos foram realizados no Laboratório de Diagnóstico Molecular do HUB (Hospital Universitário de Brasília). A caracterização das infecções por DENV, ZIKV e CHIKV envolveu a detecção de anticorpos IgM e IgG por meio da técnica ELISA, utilizando kits comerciais validados e certificados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Todos os kits foram doados pelo Ministério da Saúde, com exceção do kit ZIKV IgG Euroimmun® (Lubeck, Alemanha). A execução e interpretação dos ensaios sorológicos seguiram rigorosamente as instruções dos fabricantes.

Os testes para anticorpos anti-dengue IgM e IgG foram realizados com o kit do fabricante Euroimmun. A interpretação de ambos os testes seguiu as

instruções do fabricante, onde a absorbância de DENV IgM ou IgG em relação ao calibrador foi considerada negativa quando  $<0,8$ , inconclusiva quando  $\geq 0,8$  a  $<1,1$  e positiva quando  $\geq 1,1$ .

Para ZIKV, foram realizados testes anti-Zika IgM com o kit da Vircell Microbiologists® (Granada, Espanha) e anti-Zika IgG com o kit Euroimmun. Os resultados do teste da Vircell foram interpretados conforme as instruções do fabricante, considerando a absorbância do ZIKV IgM ou IgG negativa quando  $<9$ , indeterminada quando  $\geq 9$  a  $<11$ , e positiva quando  $\geq 11$ . Os resultados do ZIKV IgG Euroimmun® foram considerados negativos quando  $<0,8$ , inconclusivos quando  $\geq 0,8$  a  $<1,1$  e positivos quando  $\geq 1,1$ .

A detecção do CHIKV foi realizada utilizando kits IgM anti-chikungunya Vircell Microbiologists® (Granada, Espanha) e DIA.PRO® (Milão, Itália), e kits IgG anti-chikungunya Euroimmun e Mobius Life Science® (Pinhais, Brasil). A interpretação da absorbância de CHIKV IgM Vircell seguiu os critérios de negativo quando  $<9$ , indeterminado quando  $\geq 9$  a  $<11$  e positivo quando  $\geq 11$ . A absorbância do CHIKV IgM DIA.PRO® foi considerada negativa quando  $<0,9$ , inconclusiva quando  $\geq 0,9$  a  $<1,1$  e positiva quando  $\geq 1,1$ .

As absorbâncias das amostras foram mensuradas em leitora de ELISA Kasuaki® em um comprimento de onda de 450 nm (nanômetro) e valor de referência entre 620nm a 650 nm. As razões de absorbância foram utilizadas para calcular o índice de anticorpos como uma variável contínua.

#### **4.6 Definição de caso**

Os indivíduos com resultados positivos para IgM e/ou IgG foram classificados como casos de infecção por arbovírus. Infecções recentes foram definidas pela presença de IgM positivo, enquanto infecções prévias foram caracterizadas por IgG positivo. Aqueles com positividade simultânea para IgM e/ou IgG de DENV e ZIKV foram classificados como casos de infecção por flavivírus (FLAV). Para ser classificado como FLAV, era necessário ter

pelo menos uma classe de anticorpos (IgM ou IgG) positiva para ambos os vírus ao mesmo tempo. Os participantes que não apresentaram positividade (negativo ou inconclusivo) para qualquer uma das classes de anticorpos em todos os três arbovírus foram classificados como 'No arbovírus'.

#### **4.7 Análise dos dados**

Para a análise descritiva das variáveis, foram estimadas medidas de frequência, tendência central e dispersão para as variáveis quantitativas contínuas, além de proporções para as variáveis categóricas. A normalidade das distribuições das variáveis contínuas foi avaliada utilizando o teste de Shapiro-Wilk.

Associações entre variáveis categóricas foram realizadas utilizando o teste qui-quadrado de Pearson. Para comparação de médias entre grupos, utilizou-se o teste de Mann-Whitney, enquanto o teste de Kruskal-Wallis e o teste post-hoc de Dunn (com ajuste de valores de p pelo método de Benjamini-Hochberg) foram aplicados para comparações múltiplas. A correlação entre variáveis contínuas foi realizada pelo teste de correlação de Spearman.

O nível de significância adotado para todas as análises foi  $p < 0,05$ . As prevalências foram calculadas e reportadas junto com seus intervalos de confiança (IC) de 95%, calculados utilizando o pacote online "The Prevalence" (disponível em <http://prevalence.cbpa.be/shiny/truePrev/>). Todas as análises foram conduzidas no software R, versão 4.3.3.

##### **4.7.1 Fatores associados**

Para a avaliação dos fatores associados, o algoritmo Random Forest (RF) foi aplicado como um método de *machine learning* baseado em árvores binárias para prever o número de perguntas associadas à soropositividade dos testes utilizados. O RF foi usado como uma ferramenta de classificação

de variáveis. As variáveis preditoras foram avaliadas pelo quanto elas estão relacionadas com soropositividade das arboviroses como uma variável dicotômica. A impureza do nó foi definida como o erro quadrático médio (RMSE) do nó na regressão RF. O programa estatístico R foi utilizado em conjunto com o pacote 'randomForest' com a seguinte configuração: número de variáveis amostradas aleatoriamente como candidatas em cada divisão (*mtry*)=625, número de árvores (*ntree*)=400.

Para avaliação do desempenho do modelo, os dados foram divididos em conjuntos de treinamento e teste. A divisão dos dados foi controlada por uma semente de aleatoriedade definida em 1.235. A semente de aleatoriedade é um valor fixo que garante que o processo de divisão dos dados seja reprodutível. Ou seja, utilizando a mesma semente, os dados serão divididos da mesma forma sempre que o processo for repetido, permitindo uma comparação consistente dos resultados. Metade das observações foi atribuída ao conjunto de treinamento e a outra metade ao conjunto de teste. Em seguida, o modelo de árvore de classificação foi treinado usando o conjunto de treinamento. Foi utilizado um tamanho mínimo de nó (*minsize*) de 10. A estrutura da árvore de classificação criada foi visualizada para compreender melhor como as decisões de classificação são tomadas. Foram feitas previsões usando o conjunto de teste e o desempenho do modelo foi avaliado comparando as previsões com os valores reais. Uma linha de regressão linear simples foi desenhada no gráfico para comparar a precisão das previsões do modelo.

#### **4.7.2 Análise comparativa entre soroprevalência estimada e casos notificados de arbovírus**

Para comparar a soroprevalência estimada das infecções por DENV, ZIKV e CHIKV com os casos capturados pela vigilância epidemiológica, a prevalência de exposição prévia (IgG) foi multiplicada pela população de São Sebastião em 2021, conforme descrito por (BARRETO et al., 2020). Esse valor foi então dividido pelo número de casos prováveis notificados pelo

sistema de vigilância local, disponível no site da Secretaria de Saúde, que utiliza como fonte primária os dados do SINAN (SES/DF, 2024). As estimativas consideraram os seguintes períodos: de 2006 a 2021 para dengue, de 2015 a 2021 para Zika e de 2014 a 2021 para chikungunya, conforme a disponibilidade dos dados públicos.

#### **4.8 Aspectos éticos**

Antes de ser iniciada, esta pesquisa foi submetida e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) com seres humanos da Universidade de Brasília por meio da Plataforma Brasil (CAAE: 07443418.4.0000.5558), conforme Anexo 1. As participações dos sujeitos foram voluntárias e tiveram como critério a assinatura do TCLE e/ou TALE. O estudo respeitou todos os preceitos descritos na resolução 466/12, considerando o respeito pela dignidade humana e pela especial proteção devida aos participantes das pesquisas científicas envolvendo seres humanos. Além disso, cumpriu rigorosamente as normas estabelecidas pela Lei nº 14.874 de 28 de maio de 2024.

## 5. RESULTADOS

A presente Tese de Doutorado será submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor. Este trabalho está organizado em três capítulos:

- 1) O primeiro capítulo aborda a Introdução, Justificativa, Objetivos e Métodos da pesquisa.
- 2) O segundo capítulo consiste no artigo intitulado "**Urban arbovirus underreporting in a hyperendemic area of Brazil: a population-based survey and implications for public health surveillance**", submetido para publicação na revista BMC Infectious Diseases;
- 3) O terceiro capítulo consiste no artigo intitulado "**Machine learning applications in the epidemiology of urban arboviruses: a Random Forest approach in central Brazil**" a ser submetido para publicação na revista PLOS Neglected Diseases.

Além disso, está incluso outro artigo produzido durante o doutorado que está relacionado ao tema abordado na Tese (Anexo 3).

## 5.1 Artigo 1

**TITLE:** Urban arbovirus underreporting in a hyperendemic area of Brazil: a population-based survey and implications for public health surveillance

**Authors:**

Tayane Nobre<sup>1,2</sup>, Andre Luiz Dutra Fenner<sup>2</sup>, Emerson Luiz Lima Araújo<sup>3</sup>, Wildo Navegantes de Araújo<sup>4,5</sup>, Emmanuel Roux<sup>2,7</sup>, Pascal Handschumacher<sup>2,8</sup>, Helen Gurgel<sup>2,6</sup>, Brunno Dallago<sup>1</sup>, Mariana Hecht<sup>1</sup>, Luciana Hagström<sup>1</sup>, Walter Massa Ramalho<sup>2,4</sup>, Nadjar Nitz<sup>1\*</sup>.

**Affiliations:**

1. Interdisciplinary Laboratory of Biosciences, Faculty of Medicine, University of Brasília, Brasília, Federal District, Brazil
2. International Joint Laboratory Sentinela (University of Brasília, UnB - Oswaldo Cruz Foundation, Fiocruz - French national research institute for sustainable development, IRD), Brasília, DF, Brazil; Montpellier, France; Rio de Janeiro, RJ, Brazil
3. Secretariat of Surveillance in Health, Ministry of Health, Federal District, Brazil
4. Center of Tropical Medicine, University of Brasília, Federal District, Brazil
5. Institute of Health Technology Assessment of the National Council for Scientific and Technological Development (IATS/CNPq), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil
6. Department of Geography, University of Brasília, Federal District, Brazil
7. ESPACE-DEV (IRD - Univ Montpellier - Univ Guyane - Univ Reunion - Univ Antilles - Univ Avignon - Univ Perpignan Via Domitia), Montpellier, France
8. UMR SESSTIM (IRD - INSERM - Univ Aix-Marseille)

\*Correspondence: [nadjarnitz@gmail.com](mailto:nadjarnitz@gmail.com)

## ABSTRACT

**Background:** Urban arboviruses pose a significant global burden, particularly in tropical regions like Brazil. São Sebastião, a lower-middle-class urban area just 26 km from the Brazilian capital, is a hyperendemic area for dengue cases. However, asymptomatic cases may obscure the actual extent of the disease. In this study, we measured the seroprevalence of dengue, Zika virus, and chikungunya, and compared these findings with surveillance data. **Methods:** A cross-sectional study was conducted involving 1,535 households. ELISA serological tests were performed to detect IgM and IgG antibodies against dengue, Zika virus, and chikungunya. History of previous exposure to arbovirus, data on age, gender, and education level were collected through a questionnaire. Participants testing positive for IgM and/or IgG were classified as positive. Statistical analyses included tests for normality, associations, mean comparisons, and correlations. Positive serological results were compared with cases captured by local epidemiological surveillance. **Results:** The study included 1,405 individuals, divided into two groups related to pre-pandemic and pandemic COVID-19 phases. Among participants, 0,7% to 28,8% self-reported history of dengue, Zika, or chikungunya. However, the estimated overall seroprevalence was 64.3% (95% CI: 61.8-66.7) for dengue virus, 51.4% (95% CI: 48.8-53.9) for Zika virus, and 5.4% (95% CI: 4.4-6.7) for chikungunya virus. Multiple arboviruses were noted at 4.0% (95% CI: 3.1-5.1). Advancing age and lower education were associated with higher exposure to arboviruses ( $p < 0.05$ ). The number of urban arboviral cases was 84 times higher than reported. **Conclusions:** The underreporting of arbovirus cases in the evaluated area reveals a substantial deficiency in epidemiological surveillance. Addressing these gaps is crucial for effective resource allocation and implementation of public health interventions.

**Keywords:** vector-borne viruses, seroepidemiologic studies, urban arboviruses, and epidemiological surveillance.

## **BACKGROUND**

Recurrent epidemics of vector-borne viruses result from multifaceted interactions among the virus, the vector, the population, and environmental factors [1–3]. Dengue virus (DENV), Zika virus (ZIKV) and chikungunya virus (CHIKV) impose a significant global burden, particularly in tropical regions like Brazil, where urban areas expanding into woods and forests amplify mosquito-borne diseases linked to the *Aedes* genus [4–6].

The longstanding circulation of DENV in Brazil has led to cyclical changes in serotypes, increased incidence, and case-fatality rate [7, 8]. Furthermore, novel viruses like CHIKV emerged in 2014 [9] and ZIKV in 2015 [10] due to the intense dispersion of the vector. DENV infection poses a risk of fatality, while ZIKV infection in pregnant women was associated with over 4,000 cases of neonatal microcephaly [11]. Additionally, CHIKV causes a debilitating illness with lasting effects [12, 13].

Effective management of these diseases requires accurate data and an integrated approach including prevention measures, vector control, and an efficient epidemiological surveillance system for better resource allocation [14, 15]. However, passive monitoring based on symptomatic cases likely underestimates the true burden [16, 17]. Molecular tests can miss asymptomatic cases, and serological assays often face cross-reactivity between DENV and ZIKV [18–20]. The gold standard Plaque Reduction Neutralization Test (PRNT) is impractical for widespread use due to its technical complexity [21–23].

Serological surveys provide a more accurate tool for estimating disease burden. However, studies has primarily focused on Northeast and Southeast Brazil [27–31], with limited assessments in the Central-West region, creating a research gap.

São Sebastião, located in the Central-West of Brazil, is an urban administrative region of the Federal District characterized by a lower-middle-class population estimated at 118,972 inhabitants in 2021 [24]. The region has incidence rates exceeding 1,700 cases per 100,000 inhabitants over the past decade [25, 26]. Consequently, it has become a strategic point for studies on the prevalence of these arboviruses.

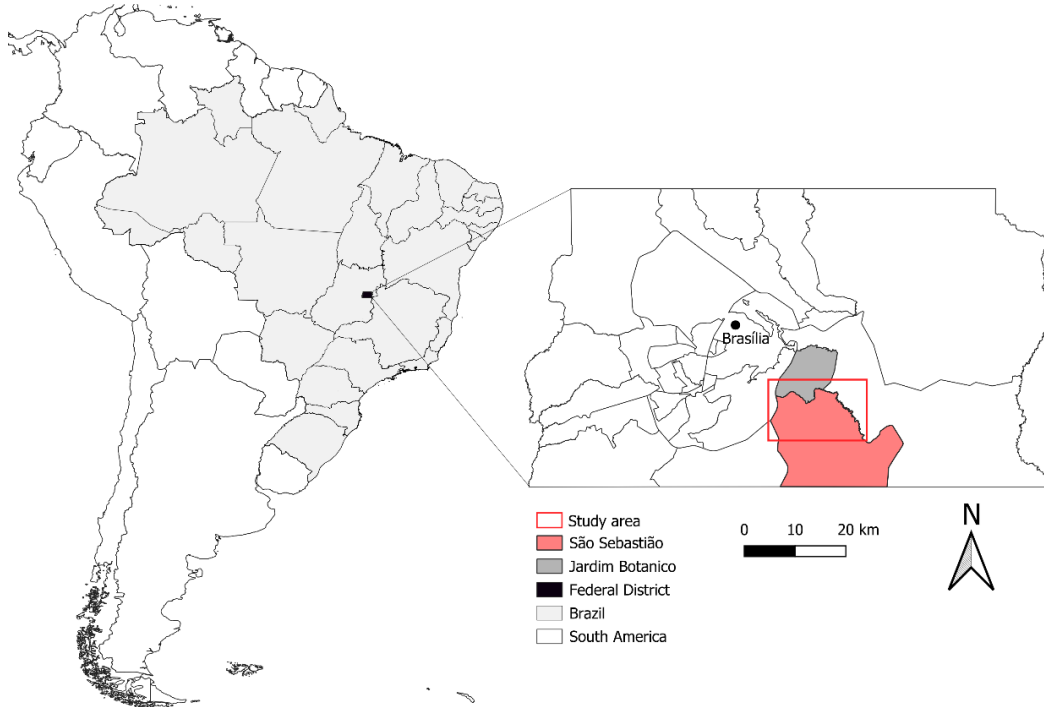
Recognizing the asymptomatic nature of arboviral infections and their symptom overlap with other diseases, current estimates likely underreport the true incidence. Here, we estimated the seroprevalence of DENV, ZIKV and CHIKV in São Sebastião and compared it with surveillance data. Furthermore, we highlighted the diagnostic challenges for these arboviruses in endemic areas.

## **METHODS**

### **Study design and setting**

The cross-sectional study was conducted in São Sebastião. During the study period, some neighborhoods now part of the Administrative Region Jardim Botânico were still part of São Sebastião, as the reorganization by local authorities occurred afterward [27] (**Figure 1**). A total of 1,535 households were randomly selected from the National Register of Addresses for Statistical Purposes [28] using the ‘AmostraBrasil’ package [29] in R software.

**Figure 1.** Location of the São Sebastião Administrative Region, Federal District, Brazil.



All selected households were visited, and residents aged 5 years or older were invited to participate in the study. Upon agreement and signing of the Informed Consent Form, demographic information including date of birth, gender, education level, history of previous arbovirus exposure, was collected using a standardized electronic questionnaire (**Supplementary material**).

Venous blood samples (8 mL) were collected in SST™ BD Vacutainer® tubes with a gel separator and clot activator. Samples were refrigerated (2 to 8°C) during transport to the Center of Tropical Medicine at the University of Brasília, centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes, and stored at -80°C for serological testing conducted at the Molecular Diagnostic Laboratory of the University Hospital of the University of Brasília (HUB/UnB).

Each participant was assigned a unique code, and data entry was performed using the REDCap web platform [30]. Due to the unexpected suspension of field activities caused by the COVID-19 pandemic, data collection was split into two phases: from February 2020 to March 2020 (phase 1) and from October 2020 to January 2021 (phase 2).

### **Serological detection of arbovirus infections**

DENV, ZIKV, and CHIKV infections were identified through the detection of IgM and IgG antibodies using commercial ELISA kits validated by the Brazilian Health Regulatory Agency (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, ANVISA). Euroimmun<sup>®</sup> kits (Lubeck, Germany) were utilized for anti-dengue IgM and IgG detection. Interpretation followed the manufacturer's instructions, with absorbance ratios at 450 nm/calibrator indicating negative ( $<0.8$ ), borderline ( $\geq 0.8$  to  $<1.1$ ), or positive ( $\geq 1.1$ ) results.

For ZIKV, anti-Zika IgM and anti-Zika IgG tests were performed using kits from Vircell Microbiologists<sup>®</sup> (Granada, Spain) and Euroimmun (Lubeck, Germany), respectively. Vircell Microbiologists test results were interpreted based on the manufacturer's instructions, with ZIKV IgM or IgG absorbance ratios at 450 nm/calibrator indicating negative ( $<9$ ), undetermined ( $\geq 9$  to  $<11$ ), or positive ( $\geq 11$ ) results. Euroimmun ZIKV IgG results were interpreted similarly, with absorbance ratios indicating negative ( $<0.8$ ), borderline ( $\geq 0.8$  to  $<1.1$ ), or positive ( $\geq 1.1$ ) outcomes.

CHIKV detection involved anti-chikungunya IgM kits from Vircell Microbiologists and Dia.Pro<sup>®</sup> (Milan, Italy), as well as anti-chikungunya IgG kits from Euroimmun and Mobius Life Science<sup>®</sup> (Pinhais, Brazil). For Vircell Microbiologists IgM kits,

absorbance ratios at 450 nm/calibrator were interpreted as negative ( $<9$ ), undetermined ( $\geq 9$  to  $<11$ ), or positive ( $\geq 11$ ). For the other kits, including IgG assays, interpretation was based on absorbance ratios: negative ( $<0.9$ ), borderline ( $\geq 0.9$  to  $<1.1$ ), or positive ( $\geq 1.1$ ). Additionally, absorbance ratios were utilized to calculate the antibody index as a continuous variable.

### **Case definition**

Individuals were considered seropositive for arboviruses if one or more classes of immunoglobulins (IgM and/or IgG) were detected. Considering the potential for cross-reactivity, positivity for DENV and ZIKV was categorized as flavivirus (FLAV) infection, while positivity for antibodies against flaviviruses and chikungunya was designated as FLAV+CHIKV. Participants who were not positive (negative or borderline) for all classes of antibodies to the three arboviruses were classified as "No Arbovirus".

### **Statistical analysis**

Descriptive analysis was conducted of the included variables, estimating the measurements of frequency, central tendency, and dispersion for the quantitative variables and proportions for the qualitative variables. Normality tests were assessed using the Shapiro-Wilk test. Pearson's Chi-squared determined association between categorical variables. The Mann-Whitney test compared means, while the Kruskal-Wallis test and post-hoc Dunn test (adjusted p-values by Benjamini-Hochberg) were used for multiple comparisons. Spearman correlation tested relationships between continuous variables. The significance level was defined as  $p < 0.05$ . The apparent prevalences were analyzed always accompanied by their confidence intervals (CI)

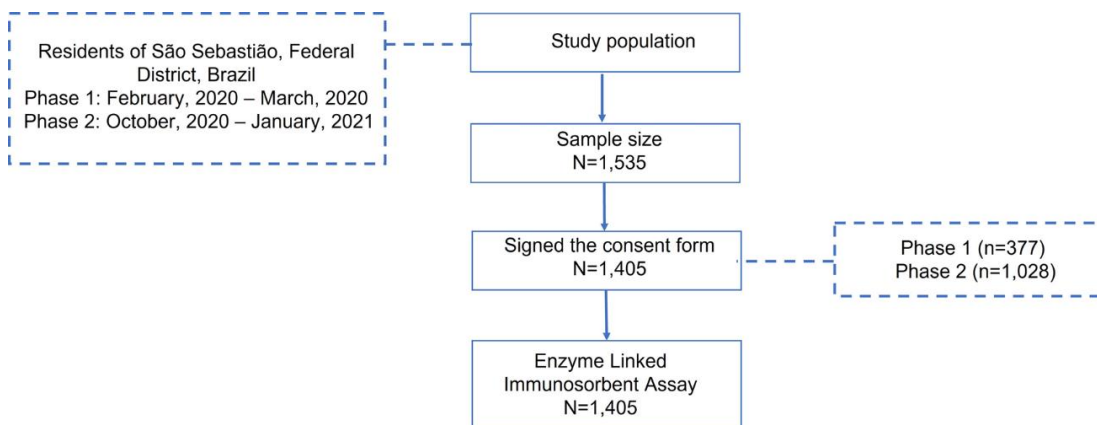
with a confidence level of 95% with the prevalence on-line package [31]. All statistical analyses were performed using R software, version 4.3.3.

To estimate the underreporting of arbovirus cases, the prevalence of previous exposure (IgG) was multiplied by the population of São Sebastião in 2021. This result was then divided by the number of probable cases reported by the local surveillance system available on the health department's website, which uses as a primary data source the Notification System (SINAN) [26]. The period considered for the estimates was from 2006 to 2021 for dengue, 2015 to 2021 for Zika, and 2014 to 2021 for chikungunya.

## RESULTS

The study included 1,405 individuals who provided their consent, which accounts for 91.5% of the originally calculated sample size. **Figure 2** refers to the data collection process.

**Figure 2.** Data collection flowchart



Noteworthy, over 70% of household visits occurred during the pandemic. Women were more participative; however, there was no significant impact on gender distribution between study phases ( $p = 0.51$ ). The overall mean age was 42 years (SD  $\pm 14.9$ ), with nearly 47% of participants aged 18 to 40 years. Age group distribution also showed no significant difference between phases ( $p = 0.51$ ). In terms of education, approximately 40% of respondents had completed high school, with significant differences ( $p < 0.01$ ; **Table 1**).

**Table 1:** Demographic characteristics and positive results by collection phase. São Sebastião, Distrito Federal, Brazil, 2020-2021.

	<b>Phase 1 (count, %)</b>	<b>Phase 2 (count, %)</b>	<b>Total (count, %)</b>	<b>p-value</b>
<b>Overall</b>	377 (26.8)	1,028 (73.2)	1,405 (100.0)	
<b>Gender <sup>a</sup></b>				ns
Female	235 (62.5)	663 (64.6)	898 (64.1)	
Male	141 (37.5)	363 (35.4)	504 (35.9)	
<b>Age group <sup>b</sup></b>				ns
7 - 17	9 (2.7)	16 (1.6)	25 (1.9)	
18 - 40	156 (46.3)	464 (46.9)	620 (46.7)	
41 - 60	119 (35.3)	401 (40.5)	520 (39.2)	
61 - 87	53 (15.7)	109 (11.0)	162 (12.2)	
<b>Education level <sup>c</sup></b>				<0.01
Illiterate	11 (2.9)	24 (2.3)	35 (2.5)	
Elementary School	128 (34.0)	318 (31.1)	446 (31.85)	
High School	165 (43.8)	386 (37.7)	551 (39.35)	
University	73 (19.4)	295 (28.8)	368 (26.28)	
<b>Positive results</b>				
DENV IgM	27 (7.2)	91 (8.8)	118 (8.4)	ns
DENV IgG	250 (66.3)	641 (63.7)	891 (63.4)	ns
ZIKV IgM	30 (7.9)	180 (17.5)	210 (14.9)	<0.001
ZIKV IgG (Vircell)	172 (45.6)	436 (42.4)	608 (43.3)	0.02
ZIKV IgG (Euroimmun)	15 (17.1)	45 (14.3)	60 (14.8)	ns
CHIKV IgM	6 (1.6)	33 (3.2)	39 (2.7)	0.04
CHIKV IgG	14 (3.7)	29 (2.8)	43 (3.1)	ns

<sup>a</sup>n=1.402 individuals evaluated; <sup>b</sup>n=1.327 individuals evaluated; <sup>c</sup>n=1.400 individuals

evaluated, ns= no significance. Pearson's chi-squared test.

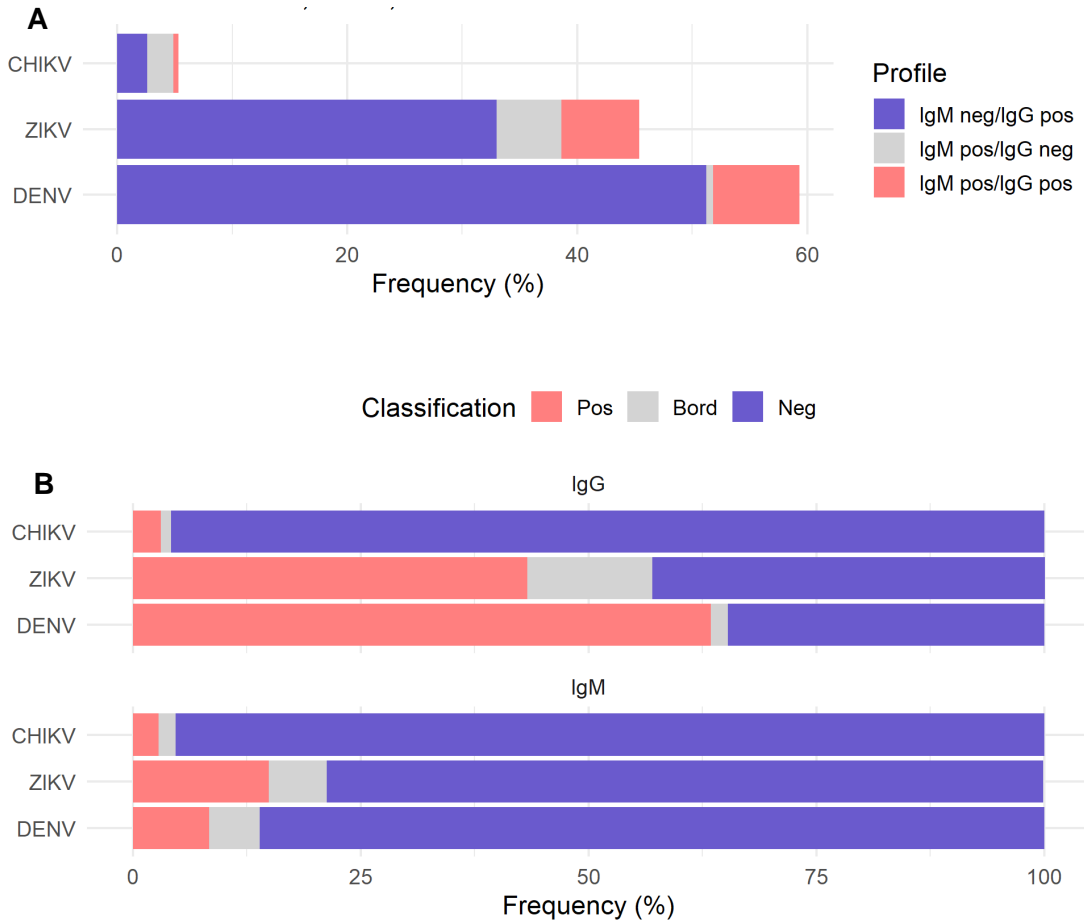
Disparities were observed in serological results between phases for ZIKV IgM, ZIKV IgG, and CHIKV IgM. There was a significant rise in seropositive cases for ZIKV IgM and CHIKV IgM in phase 2 (**Table 1**). Additionally, the proportion of inconclusive cases for ZIKV IgG (Vircell Microbiologists) increased from 9.5% to 15.2%. Although the same manufacturer was used for anti-ZIKV antibodies in both phases, there was a change in manufacturer for CHIKV IgM assays (**Additional file 1, 2**).

### **Profile and classification of antibody classes**

We conducted an antibody profile analysis to identify the infection stage among positive cases and estimate the proportion of secondary DENV infection. As shown in **Figure 3A**, the predominant profile observed was (IgM-IgG+), representing 51.2% (95% CI: 48.6-53.8) for DENV, 33.0% (95% CI: 30.7-35.5) for ZIKV, and 3.6% (95% CI: 1.9-3.6) for CHIKV.

The second most prevalent profile was (IgM+IgG+), suggesting 7.5% (95% CI: 6.3-9.0) secondary DENV infection and/or a transition to the convalescent phase, comprising 6.8% (95% CI: 5.7-8.3) for ZIKV and 0.4% (95% CI: 0.2-1.0) for CHIKV. Of note, a notable number of individuals showed borderline results, particularly for ZIKV IgM (13.7%, 192/1,405), ZIKV IgG (6.4%, 90/1,405), DENV IgM (5.5%, 77/1,405), **Figure 3B**. However, the borderline results did not impact seroprevalence, except for ZIKV IgG (**Additional file 3**).

**Figure 3.** Profile analysis and classification of antibody classes (A) Profile of DENV, ZIKV, and CHIKV (B) Classification of DENV, ZIKV, and CHIKV by IgM and IgG.



### Seroprevalence and co-occurrence of arboviruses

The overall seroprevalence was 64.3% (95% CI: 61.8-66.7) for DENV, 51.4% (95% CI: 48.8-53.9) for ZIKV, and 5.4% (95% CI: 4.4-6.7) for CHIKV, as detailed in **Table 2**. However, participants self-reporting a history of dengue, Zika, or chikungunya constituted only 28.8%, 0.7%, and 1.1%, respectively. Additionally, among those who reported no history of arbovirus infection, 52.8% tested positive for DENV, 50.4% for ZIKV, and 5.4% for CHIKV.

(Table 2 must be inserted here)

Within the samples, FLAV was detected in 645 out of 1,405 cases. Among DENV positives 71.5% (763/903) also tested positive for ZIKV, while 89.3% (645/722) of ZIKV positive cases were also positive for DENV. Furthermore, 4.0% (95% CI: 3.1-5.1) of individuals tested positive for all evaluated urban arboviruses, while only 29.8% (95% CI: 27.4-32.3) did not test positive for any of them.

Finally, we used the mean antibody index to compare the descriptive groups of participants. Significant differences were observed between men and women for ZIKV and CHIKV ( $p < 0.05$ ) and No Arbovirus ( $p < 0.01$ ). Additionally, differences were noted between the age groups of 41 to 60 and 61 to 87 years ( $p=0.01$ ), and 18 to 40 and 61 to 87 years ( $p<0.05$ ), as well as between the educational level of elementary school and university ( $p=0.01$ ), and high school and university ( $p=0.01$ ) for DENV.

### **Cross-reactivity investigation**

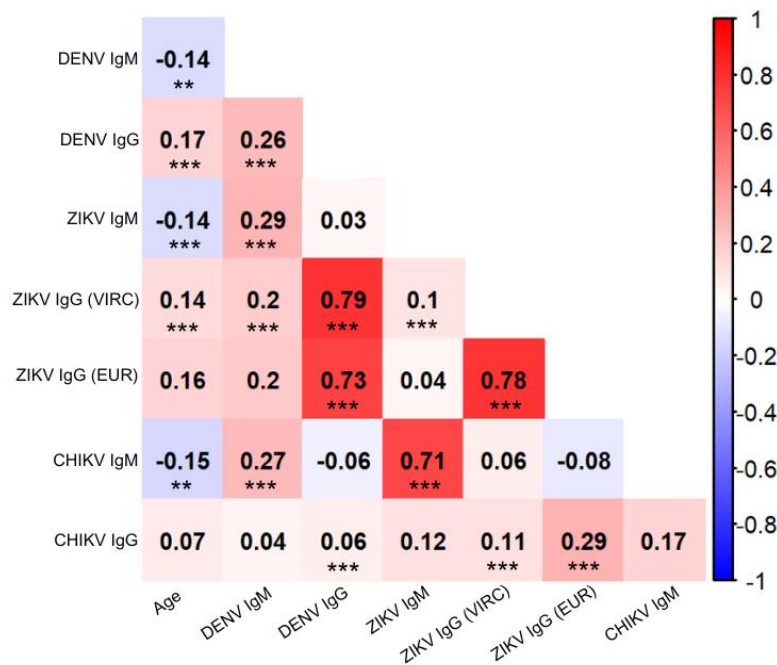
The prevalence of previous exposure to ZIKV was estimated at 43.3% (608/1,405), exceeding traditional surveillance indications. A subset of 28.7% (403/1,405) of these samples was randomly selected for comparison using another widely used commercial kit, the anti-ZIKV Euroimmun. Results in **Table 3** reveal that the Euroimmun kit estimated a prevalence of 14.9% (95% CI 11.8-18.7), contrasting with 47.4% (95% CI 42.5-52.4) from the initially used Vircell® kit. Among the 330 samples negative in the Euroimmun kit, 35.8% (118/330) tested positive with the Vircell Microbiologists kit, while all positive samples in the Euroimmun kit were also positive in the Vircell kit.

**Table 3.** ZIKV IgG results for manufacturers Vircell Microbiologists and Euroimmun

		ZIKV IgG Vircell (n)			
		Positive	Negative	Borderline	Total (%)
ZIKV IgG Euroimmun (n)	Positive	60	0	0	14.9
	Negative	118	156	56	81.9
	Borderline	13	0	0	3.2
	Total (%)	47.4	38.7	13.9	100

Given that the majority of the population assessed had previous exposure to DENV and 45.9% (645/1,405) were doubly positive for DENV and ZIKV, we investigated the relationship between antibody classes. Despite differing prevalence estimates from the two manufacturers, **Figure 4** illustrates a solid and significant positive association between DENV IgG and ZIKV IgG using Euroimmun ( $p < 0.001$ ), as well as with Vircell Microbiologists ( $p < 0.001$ ), indicating high correspondence between positive results.

**Figure 4.** Linear correlation matrix between age and antibody index according to immunoglobulin classes.

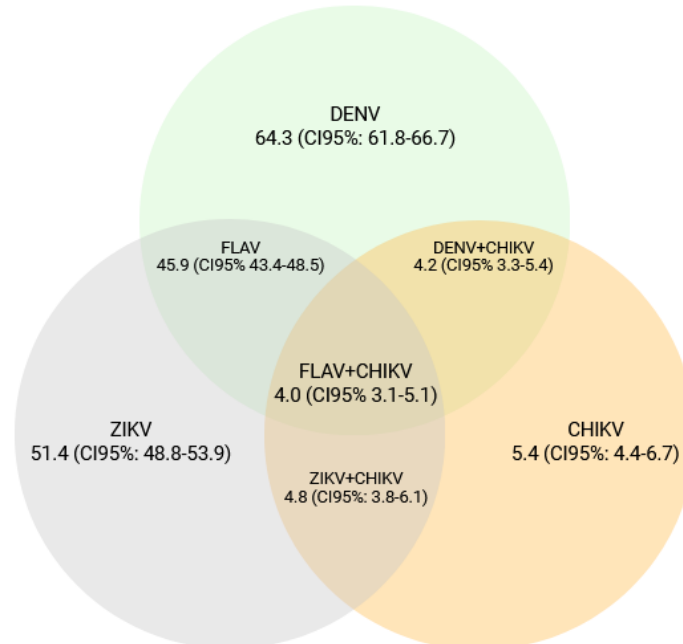


(\* $p < 0.05$ ), (\*\* $p < 0.01$ ), (\*\*\*) $p < 0.001$ ).

A strong and significant association ( $p < 0.001$ ) between ZIKV and CHIKV IgM antibodies was found exclusively in phase 2, where 94.3% (33/1,405) of the 35 doubly positive samples were concentrated. Additionally, significant correlations were found due to overlapping negative results. For instance, 22.9% (322/1,405) of CHIKV IgG and ZIKV IgG Euroimmun samples were doubly negative. Categorical analysis revealed no association between CHIKV IgG and ZIKV IgG Euroimmun ( $\chi^2$ ,  $p = 0.052$ ).

In summary, **Figure 5** illustrates that despite observed cross-reactivity, at least one flavivirus and CHIKV co-circulate in the São Sebastião region.

**Figure 5.** Prevalence of total IgM and or/IgG antibodies to each of the arboviruses and co-infection.



## **Underreporting of cases**

Analyzing the 403 samples tested using the Euroimmun ZIKV IgG kit, mono-infection prevalence was observed at 45.4% (193/403) for DENV IgG and 0.24% (1/403) for ZIKV IgG. Therefore, there should be at least 54,013 cases of dengue and 286 cases of Zika. However, official reports indicate only 13,027 dengue cases (2006-2021) and 16 Zika cases (2015-2021) [26], showing underreporting by approximately four times for dengue and more than 18 times for Zika (**Additional file 4**).

Similarly, since the introduction of CHIKV in the Federal District until 2021, 1,360 probable chikungunya cases have been recorded. However, only 44 cases were reported in São Sebastião [26], and we estimated a seroprevalence of 3.1%. Extrapolating this to the population of São Sebastião, approximately 3,688 cases are estimated in the area. Therefore, the actual number of chikungunya infections may be approximately 84 times higher than officially documented (**Additional file 4**).

## **DISCUSSION**

We elucidate the complexities involved in serological assessments in areas where multiple arboviruses co-circulate, underscoring the urgency for the developing of more refined and accurate methodologies in such contexts. Our study highlights that arboviral diseases are likely underestimated in endemic regions, emphasizing the need for comprehensive serological surveys to determine their actual extent. Additionally, the substantial underreporting of arboviral diseases in official records obscures the true extent of these burdens.

Our results indicate higher levels of antibodies against ZIKV and CHIKV in women compared to men. This disparity may be attributed to sociocultural practices wherein

women are more likely to engage in domestic activities, thereby increasing their exposure to the vector [32]. In contrast, no significant differences between men and women in exposure to arboviruses [33, 34]. Additionally, significant differences were observed between age groups and educational levels. Consistent with previous studies [35–37] indicate older age and lower education, greater exposure to arboviruses.

During phase 2 of the study, coinciding with the COVID-19 pandemic, there was an increase in ZIKV IgM prevalence and a rise in borderline ZIKV IgG results. Concurrently, the prevalence of CHIKV IgM increased, coinciding with the transition to a different serological test manufacturer – Vircell Microbiologists. These findings may suggest that the widespread presence of anti-SARS-COV-2 IgG antibodies increased antigen affinity to arbovirus IgM antibodies [38], leading to false positives [39]. Additionally, an excess of IgG can competitively inhibit IgM binding to antigen epitopes, potentially causing false negatives [40, 41]. Therefore, it is crucial to pretreat samples with anti-IgG adsorbent in serological assays to mitigate this interference. The failure to remove IgG in Vircell Microbiologists kits may explain the significant prevalence of individuals appearing to be in the acute phase of Zika and chikungunya in our evaluation.

Regarding DENV, it is known that secondary infections are associated with increased susceptibility to severe dengue [42, 43]. Our findings indicate that between 5.7% and 9.0% of the population of São Sebastião may have been exposed to DENV more than once, suggesting the circulation of multiple viral subtypes in the area [44]. During the largest dengue epidemic in the history of the Federal District in 2024, a shift to the DENV-2 subtype occurred, which may be linked to increased severity and mortality [26].

In our study, Vircell Microbiologists kits exhibit compromised specificity and overestimate seroprevalence. We observed an almost 46% seropositivity rate for FLAV, with increased seropositivity for ZIKV IgG among individuals with DENV infection, suggesting cross-reactivity. Despite Vircell Microbiologists offering a broad array of immunodiagnostic tests for various diseases [45–51], options for arbovirus assessment remain limited. Most available studies primarily focus on ZIKV IgM [52–55].

According to the manufacturer's instructions [56], the antigens used for ZIKV in the Vircell Microbiologists kit consist of native proteins derived from purified lysates of viral cell cultures, specifically structural proteins. However, using native antigens may result in cross-reactivity in individuals with antibodies against other flaviviruses [57, 58]. Validation tests conducted by Vircell Microbiologists revealed that out of 10 samples positive for DENV, six exhibited cross-reactivity to ZIKV IgG. Similarly, among 15 samples positive for DENV, one showed cross-reactivity with ZIKV IgM [56]. Consequently, the use of structural proteins with lower specificity highlights the limitations of the Vircell Microbiologists kit in the accurate diagnosis of ZIKV in endemic regions.

Conversely, the prevalence of previous ZIKV infection, estimated at 14.9% (60/403), using the Euroimmun ZIKV IgG kit [59] appears to align more closely with previous reports [60–64]. The instructions for using the Euroimmun kit highlight that cross-reactivity with other arboviruses can be minimized due to recombinant non-structural proteins (NS1) as antigens. In fact, the use of NS1 proteins may confer greater specificity to the test, as these proteins are associated with the surface or secreted by infected cells [65, 66]. In independent evaluations, cross-reactions were not observed between cases positive for DENV [67, 68].

In summary, Euroimmun indicates that instead of cross-reactivity, co-infection should be considered based on the performance of the kit [69]. However, in our study, we observed that out of the Euroimmun ZIKV IgG positive samples, 59 out of 60 (98.3%) were also positive for DENV IgG. Other observations also highlight cross-reactivity in the manufacturer Euroimmun in dengue-positive samples [70, 71]. This raises questions about whether these individuals indeed had infections with both viruses or if the manufacturer's kit may also have limitations related to cross-reactions.

Our estimates should be interpreted cautiously due to a significant proportion of borderline results. Although manufacturers recommend retesting for indeterminate results after 1 to 2 weeks, logistical and resource constraints have made retesting impossible. In other assessments [60–62, 72], borderline results are typically excluded and not retested, hence rarely discussed. Here, the seroprevalence of antibody classes remained unchanged with the exclusion of borderline results, except for ZIKV IgG, as previously discussed. Therefore, we chose to include them in this study.

Importantly, all kits, except for the anti-ZIKV Euroimmun, were donated by the Ministry of Health and are part of the agency's official diagnostic scheme. This indicates that manufacturer variability may limit our study and health services, potentially impacting case notification.

Seropositivity rates for DENV (64.3%), ZIKV (51.4%), and CHIKV (5.4%) notably exceed those reported by local surveillance [26]. However, it is crucial to highlight that the estimated seroprevalence for DENV and ZIKV may be biased due to cross-reactions between flavivirus in the serological assays, as almost 46% of the samples showed dual positivity for DENV and ZIKV. Despite inaccuracies in comparing

seroprevalence with surveillance data for DENV and ZIKV, CHIKV results, which show minimal cross-reaction, suggest that chikungunya cases could be up to 84 times higher than officially reported. This underreporting has been highlighted in other studies [60, 73], along with instances of misclassification, such as confirmed cases of CHIKV being erroneously categorized as probable cases of DENV [73, 74]. Furthermore, the substantial proportion of exposed individuals unaware of their infection underscores the significance of seroepidemiological studies and, notably, their advantages over monitoring reliant on traditional surveillance systems [61, 75].

This study represents the first comprehensive evaluation in the Central-West region of Brazil, presenting a robust and well-distributed sample size. Given that the sample size commonly used to validate diagnostic tests often falls short of capturing imperfections, particularly in areas where these arboviruses co-circulate, our research allowed for the identification and exhaustive discussion of the limitations of the serological tests employed. Despite this, we reaffirm serology as the most viable option regarding cost-effectiveness. However, considering that the limitations of alternative tests are considerably more complex to resolve, the imperative developing of more specific serological tests is imminent. This urgency is highlighted by the vector's growing and resilient activity, which could potentially reintroduce ZIKV and CHIKV epidemics, as we estimate that at least 36,000 individuals remain susceptible to infection by these arboviruses in the assessed area. Finally, despite the meticulously outlined limitations, our results reveal alarming levels of underreporting in São Sebastião, which consequently reflects the entire Federal District.

## **CONCLUSIONS**

Our findings underscore significant challenges in detecting co-infections and issues related to cross-reactions, particularly concerning test accuracy. This study reveals substantial underreporting of arboviruses in official data, accentuating the necessity for comprehensive serological surveys in endemic regions. Additionally, by assessing underreporting, subsidies are provided for reformulating prediction and severity models for urban arboviruses. Our study provides valuable information about the prevalence and neglect of urban arboviruses in São Sebastião, Brazil, informing future research directions and guiding public health interventions.

## **LIST OF ABBREVIATIONS**

**CI:** Confidence interval

**CHIKV:** Chikungunya Virus

**DENV:** Dengue Virus

**ELISA:** Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

**FLAV:** Flavivirus

**PRNT:** Plaque Reduction Neutralization Test

**IgG:** Immunoglobulin G

**IgM:** Immunoglobulin M

**ZIKV:** Zika Virus

## **DECLARATIONS**

### **Ethics approval and consent to participate**

The study was submitted and approved by the Research Ethics Committee of the Universidade de Brasília (CAAE: 07443418.4.0000.5558). All participants provided their voluntary informed consent to participate in the research by signing the informed consent form.

### **Consent for publication**

Not applicable.

### **Availability of data and materials**

The datasets used and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

### **Competing interests**

The authors declare that they have no competing interests.

### **Funding**

This study was funded by: the Sentinela International joint laboratory (LMI Sentinela), a formal partnership between the French national research institute for sustainable development (Institut de Recherche pour le Développement, IRD), the University of Brasília (UnB) and the Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz); the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES); the Ministry of Education, Brazil - Finance Code 001; and the Pan-American Health Organization (PAHO).

### **Authors' contributions**

ALDF, ELLA, ER, PC, PH, HG, and WMR were responsible for the overall conception and design of the study. TN and WMR participated in field data collection. TN and NJ

performed the laboratory assays. TN, WMR, and NJ supervised both the field data collection and the laboratory assays. TN, BD, WMR, and NJ were responsible for the analysis and interpretation of the data. TN, NJ, and WMR reviewed the literature and wrote the manuscript. WMR served as the research coordinator. ER, PH, MH and LH provided substantial revisions. All authors made the critical reading and contributed to the elaboration of the final version of this manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

### **Acknowledgments**

We thank all the members of the ZARICS Project for their support in the field activities. We are also grateful to Dr. Rodrigo Haddad, Head of the Molecular Diagnostic Laboratory at the University Hospital of the University of Brasília (HUB/UnB) for providing laboratory space for sample processing. Finally, we thank CAPES for the incentive towards qualification and the financial support granted.

### **RERERENCES**

1. Fuller TL, Calvet G, Genaro Estevam C, Rafael Angelo J, Abiodun GJ, Halai U-A, et al. Behavioral, climatic, and environmental risk factors for Zika and Chikungunya virus infections in Rio de Janeiro, Brazil, 2015-16. *PLoS One*. 2017;12:e0188002.
2. Chien L-C, Sy F, Pérez A. Identifying high risk areas of Zika virus infection by meteorological factors in Colombia. *BMC Infect Dis*. 2019;19:888.
3. Mwanyika GO, Sindato C, Rugarabamu S, Rumisha SF, Karimuribo ED, Misinzo G, et al. Seroprevalence and associated risk factors of chikungunya, dengue, and Zika in eight districts in Tanzania. *International Journal of Infectious Diseases*. 2021;111:271–80.
4. Shepard DS, Undurraga EA, Halasa YA, Stanaway JD. The global economic burden of dengue: a systematic analysis. *Lancet Infect Dis*. 2016;16:935–41.
5. Puntasecca CJ, King CH, LaBeaud AD. Measuring the global burden of chikungunya and Zika viruses: A systematic review. *PLoS Negl Trop Dis*. 2021;15:e0009055.

6. Tunalı M, Radin AA, Başıbüyük S, Musah A, Borges IVG, Yenigun O, et al. A review exploring the overarching burden of Zika virus with emphasis on epidemiological case studies from Brazil. *Environmental Science and Pollution Research*. 2021;28:55952–66.
7. Villabona-Arenas CJ, de Oliveira JL, Capra C de S, Balarini K, Loureiro M, Fonseca CRTP, et al. Detection Of Four Dengue Serotypes Suggests Rise In Hyperendemicity In Urban Centers Of Brazil. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8:e2620.
8. Andrioli DC, Busato MA, Lutinski JA. Características da epidemia de dengue em Pinhalzinho, Santa Catarina, 2015-2016\*. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*. 2020;29.
9. Nunes MRT, Faria NR, de Vasconcelos JM, Golding N, Kraemer MUG, de Oliveira LF, et al. Emergence and potential for spread of Chikungunya virus in Brazil. *BMC Med*. 2015;13.
10. Zanluca C, Melo VCA de, Mosimann ALP, Santos GIV dos, Santos CND dos, Luz K. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2015;110:569–72.
11. Fauci AS, Morens DM. Zika Virus in the Americas — Yet Another Arbovirus Threat. *New England Journal of Medicine*. 2016;374:601–4.
12. Elsinga J, Grobusch MP, Tami A, Gerstenbluth I, Bailey A. Health-related impact on quality of life and coping strategies for chikungunya: A qualitative study in Curaçao. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11:e0005987.
13. Simon F, Bossy R, Federico D, Dezaunay J, Demoux A-L, Rugard N, et al. Determinants of Health-Related Quality of Life in Chronic Chikungunya Disease in Guadeloupe. *Pathogens*. 2022;11:989.
14. Achee NL, Grieco JP, Vatandoost H, Seixas G, Pinto J, Ching-NG L, et al. Alternative strategies for mosquito-borne arbovirus control. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019;13:e0006822.
15. Wilson AL, Courtenay O, Kelly-Hope LA, Scott TW, Takken W, Torr SJ, et al. The importance of vector control for the control and elimination of vector-borne diseases. *PLoS Negl Trop Dis*. 2020;14:e0007831.
16. Silva MMO, Rodrigues MS, Paploski IAD, Kikuti M, Kasper AM, Cruz JS, et al. Accuracy of Dengue Reporting by National Surveillance System, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2016;22:336–9.
17. Zanotto PM de A, Leite LC de C. The Challenges Imposed by Dengue, Zika, and Chikungunya to Brazil. *Front Immunol*. 2018;9.

18. Munoz-Jordan JL. Diagnosis of Zika Virus Infections: Challenges and Opportunities. *J Infect Dis.* 2017;216 suppl\_10:S951–6.
19. Crill WD, Chang G-JJ. Localization and Characterization of Flavivirus Envelope Glycoprotein Cross-Reactive Epitopes. *J Virol.* 2004;78:13975–86.
20. Mansfield KL, Horton DL, Johnson N, Li L, Barrett ADT, Smith DJ, et al. Flavivirus-induced antibody cross-reactivity. *Journal of General Virology.* 2011;92:2821–9.
21. Maeda A, Maeda J. Review of diagnostic plaque reduction neutralization tests for flavivirus infection. *The Veterinary Journal.* 2013;195:33–40.
22. Petersen LR, Jamieson DJ, Powers AM, Honein MA. Zika Virus. *New England Journal of Medicine.* 2016;374:1552–63.
23. Zhang X, Li G, Chen G, Zhu N, Wu D, Wu Y, et al. Recent progresses and remaining challenges for the detection of Zika virus. *Med Res Rev.* 2021;41:2039–108.
24. CODEPLAN. Pesquisa Distrital por Amostra de Domicílios (PDAD), São Sebastião. 2021. [https://www.codeplan.df.gov.br/wp-content/uploads/2022/05/Sao\\_Sebastiao.pdf](https://www.codeplan.df.gov.br/wp-content/uploads/2022/05/Sao_Sebastiao.pdf). Accessed 24 May 2024.
25. Ministério da Saúde. Série histórica - Casos prováveis de dengue - (2000-2023). <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dengue/situacao-epidemiologica/serie-historica-casos-provaveis-de-dengue-2000-2023/view>. Accessed 19 May 2024.
26. SECRETARIA DE SAÚDE DO DISTRITO FEDERAL. Informativos Epidemiológicos Dengue, Chikungunya, Zika e Febre Amarela. <https://www.saude.df.gov.br/informes-dengue-chikungunya-zika-febre-amarela>. Accessed 19 May 2024.
27. CODEPLAN. COMPATIBILIZAÇÃO ENTRE AS PROJEÇÕES POPULACIONAIS, A PDAD 2018 E A NOVA DELIMITAÇÃO (OFICIAL) DAS REGIÕES ADMINISTRATIVAS DO DISTRITO FEDERAL. 2020. <https://www.codeplan.df.gov.br/wp-content/uploads/2020/06/NT-Compatibiliza%C3%A7%C3%A3o-entre-as-proje%C3%A7%C3%B5es-populacionais-a-PDAD-2018-e-a-nova-delimita%C3%A7%C3%A3o-oficial-das-Regi%C3%B5es-Administrativas-do-DF.pdf>. Accessed 22 Jun 2024.
28. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). CNEFE - Cadastro Nacional de Endereços para Fins Estatísticos. <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/populacao/38734-cadastro-nacional-de-enderecos-para-fins-estatisticos.html>. Accessed 24 May 2024.

29. Cordeiro R, Stephan C, Donalísio MR. AmostraBrasil: um pacote R para amostragem domiciliar em municípios brasileiros. *Cad Saude Publica*. 2016;32.
30. Harris PA, Taylor R, Thielke R, Payne J, Gonzalez N, Conde JG. Research electronic data capture (REDCap)—A metadata-driven methodology and workflow process for providing translational research informatics support. *J Biomed Inform*. 2009;42:377–81.
31. Brecht Devleesschauwer PTJCBLNPPDDB and NS. Package “prevalence” Title Tools for Prevalence Assessment Studies. 2013.
32. Santos LLM, de Aquino EC, Fernandes SM, Ternes YMF, Feres VC de R. Dengue, chikungunya, and Zika virus infections in Latin America and the Caribbean: a systematic review. *Revista Panamericana de Salud Pública*. 2023;47:1.
33. Kikuti M, Cunha GM, Paploski IAD, Kasper AM, Silva MMO, Tavares AS, et al. Spatial Distribution of Dengue in a Brazilian Urban Slum Setting: Role of Socioeconomic Gradient in Disease Risk. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;9:e0003937.
34. Power GM, Vaughan AM, Qiao L, Sanchez Clemente N, Pescarini JM, Paixão ES, et al. Socioeconomic risk markers of arthropod-borne virus (arbovirus) infections: a systematic literature review and meta-analysis. *BMJ Glob Health*. 2022;7:e007735.
35. Braga C, Luna CF, Martelli CM, Souza WV de, Cordeiro MT, Alexander N, et al. Seroprevalence and risk factors for dengue infection in socio-economically distinct areas of Recife, Brazil. *Acta Trop*. 2010;113:234–40.
36. Braga C, Martelli CMT, Souza W V., Luna CF, Albuquerque M de FPM, Mariz CA, et al. Seroprevalence of Dengue, Chikungunya and Zika at the epicenter of the congenital microcephaly epidemic in Northeast Brazil: A population-based survey. *PLoS Negl Trop Dis*. 2023;17:e0011270.
37. Chis Ster I, Rodriguez A, Romero NC, Lopez A, Chico M, Montgomery J, et al. Age-dependent seroprevalence of dengue and chikungunya: inference from a cross-sectional analysis in Esmeraldas Province in coastal Ecuador. *BMJ Open*. 2020;10:e040735.
38. Keyt BA, Baliga R, Sinclair AM, Carroll SF, Peterson MS. Structure, Function, and Therapeutic Use of IgM Antibodies. *Antibodies*. 2020;9:53.
39. Joassin L, Reginster M. Elimination of nonspecific cytomegalovirus immunoglobulin M activities in the enzyme-linked immunosorbent assay by using anti-human immunoglobulin G. *J Clin Microbiol*. 1986;23:576–81.
40. Meurman OH, Ziola BR. IgM-class rheumatoid factor interference in the solid-phase radioimmunoassay of rubella-specific IgM antibodies. *J Clin Pathol*. 1978;31:483–7.

41. Martins TB, Jaskowski TD, Mouritsen CL, Hill HR. An evaluation of the effectiveness of three immunoglobulin G (IgG) removal procedures for routine IgM serological testing. *Clinical Diagnostic Laboratory Immunology*. 1995;2:98–103.
42. Chong HY, Leow CY, Abdul Majeed AB, Leow CH. Flavivirus infection—A review of immunopathogenesis, immunological response, and immunodiagnosis. *Virus Res*. 2019;274:197770.
43. Roy SK, Bhattacharjee S. Dengue virus: epidemiology, biology, and disease aetiology. *Can J Microbiol*. 2021;67:687–702.
44. Muller DA, Depelsenair ACI, Young PR. Clinical and Laboratory Diagnosis of Dengue Virus Infection. *J Infect Dis*. 2017;215 suppl\_2:S89–95.
45. Martínez-Jiménez MC, Muñoz P, Guinea J, Valerio M, Alonso R, Escribano P, et al. Potential role of *Candida albicans* germ tube antibody in the diagnosis of deep-seated candidemia. *Med Mycol*. 2014;52:270–5.
46. Gómez-Marin JE, de-la-Torre A, Angel-Muller E, Rubio J, Arenas J, Osorio E, et al. First Colombian Multicentric Newborn Screening for Congenital Toxoplasmosis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011;5:e1195.
47. Fadeel MA, Hoffmaster AR, Shi J, Pimentel G, Stoddard RA. Comparison of four commercial IgM and IgG ELISA kits for diagnosing brucellosis. *J Med Microbiol*. 2011;60:1767–73.
48. Sampedro A, Casanovas I, Ceballos J, Rodriguez-Granger J, Cobo F, Navarro JM. Comparative evaluation of two immunoassays for serological diagnosis of hepatitis E. *J Med Virol*. 2020;92:260–2.
49. Kohmer N, Westhaus S, Rühl C, Ciesek S, Rabenau HF. Clinical performance of different SARS-CoV-2 IgG antibody tests. *J Med Virol*. 2020;92:2243–7.
50. Suescún-Carrero SH, Salamanca-Cardozo LP, Pinazo M-J, Armadans-Gil L. Sensitivity and Specificity of two rapid tests for the diagnosis of infection by *Trypanosoma cruzi* in a Colombian population. *PLoS Negl Trop Dis*. 2021;15:e0009483.
51. Lévêque MF, Battery E, Delaunay P, Lmimouni BE, Aoun K, L'Ollivier C, et al. Evaluation of six commercial kits for the serological diagnosis of Mediterranean visceral leishmaniasis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2020;14:e0008139.
52. Campos GS, Carvalho RH, Da Glória Teixeira M, Britto E Silva GF, Rolo CA, Menezes ADL, et al. Persistence of Anti-Zika Virus Immunoglobulin M Antibodies in Children with Microcephaly up to Four Years after Primary Infection. 2019.

53. Nguyen CT, Moi ML, Le TQM, Nguyen TTT, Vu TBH, Nguyen HT, et al. Prevalence of Zika virus neutralizing antibodies in healthy adults in Vietnam during and after the Zika virus epidemic season: a longitudinal population-based survey. *BMC Infect Dis.* 2020;20:332.
54. Oliveira JF, Rodrigues MS, Skalinski LM, Santos AES, Costa LC, Cardim LL, et al. Interdependence between confirmed and discarded cases of dengue, chikungunya and Zika viruses in Brazil: A multivariate time-series analysis. *PLoS One.* 2020;15:e0228347.
55. Adekola HA, Ojo DA, Balogun SA, Dipeolu MA, Mohammed M, Adejo DS, et al. The prevalence of IGM antibodies to Zika virus in pregnant women in Northern Nigeria. *Probl Virol.* 2023;68:117–23.
56. Vircell Microbiologists. Vircell Microbiologists. ZIKA ELISA. <https://en.vircell.com/products/zika-elisa/>. Accessed 24 May 2024.
57. Lindenbach BD, Rice CM. *Molecular biology of flaviviruses.* 2003. p. 23–61.
58. Barba-Spaeth G, Dejnirattisai W, Rouvinski A, Vaney M-C, Medits I, Sharma A, et al. Structural basis of potent Zika–dengue virus antibody cross-neutralization. *Nature.* 2016;536:48–53.
59. Euroimmun. Zika virus (IgG). 2024. <https://www.euroimmun.com.br/produtos/72/zika-virus-igg>. Accessed 24 May 2024.
60. Barreto FK de A, Alencar CH, Araújo FM de C, Oliveira R de MAB, Cavalcante JW, Lemos DRQ, et al. Seroprevalence, spatial dispersion and factors associated with flavivirus and chikungunya infection in a risk area: a population-based seroprevalence study in Brazil. *BMC Infect Dis.* 2020;20:881.
61. Périssé ARS, Souza-Santos R, Duarte R, Santos F, de Andrade CR, Rodrigues NCP, et al. Zika, dengue and chikungunya population prevalence in Rio de Janeiro city, Brazil, and the importance of seroprevalence studies to estimate the real number of infected individuals. *PLoS One.* 2020;15:e0243239.
62. Mota ML, dos Santos Souza Marinho R, Duro RLS, Hunter J, de Menezes IRA, de Lima Silva JMF, et al. Serological and molecular epidemiology of the Dengue, Zika and Chikungunya viruses in a risk area in Brazil. *BMC Infect Dis.* 2021;21:704.
63. Slavov SN, Guaragna Machado RR, Ferreira AR, Soares CP, Araujo DB, Leal Oliveira DB, et al. Zika virus seroprevalence in blood donors from the Northeastern region of São Paulo State, Brazil, between 2015 and 2017. *Journal of Infection.* 2020;80:111–5.

64. Giménez-Richarte Á, Ortiz de Salazar MI, Giménez-Richarte M-P, Collado M, Fernández PL, Clavijo C, et al. Transfusion-transmitted arboviruses: Update and systematic review. *PLoS Negl Trop Dis*. 2022;16:e0010843.
65. Akey DL, Brown WC, Dutta S, Konwerski J, Jose J, Jurkiw TJ, et al. Flavivirus NS1 Structures Reveal Surfaces for Associations with Membranes and the Immune System. *Science* (1979). 2014;343:881–5.
66. Balmaseda A, Stettler K, Medialdea-Carrera R, Collado D, Jin X, Zambrana JV, et al. Antibody-based assay discriminates Zika virus infection from other flaviviruses. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2017;114:8384–9.
67. Huzly D, Hanselmann I, Schmidt-Chanasit J, Panning M. High specificity of a novel Zika virus ELISA in European patients after exposure to different flaviviruses. *Eurosurveillance*. 2016;21.
68. Steinhagen K, Probst C, Radzimski C, Schmidt-Chanasit J, Emmerich P, van Esbroeck M, et al. Serodiagnosis of Zika virus (ZIKV) infections by a novel NS1-based ELISA devoid of cross-reactivity with dengue virus antibodies: a multicohort study of assay performance, 2015 to 2016. *Euro Surveill*. 2016;21:30426.
69. Euroimmun. Anti-Zika Virus ELISA (IgG). 2016. [https://www.euroimmun.com/documents/Indications/Infections/Zika-virus/EI\\_2668\\_D\\_UK\\_A.pdf](https://www.euroimmun.com/documents/Indications/Infections/Zika-virus/EI_2668_D_UK_A.pdf). Accessed 24 May 2024.
70. Pasquier C, Joguet G, Mengelle C, Chapuy-Regaud S, Pavili L, Prisant N, et al. Kinetics of anti-ZIKV antibodies after Zika infection using two commercial enzyme-linked immunoassays. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2018;90:26–30.
71. Matheus S, Talla C, Labeau B, de Laval F, Briolant S, Berthelot L, et al. Performance of 2 Commercial Serologic Tests for Diagnosing Zika Virus Infection. *Emerg Infect Dis*. 2019;25:1153–60.
72. Teixeira MG, Skalinski LM, Paixão ES, Costa M da CN, Barreto FR, Campos GS, et al. Seroprevalence of Chikungunya virus and living conditions in Feira de Santana, Bahia-Brazil. *PLoS Negl Trop Dis*. 2021;15:e0009289.
73. Ribas Freitas AR, Pinheiro Chagas AA, Siqueira AM, Pamplona de Góes Cavalcanti L. How much of the current serious arbovirus epidemic in Brazil is dengue and how much is chikungunya? *The Lancet Regional Health - Americas*. 2024;34:100753.
74. Rufalco-Moutinho P, de Noronha LAG, de Souza Cardoso Quintão T, Nobre TF, Cardoso APS, Cilião-Alves DC, et al. Evidence of co-circulation of multiple arboviruses transmitted by

*Aedes* species based on laboratory syndromic surveillance at a health unit in a slum of the Federal District, Brazil. *Parasit Vectors*. 2021;14:610.

75. Imai N, Dorigatti I, Cauchemez S, Ferguson NM. Estimating Dengue Transmission Intensity from Sero-Prevalence Surveys in Multiple Countries. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;9:e0003719.

**Supplementary material.** Questionnaire on demographic information and arbovirus exposure.

---

<b>Question</b>	<b>Response options</b>
What is your date of birth?	(mm/dd/yyyy)
What is your gender?	(1) Female, (2) Male, (3) Other, (4) Prefer not to disclose
What is your level of education?	(1) Illiterate, (2) Elementary School, (3) High School, (4) University
Have you ever had dengue?	(1) Yes, (2) No, (3) Don't know
Have you ever had Zika?	(1) Yes, (2) No, (3) Don't know
Have you ever had chikungunya?	(1) Yes, (2) No, (3) Don't know

---

**Table 2.** Overall seroprevalence of DENV, ZIKV, CHIKV, FLAV, FLAV+CHIKV and “No Arbovirus” to gender, age group and education level. São Sebastião, Distrito Federal, Brazil, 2020-2021.

	Examined	DENV		ZIKV		CHIKV		FLAV		FLAV+CHIKV		No Arbovirus	
		Pos	Prev (95%CI)	Pos	Prev (95%CI)	Pos	Prev (95%CI)	Pos	Prev (95%CI)	Pos	Prev (95%CI)	n	Prev (95%CI)
<b>Overall</b>	1,405	903	64.3 (61.8-66.7)	722	51.4 (48.8-53.9)	76	5.4 (4.4-6.7)	645	45.9 (43.3-48.5)	56	4.0 (3.1-5.1)	419	29.8 (27.5-32.3)
<b>Gender <sup>a</sup></b>													
Male	504	333	66.1 (61.9-70.0)	272	54.0 (49.6-58.3)	22	4.4 (2.9-6.5)	246	48.8 (44.5-53.2)	16	3.2 (2.0-5.1)	142	28.2 (24.3-32.3)
Female	898	568	63.3 (60.0-66.4)	449	50.0 (46.7-53.3)	54	6.0 (4.7-7.8)	398	44.3 (41.1-47.5)	40	4.5 (3.3-6.0)	276	30.7 (27.8-33.8)
<b>Age group <sup>b</sup></b>													
7 - 17	25	15	60.0 (40.3-76.2)	14	56.0 (37.0-73.2)	1	4.0 (1.0-20.2)	12	48.0 (29.9-66.8)	1	4.0 (1.0-20.2)	8	32.0 (17.2-51.5)
18 - 40	620	382	61.8 (57.9-65.6)	301	48.5 (44.6-52.4)	30	4.8 (3.4-6.9)	257	41.5 (37.7-45.4)	23	3.7 (2.5-5.5)	192	31.0 (27.5-34.6)
41 - 60	520	334	64.2 (59.9-68.2)	265	51.0 (46.6-55.2)	28	5.4 (3.8-7.7)	243	46.7 (42.5-51.1)	21	4.0 (2.7-6.1)	162	31.2 (27.2-35.2)
61 - 87	162	126	77.8(71.1-83.4)	107	66.0 (58.5-72.9)	12	7.4 (4.3-12.6)	101	62.3 (54.8-69.7)	9	5.6 (3.0-10.3)	29	17.9 (12.8-24.4)
<b>Education level <sup>c</sup></b>													
Illiterate	35	30	85.7 (70.7-93.7)	25	71.4 (55.0-83.5)	4	11.4 (4.7-25.7)	24	68.6 (51.8-81.6)	3	8.6 (3.0-22.2)	3	8.6 (3.0-22.2)
Elementary School	446	334	74.9 (70.6-78.7)	268	60.1 (55.4-64.6)	34	7.6 (5.6-10.5)	248	55.6 (51.0-60.1)	26	5.8 (4.0-8.4)	91	20.4 (17.0-24.4)
High School	551	353	64.1 (60.2-68.0)	273	49.5 (45.4-53.7)	23	4.2 (2.8-6.2)	250	45.4 (41.3-49.5)	19	3.4 (2.2-5.2)	173	31.4 (27.6-35.4)
University	368	181	49.2 (44.2-54.1)	151	41.0 (36.0-46.1)	15	4.1 (2.5-6.6)	118	32.1 (27.5-37.1)	8	2.2 (1.1-4.2)	152	41.3 (36.3-46.5)

a: n=1,402 individuals evaluated, b: n=1,327 individuals evaluated, c: n=1,400 individuals evaluated, Pos=positive.

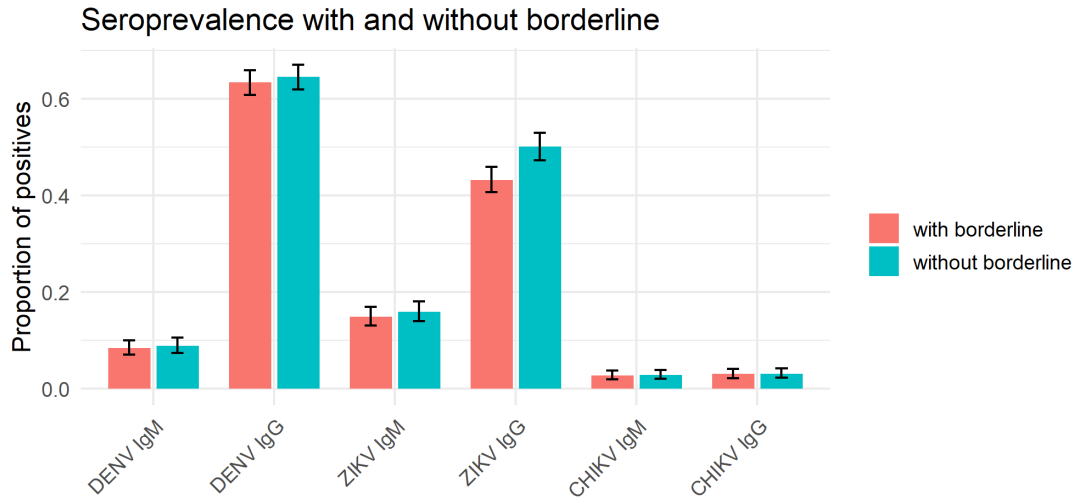
**Additional file 1.** Description of commercial ELISA kits for IgM detection by study collection phase.

	Commercial ELISA kit							
	DENV IgM Euroimmun®		ZIKV IgM Vircell®		CHIKV IgM Dia.pro®		CHIKV IgM Vircell®	
Phase collection	n	1 and 2	n	1 and 2	n	only 1	n	only 2
<b>Total samples tested (count, %)</b>	1,405	100	1,405	100	377	26.8	1,208	73.2
<b>Antibody IgM (count, %)</b>								
Positive	118	8.4	210	14.9	6	1.6	33	3.2
Negative	1,210	86.1	1105	78.6	368	97.6	971	94.5
Borderline	77	5.5	90	6.4	3	0.5	24	2.3

**Additional file 2.** Description of commercial ELISA kits for IgG detection by study collection phase.

	Commercial ELISA kit									
	DENV IgG Euroimmun®		ZIKV IgG Vircell®		ZIKV IgG Euroimmun®		CHIKV IgG Mobius Life®		CHIKV IgG Euroimmun®	
Phase collection	n	1 and 2	n	1 and 2	n	1 and 2	n	only 1	n	only 2
<b>Total samples tested</b>	1,405	100	1,405	100	403	28,6	377	26,8	1,208	73,2
<b>Antibody IgG (count, %)</b>										
Positive	891	63.4	608	43.3	60	14.9	14	3.7	29	2.8
Negative	488	34.7	605	43.1	330	81.9	359	95.2	987	96.0
Borderline	26	1.85	192	13.7	13	3.2	4	1.1	12	1.2

**Additional file 3.** Seroprevalence analysis of antibody classes and their confidence intervals with and without borderline results.



**Additional file 4.** Estimates of underreported cases. São Sebastião, Federal District, Brazil, 2020-2021.

Arbovirus	Period	Prevalence	Case estimation <sup>c</sup>	Reported cases	Difference
Dengue <sup>a</sup>	2006 to 2021	45.4	54.013	13,027	4.1
Zika <sup>b</sup>	2015 to 2021	0.24	286	16	17.8
Chikungunya	2014 to 2021	3.1	3.688	44	83.8

<sup>a</sup> and <sup>b</sup> only cases of mono-infection<sup>c</sup> and population 118,972 inhabitants was considered to calculate the estimates.

## 5.2 Artigo 2

**TITLE:** Machine learning applications in the epidemiology of urban arboviruses: a Random Forest approach in central Brazil

### **Authors:**

Tayane Nobre<sup>1,2</sup>, Andre Luiz Dutra Fenner<sup>2</sup>, Emerson Luiz Lima Araújo<sup>3</sup>, Wildo Navegantes de Araújo<sup>4,5</sup>, Emmanuel Roux<sup>2</sup>, Pascal Handschumacher<sup>2</sup>, Helen Gurgel<sup>2,6</sup>, Brunno Dallago<sup>1</sup>, Mariana Hecht<sup>1</sup>, Luciana Hagström<sup>1</sup>, Walter Massa Ramalho<sup>2,4</sup>, Nadjar Nitz<sup>1\*</sup>.

### **Affiliations:**

1. Interdisciplinary Laboratory of Biosciences, Faculty of Medicine, University of Brasília, Brasília, Federal District, Brazil
2. International Joint Laboratory Sentinela (University of Brasília, UnB - Oswaldo Cruz Foundation, Fiocruz - French national research institute for sustainable development, IRD), Brasília, DF, Brazil; Montpellier, France; Rio de Janeiro, RJ, Brazil
3. Secretariat of Surveillance in Health, Ministry of Health, Federal District, Brazil
4. Center of Tropical Medicine, University of Brasília, Federal District, Brazil
5. Institute of Health Technology Assessment of the National Council for Scientific and Technological Development (IATS/CNPq), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil
6. Department of Geography, University of Brasília, Federal District, Brazil
7. ESPACE-DEV (IRD - Univ Montpellier - Univ Guyane - Univ Reunion - Univ Antilles - Univ Avignon - Univ Perpignan Via Domitia), Montpellier, France
8. UMR SESSTIM (IRD - INSERM - Univ Aix-Marseille)
9. \*Correspondence: [nadjarnitz@gmail.com](mailto:nadjarnitz@gmail.com)

## ABSTRACT

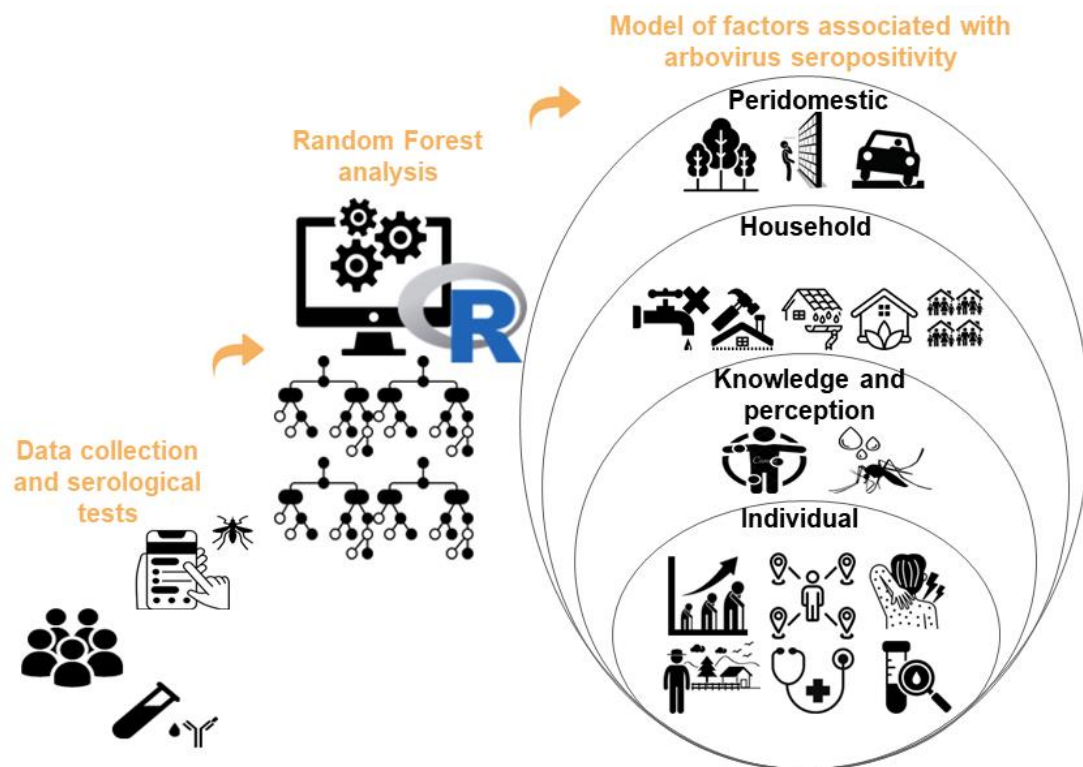
**Background:** The increasing threat of urban arboviral diseases, such as dengue, Zika, and chikungunya, driven by the proliferation of the *Aedes* vector, necessitates urgent and integrated responses. This study employs Random Forest models to identify variables associated with arbovirus seropositivity, providing valuable insights for developing effective control, prevention, and surveillance strategies. **Methods:** A cross-sectional study involving 1,535 households was conducted. ELISA tests detected IgM and IgG antibodies against dengue, Zika, and chikungunya. Data on dengue history in the household, perceptions and preventive measures, household and peridomestic characteristics, individual traits, travel, frequented places, health access, and contact with arboviruses were collected through a questionnaire. Participants testing positive for IgM and/or IgG were classified as positive for arbovirus. Factors associated with seropositivity were analyzed using Random Forest models for variable classification. Statistical analyses included descriptive statistics, Pearson's Chi-squared test, Wilcoxon rank-sum test, and prevalence with 95% confidence intervals. **Results:** The study included 1,405 individuals, divided into pre-pandemic and pandemic phases. The overall seroprevalence was 70.2% (95% CI: 67.8–72.5). Advancing age, water supply issues, roof shape, roof color, and the number of rooms were significantly associated with higher arbovirus exposure ( $p < 0.05$ ). Only 28.8% reported a history of dengue, while 68% of those without a history tested positive for DENV antibodies. Among individuals with chronic diseases, 64.3% were arbovirus-positive. Outdoor areas and multi-family lots were common. **Conclusions:** High seroprevalence of urban arboviruses was observed. Machine learning identified key predictors of seropositivity, highlighting the need for improved diagnostics, surveillance, and integrated control strategies.

**Keywords:** urban arboviruses, machine learning, Random Forest, seroprevalence, epidemiology.

## GRAPHICAL ABSTRACT

This shows the application of machine learning technique for the identified 24 key variables associated with arbovirus seropositivity, categorized into four groups: peridomestic, household, knowledge and perception, and individual factors.

**Figure 1.** Graphical abstract



## BACKGROUND

The increasing threat of urban arboviral diseases, such as dengue, Zika, and chikungunya, exacerbated by the proliferation of the *Aedes* vector, necessitates an urgent and integrated response. Dengue accounts for the highest morbidity, Zika is linked to neurological complications, and chikungunya is the most lethal [1–4].

Climatic factors, urbanization, human behavior, vector adaptation, population density, and socioeconomic status are critical in the propagation of these diseases [5–7]. Although there is extensive knowledge about the primary determinants of arbovirus transmission, uncertainties remain regarding the individual and contextual factors influencing disease risk in various geographic regions [8–10].

The Federal District, home to Brazil's capital city, has one of the highest dengue incidence rates in the country [11]. Urbanization in this region is characterized by irregular settlements in environmentally vulnerable areas, exacerbated by significant social disparities, creating a complex network of interconnected factors. The variation in income distribution, with affluent areas adjacent to low-income regions, substantially contributes to the heterogeneity in arbovirus transmission in this central region of Brazil [12]. This diversity in factors associated with arbovirus transmission underlines the need for more detailed evaluations in this specific area.

Machine Learning (ML) has emerged as a robust tool for investigating associated factors, especially in diseases with overlapping symptoms such as urban arboviruses [13]. These models not only classify and predict but also identify the primary factors related to the incidence of various diseases [14–18].

In 2001, Breiman proposed Random Forest (RF), a robust ML technique for data mining capable of effectively handling large sets of variables [19]. RF utilizes an ensemble of decision trees for regression or classification, operating in a supervised manner by learning from training data to identify factors associated with outcomes of interest. Although it does not establish causality, RF generates significant hypotheses. The model can incorporate both categorical and numerical variables, demonstrating excellent predictive accuracy and integrating cross-validation to assess the importance of variables associated with outcomes. Furthermore, RF

reveals non-intuitive associations, proving remarkably effective with data that lack a linear relationship and exhibiting high tolerance to missing data.

RF is widely used to deal with complex datasets involving multiple variables, particularly excelling in predicting factors associated with mosquito abundance [20] seropositivity for arboviruses [13, 21, 22] and transmission risk [23]. Compared to other ML models, RF consistently demonstrates superior accuracy.

Several studies have explored factors associated with arboviruses [24–28], however, the application of ML techniques to model seropositivity remains limited and underexplored. This innovative approach offers new insights into the complexity of these diseases. Here, we employ RF as a classification model to predict the variables associated with arbovirus seropositivity. This approach provides valuable insights for the development of effective control and prevention strategies for these diseases.

## **METHODS**

### **Study area, type and period**

The cross-sectional study was conducted in São Sebastião, a lower-middle-class urban administrative region of the Federal District. Located approximately 23 kilometers from Brasília, São Sebastião has an estimated population of 118,972 inhabitants in 2021 [12]. During the study period, some neighborhoods now part of the Jardim Botânico Administrative Region were still within São Sebastião, as the reorganization by local authorities occurred later [29]. The sample size was calculated using a prevalence rate of 50%, a sampling error of 5%, and a confidence level of 95%. A total of 1,535 households were randomly selected from the National Register of Addresses for Statistical Purposes [30] using the ‘AmostraBrasil’ package [19].

Each selected household was visited, and one resident aged 5 years or older was invited to participate in the study. After obtaining written informed consent, a face-to-face questionnaire was administered to collect information on the history of dengue in the household, perception of dengue and preventive measures, household and peridomestic characteristics, individual characteristics, travel, frequented places, health and access to healthcare, and contact with arboviruses. Venous blood samples were collected for serological analysis.

Due to the unexpected suspension of field activities caused by the COVID-19 pandemic, data collection was divided into two phases: pre-pandemic from November 2019 to March 2020 (Phase 1) and during the pandemic from October 2020 to January 2021 (Phase 2). Each participant received a unique code and data were entered using the REDCap web platform [31].

### **Serological tests**

The samples were tested for dengue, Zika, and chikungunya using Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) for IgG and IgM. Anti-dengue IgM and IgG were detected using Euroimmun® kits (Lubeck, Germany). For ZIKV, anti-Zika IgM and IgG were tested using Vircell Microbiologists® (Granada, Spain) and Euroimmun® kits, respectively. CHIKV detection involved anti-chikungunya IgM kits from Vircell Microbiologists® and Dia.Pro® (Milan, Italy), and anti-chikungunya IgG kits from Euroimmun® and Mobius Life Science® (Pinhais, Brazil). All interpretations followed the manufacturer's instructions.

### **Dependent Variables**

The study's dependent variable was the seropositivity for at least one class of IgG and/or IgM antibodies to DENV (Dengue virus), ZIKV (Zika virus), or CHIKV

(Chikungunya virus). Participants who tested positive were classified as "ARBO positive," while those with negative or borderline results were classified as "ARBO non-positive."

### **Random Forest analysis**

Random forest analyses were performed for screening questionnaire variables and reducing dataset dimensionality. The number of variables randomly sampled as candidates in each split was set to  $mtry=625m$ , and the number of trees was  $ntree=400$ . The algorithm utilized was based on binary decision trees to predict the number of questions associated with seropositivity. RF served as a tool for variable classification, evaluating their relationship with seropositivity as both dichotomous and categorical variables. Node impurity was assessed using Root Mean Squared Error (RMSE) in RF regression.

To evaluate algorithm performance, the data were split into training (train) and test (test) sets using a predefined random seed of 1235. Half of the observations were assigned to the training set and the other half to the test set. A minimum node size (minsize) of 10 was applied. The structure of the classification tree created was visualized to better understand the classification decisions. Predictions were made using the test set, and model performance was evaluated by comparing predictions with actual values. Random forest analyses were conducted using the 'randomForest' package version 4.7-1.1 in R [19].

### **Statistical analysis**

Descriptive analysis was conducted of the included variables, estimating the measurements of frequency and proportions for the qualitative variables. Central tendency, and dispersion for the quantitative variables. Pearson's Chi-squared determined association between categorical variables. Wilcoxon rank sum test

compared means. The significance level was defined as  $p < 0.05$ . The prevalences were analyzed always accompanied by their confidence intervals (CI) of 95% with the The prevalence on-line package (BRECHT DEVLEESSCHAUWER, 2013). All statistical analyses were performed using R software, version 4.3.3.

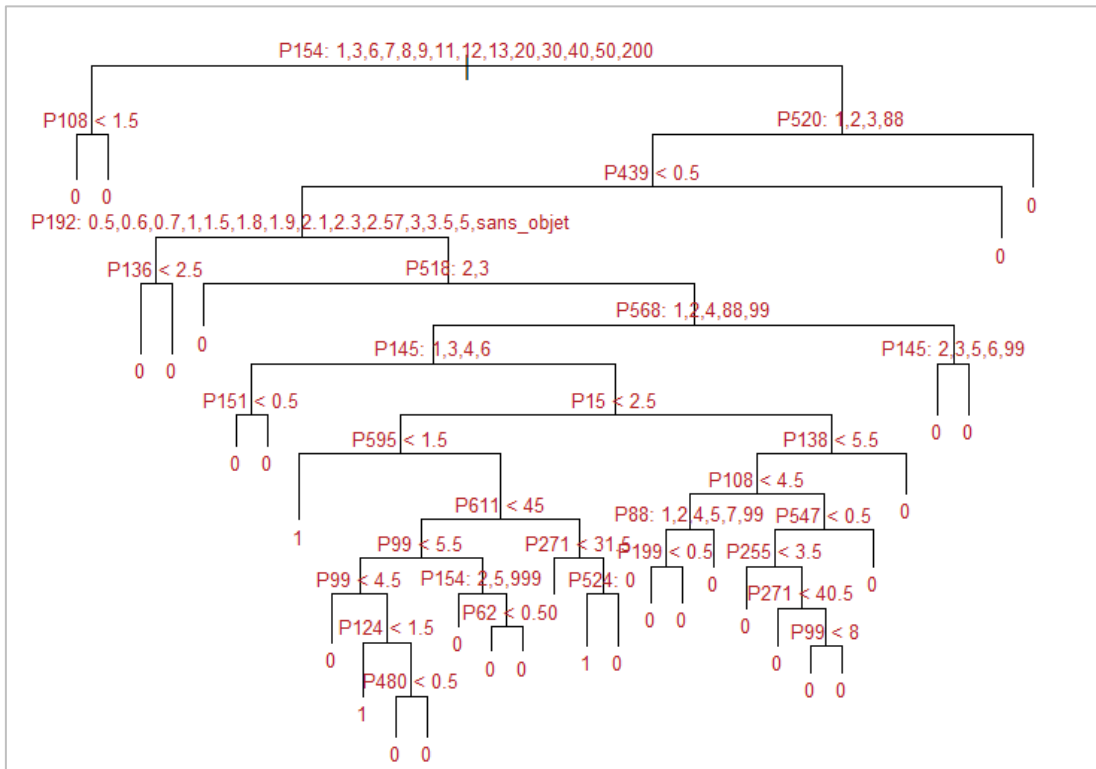
## RESULTS

A total of 1,405 individuals consented to participate in the study. Approximately 70% of household visits occurred during the pandemic. The overall arbovirus seroprevalence in the study population was 70.2% (95% CI: 67.8 – 72.5,  $n=986$ ), with no significant differences in arbovirus distribution between the collection phases ( $p > 0.05$ ).

### Random Forest performance

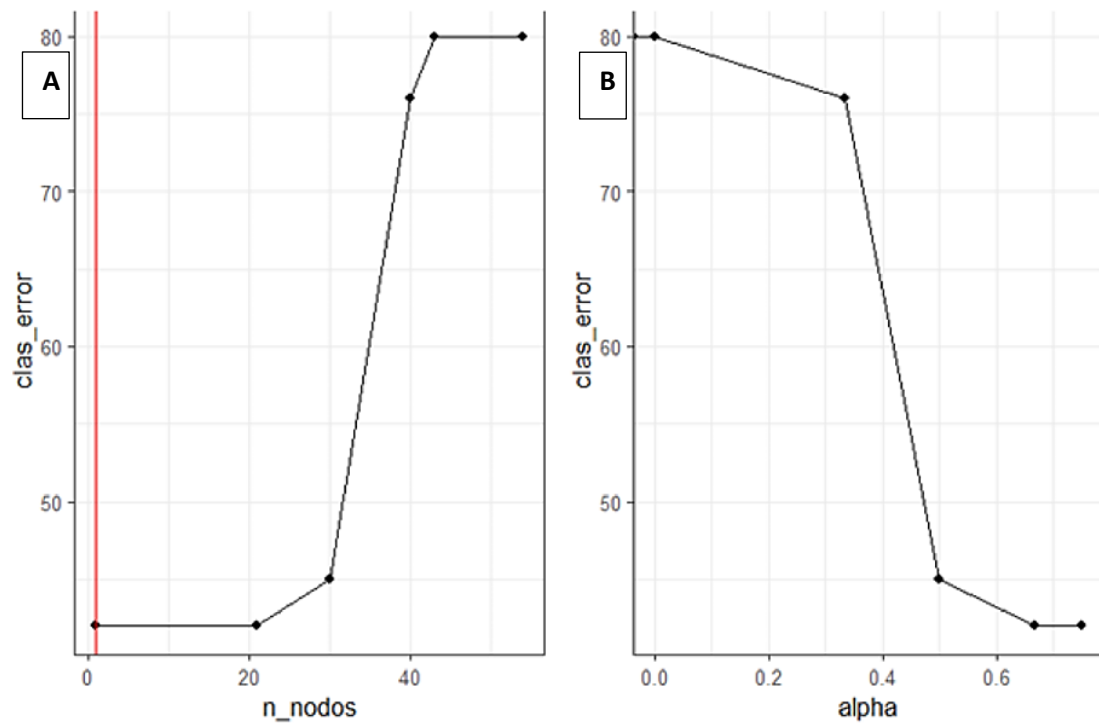
The RF model achieved an accuracy of 95.8%. The most important predictors for ARBO positive were identified as "P154," "P108," "P520," "P439," "P192," "P136," "P518," "P568," "P145," "P151," "P15," "P595," "P611," "P99," "P124," "P480," "P62," "P271," "P524," "P138," "P88," "P199," "P547," and "P255" (**Figure 2**).

**Figure 2.** Result of classification analysis using the Random Forest algorithm.



The performance of the classification model based on RF algorithm is illustrated in **Figure 3**. The first graph demonstrates a significant reduction in misclassification with an initial increase in the number of nodes, indicating that approximately 20 nodes are sufficient to minimize mismatch. Beyond this point, the error rate stabilizes, suggesting that adding more nodes does not significantly enhance performance, consistent with the need to balance model complexity to avoid overfitting. The second graph shows that misclassification initially decreases as the alpha penalty increases but begins to rise slightly after a critical point. This suggests that a moderate level of penalization improves model performance, with an optimal alpha value around 0.2 for this dataset.

**Figure 3.** Validation analyzes of the classification tree model **(A)** Classification error vs. tree size. **(B)** Classification error vs. alpha penalty.



### Random Forest and the importance of variables for seropositivity

The 24 questions selected by the algorithm are described, highlighting the variables associated with arbovirus seropositivity (see **Table 1**).

**Table 1.** Main variables for seropositivity identified by Random Forest analysis in São Sebastião, Distrito Federal, Brazil, 2020-2021.

<b>Code</b>	<b>Variable</b>	<b>Category</b>	<b>Type</b>
<b>P271</b>	Age	Individual	Contínunous and categorical
<b>P439</b>	Rural trip	Individual	Dichotomous
<b>P477</b>	Activivy	Individual	Dichotomous
<b>P518</b>	Work	Individual	Categorical
<b>P520</b>	Leisure	Individual	Categorical
<b>P524</b>	Exams	Individual	Dichotomous
<b>P547</b>	Myalgia and arthralgia	Individual	Dichotomous
<b>P568</b>	Local servisse	Individual	Categorical
<b>P595</b>	CHIKV not confirmed	Individual	Categorical
<b>P611</b>	YF not confirmed	Individual	Categorical
<b>P15</b>	Common symptoms	Perception and control	Categorical
<b>P62</b>	Mosquito water clean	Perception and control	Dichotomous
<b>P108</b>	Lack water	Household	Categorical
<b>P124</b>	Reform	Household	Dichotomous
<b>P136</b>	Roof shape	Household	Categorical
<b>P138</b>	Roof color	Household	Categorical
<b>P145</b>	Gutter cleaning	Household	Categorical
<b>P147</b>	External area	Household	Dichotomous
<b>P88</b>	Family number	Household	Categorical
<b>P99</b>	Room number	Household	Categorical
<b>P154</b>	External trees	Peridomestic	Categorical
<b>P192</b>	Wall height	Peridomestic	Categorical
<b>P199</b>	Solo exposed	Peridomestic	Dichotomous
<b>P255</b>	Trees around	Peridomestic	Categorical

Female participation was notably higher, although there were no significant differences between men and women concerning the ARBO variable. The mean age of ARBO-positive individuals was 42.7 years (SD  $\pm$  15.2), compared to 40.1 years (SD  $\pm$  13.9) in those ARBO non-positive ( $p < 0.05$ ). The predominant age group was 18 to 40 years, with no significant variations observed. Approximately 13% reported visiting rural areas outside the Federal District in the last three months, and more than half indicated that their main daily activity is work, with leisure also regularly practiced (**Table 2**).

**(Table 2 must be inserted here)**

Furthermore, among the interviewees, 44.4% (624/1,405) had utilized health services in the last three months. Nearly 26% sought these services primarily for examinations. Among individuals with chronic diseases, 6.2% (87/1,405) reported myalgia and arthralgia, with 64.3% (56/87) testing positive for ARBO antibodies. Specifically, about 8% (7/87) were positive for anti-chikungunya virus (CHIKV) IgG and/or IgM (**Table 2**).

Only 28.8% (406/1,405) of interviewees reported a history of dengue. Of these, 84.3% (342/406) sought medical attention, primarily at the Urgent and Emergency Care Unit (UPA). Approximately 68% (955/1,405) reported no history of dengue, yet 52.9% (505/955) tested positive for anti-dengue virus (DENV) IgM and/or IgG (**Table 2**).

Approximately 2.6% (34/1,288) of interviewees reported suspected chikungunya without confirmation. Among these, 14.7% (5/34) tested positive for anti-CHIKV IgG and/or IgM. Additionally, 1.2% (16/1,314) reported suspected but unconfirmed yellow fever. These findings are presented in **Table 2**.

Regarding the symptoms of dengue, fever, headache, and body aches were the most frequently reported. Concerning the breeding sites of the vector, the majority correctly identified clean water as a reproduction site, but approximately 32% of the

interviewees mistakenly believed that mosquitoes do not breed in this environment (Table 3).

**Table 3.** Perception about dengue associated with arbovirus seropositivity. São Sebastião, Federal District, Brazil, 2020-2021.

	ARBO		All	p-value
	positive	non-positive		
<b>Dengue symptoms</b>				
None	3 (0.3)	1 (0.2)	4 (0.3)	
1 - 3	656 (66.5)	304 (72.6)	960 (68.3)	
4 - 6	316 (32.0)	113 (27.0)	429 (30.5)	0.08
> 7	11 (1.1)	1 (0.2)	12 (0.9)	
Total			1,405	
<b>Vector reproduction in clear water</b>				
Yes	658 (66.7)	302 (72.1)	960 (68.3)	
No	328 (33.3)	117 (27.9)	445 (31.7)	0.06
Total			1,405	

Household characteristics were assessed in relation to arbovirus seropositivity. Water shortages were infrequent or never occurred in households, with a significant majority of those reporting never experiencing shortages belonging to the non-positive ARBO group ( $p < 0.05$ ). A notable proportion of residences were undergoing renovation, and 72.6% (173/238) of these were ARBO positive (Table 4).

**(Table 4 must be inserted here)**

Sloping and gray roofs were predominant among ARBO-positive households, whereas flat roofs were more common among non-positive ARBO households. Significant differences in roof shape and color were observed between the ARBO groups ( $p < 0.05$ ). Approximately a quarter of the interviewees admitted to never cleaning their gutters, with a higher proportion of non-cleaners among ARBO-positive

individuals compared to non-positive individuals who tended to clean annually (**Table 4**).

Most participating households had outdoor areas, and 30% (430/1405) had multiple families living on the same lot. The most common range was 1 to 5 families, with a higher prevalence of 6 to 10 families among ARBO-positive households compared to non-positive ones. Significant differences were observed between the groups in terms of the number of rooms ( $p < 0.05$ ), with more households having  $>12$  rooms among non-positive ARBO compared to ARBO-positive households. Refer to **Table 4** for detailed data.

In the peridomicile, most residences had between 1 to 10 external trees, primarily positioned either "only on one side" or "on all sides," indicating significant afforestation. Approximately 69% of the houses had walls with heights ranging from 2.1 to 3.0 meters, a consistency observed in almost 64% of the homes, with no significant differences between the groups. The streets were predominantly covered with soil; however, approximately 4% had exposed soil, of which about 80% (44/54) were associated with residents exposed to arboviruses (**Table 5**).

**Table 5.** Peridomestic characteristics associated with arbovirus seropositivity. São Sebastião, Federal District, Brazil, 2020-2021.

	ARBO		All	p-value
	positive	non-positive		
<b>Trees outside</b>				
1 - 10	422 (94.0)	201 (96.2)	623 (94.7)	0.32
11 - 20	8 (1.8)	4 (1.9)	12 (1.8)	
> 20	19 (4.2)	4 (1.9)	23 (3.5)	
Total			658	
<b>Wall height</b>				
0.5 - 2.0	215 (30.3)	79 (30.9)	294 (30.5)	0.91
2.1 - 3.0	454 (64.0)	161 (62.9)	615 (63.7)	
> 3.0	40 (5.6)	16 (6.3)	56 (5.8)	
Total			965	
<b>Exposed soil</b>				
Yes	44 (4.5)	10 (2.4)	54 (3.8)	0.08
No	942 (95.5)	409 (97.6)	1351 (96.2)	
Total			1,405	
<b>Trees around</b>				
On all sides	237 (24.3)	96 (23.0)	333 (23.9)	0.63
On two sides	182 (18.6)	91 (21.8)	273 (19.6)	
On three sides	62 (6.3)	22 (5.3)	84 (6.0)	
Only on one side	310 (31.7)	134 (32.1)	444 (31.9)	
On neither side	186 (19.0)	74 (17.7)	260 (18.7)	
Total			1,394	

## DISCUSSION

We estimated the seroprevalence of multiple arboviruses in a hyperendemic dengue area of the country and identified associated factors using machine learning techniques. A high seroprevalence of 70% was estimated in a representative sample of the population, which included asymptomatic individuals at their homes, not solely those seeking health services. This finding is significant as the WHO recommends a seroprevalence of  $\geq 70\%$  for dengue vaccine trials. São Sebastião, being a clinical

trial site for the Butantan vaccine [33], confirms its hyperendemic status based on our results.

Seroprevalence studies frequently report individual estimates for each arbovirus. Worldwide, the seroprevalence was estimated at 38% for dengue (95% CI: 32–43), 18% for Zika (95% CI: 12–25), and 25% for chikungunya (95% CI: 22–29) [34]. It is crucial to note that seroprevalence can vary significantly based on factors such as the study population, geographic location, and the specific serological tests employed. Therefore, comparisons should be made cautiously, taking these factors into consideration.

We employed RF to screen predictor variables, given the complexity of the questionnaire utilized, and conducted univariate analyses to assess differences between groups. Although 24 variables were identified as important for the ARBO-positive outcome, they did not show statistical significance in the univariate analyses. RF is designed to optimize predictive accuracy rather than to identify variables that are traditionally statistically significant [35]. It is important to note that RF assesses variable importance based on both individual impact and interactions with other predictors, capturing complex relationships that may not be detected by univariate tests [36].

Although the gender variable was not selected by RF, we included it for population characterization purposes. We found no significant differences between men and women in exposure to arboviruses, consistent with previous studies [37, 38]. Additionally, we identified an association between older age and increased exposure to arboviruses, which aligns with prior research findings [39–42].

We noted a significant level of urban mobility among the interviewees, who commute daily for work and leisure activities, as well as travel to rural areas. Previous studies suggest that such mobility plays a crucial role in virus transmission, facilitating their spread between urban and rural setting. These environments often feature agricultural activities and the presence of domestic animals, which create favorable conditions for vector proliferation [38, 43].

Interviewees suspected they had chikungunya but were not diagnosed, highlighting the necessity to enhance access to specific laboratory tests, particularly in endemic regions. Our findings indicated that approximately 8% (7/87) of patients reporting myalgia and arthralgia tested positive for anti-CHIKV IgG and/or IgM antibodies. This highlights the persistence of joint symptoms following chikungunya infection, suggesting that many patients with chronic pain may have had undiagnosed cases [44–46].

Most respondents sought medical care at UPA when presenting symptoms of dengue, indicating a perception of severity and an appropriate response. However, many infections may be asymptomatic or mild and thus undiagnosed. Despite nearly 70% of respondents claiming not to have had dengue, more than half were positive for anti-DENV antibodies, suggesting silent transmissions and an underestimated burden of the disease [38, 42, 47]. Symptoms such as fever, headache, and myalgia were widely recognized, as reported in other studies [48, 49], which is crucial for encouraging medical consultation. However, we observed misinformation regarding mosquito breeding in clean water, which is concerning as it may lead to neglect in eliminating breeding sites. Addressing this misconception through educational campaigns is crucial for enhancing vector control practices.

Water shortages were rare or non-existent in most households. However, among those with a continuous water supply, the majority belonged to the non-positive ARBO group. Our findings indicate that uninterrupted piped water supply was associated with lower arbovirus infection [47, 50], whereas frequent interruptions necessitated water storage and correlated with higher arbovirus seroprevalence [51–53]. Among households undergoing renovation, 72.6% (173/238) tested positive for arboviruses, underscoring the potential risk increase due to stagnant water accumulation.

The presence of outdoor areas and multiple families on the same plot increases the risk of arboviruses due to potential mosquito breeding sites and higher population density [52]. Significant differences were observed between the ARBO groups concerning the number of rooms, with a higher proportion of residences having >12 rooms in the non-positive ARBO group. These associations have been documented in prior research [50, 54]. Moreover, the presence of 6 to 10 families per plot was more frequent among positive cases. Previous studies have also identified correlations between arboviruses and household size [51, 52, 55].

We found significant differences between the ARBO groups regarding the shape and color of the roof. Sloped roofs, predominant among ARBO positive patients, may be associated with other risk factors, such as the architecture of the residences or maintenance conditions. Conversely, a higher proportion of flat roofs among non-positive ARBO cases suggests effective control measures may be mitigating risk. The color of the roof, particularly gray, can influence mosquito presence by affecting temperature and microclimate. Regular gutter maintenance was more common among non-positive ARBO cases, whereas lack of cleaning was more frequent among ARBO-positive individuals, associating inadequate maintenance practices

with higher arbovirus incidence. Interventions focused on eliminating breeding sites have proven effective in arbovirus control efforts [56].

Our results showed notable tree cover in the peridomestic area. Trees can create favorable microenvironments for mosquito proliferation, providing shade and humidity that can increase vector survival, especially if the management of urban green areas is inadequate. On the other hand, studies suggest that mosquitoes may find more suitable environments in deforested areas compared to intact forests [57]. Urbanization, often associated with deforestation, can also create optimal habitats for *Aedes* mosquitoes [58].

The relationship between green areas and arboviruses is complex and influenced by multiple factors. For instance, *Ae. aegypti* typically has an average flight range of approximately 106 meters [59] and exhibits a preference for breeding and feeding in areas close to the ground [60]. While the presence of high walls, observed in 69% of households, can serve as physical barriers, no significant differences were noted between the ARBO groups regarding this factor. Additionally, exposed soil in urban areas, where puddles accumulate after rainfall, creates favorable conditions for mosquito breeding [61]. Despite the predominance of street coverage, 80% of individuals residing on streets with exposed soil tested positive for arboviruses.

Our analysis could not determine which specific arboviruses the predictive variables were most relevant for due to the non-independence of the data. As the same individual may have positive results for all three evaluated arboviruses. Consequently, we treated all arboviruses as a single group, which may limit the identification of specific nuances. However, we provide valuable insights into diseases transmitted by a common vector. To our knowledge, this is the first study to use machine learning to assess factors associated with arboviral diseases in the Central-West region of Brazil.

Unlike most studies that rely on secondary data, which can be compromised in terms of completeness and quality, our study used primary data, ensuring greater accuracy and completeness. Additionally, our approach included the assessment of both IgM and IgG antibodies, offering a more comprehensive view of arboviral diseases compared to most surveys that only evaluate IgG antibodies.

## **CONCLUSIONS**

Our study revealed a high seroprevalence of multiple urban arboviruses, indicating intense vector circulation in the investigated area. By using machine learning techniques, we identified significant predictive variables for arbovirus exposure, highlighting the utility of these tools in managing complex data. These findings are crucial for the development of public health policies and vector control strategies, emphasizing the need for an integrated approach that considers both environmental management and community education to effectively reduce the burden of arboviral diseases. Furthermore, the results point to the existence of silent transmissions and an underestimation of the disease burden, underscoring the urgent need to improve diagnostics and surveillance, as many cases may remain unidentified or inadequately treated.

## **LIST OF ABBREVIATIONS**

**ARBO:** Arbovirus

**CI:** Confidence interval

**CHIKV:** Chikungunya Virus

**DENV:** Dengue Virus

**ELISA:** Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

**IgG:** Immunoglobulin G

**IgM:** Immunoglobulin M

**RF:** Random Forest

**ZIKV:** Zika Virus

## **DECLARATIONS**

### **Ethics approval and consent to participate**

The study was submitted and approved by the Research Ethics Committee of the Universidade de Brasília (CAAE: 07443418.4.0000.5558). All participants provided their voluntary informed consent to participate in the research by signing the informed consent form.

### **Consent for publication**

Not applicable.

### **Availability of data and materials**

The datasets used and/or analysed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

### **Competing interests**

The authors declare that they have no competing interests.

## **Funding**

This study was funded by: the Sentinela International Joint Laboratory (LMI Sentinela), a formal partnership between the French national research institute for sustainable development (Institut de Recherche pour le Développement, IRD), the University of Brasília (UnB) and the Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz); the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES); the Ministry of Education, Brazil - Finance Code 001; and the Pan-American Health Organization (PAHO).

## **Authors' contributions**

ALDF, ELLA, ER, PC, PH, HG, and WMR were responsible for the overall conception and design of the study. TN and WMR participated in field data collection. TN and NJ performed the laboratory assays. TN, WMR, and NJ supervised both the field data collection and the laboratory assays. TN, BD, WMR, and NJ were responsible for the analysis and interpretation of the data. TN, NJ, and WMR reviewed the literature and wrote the manuscript. WMR served as the research coordinator. MH, PH and LH provided substantial revisions. All authors made the critical reading and contributed to the elaboration of the final version of this manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

## **Acknowledgments**

We thank all the members of the ZARICS Project for their support in the field activities. We are also grateful to Dr. Rodrigo Haddad, Head of the Molecular Diagnostic Laboratory at the University Hospital of the University of Brasília (HUB/UnB) for providing laboratory space for sample processing. Finally, we thank CAPES for the incentive towards qualification and the financial support granted.

## RERERENCES

1. Guzman MG, Alvarez M, Halstead SB. Secondary infection as a risk factor for dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome: an historical perspective and role of antibody-dependent enhancement of infection. *Arch Virol*. 2013;158:1445–59.
2. de Araújo TVB, Ximenes RA de A, Miranda-Filho D de B, Souza WV, Montarroyos UR, de Melo APL, et al. Association between microcephaly, Zika virus infection, and other risk factors in Brazil: final report of a case-control study. *Lancet Infect Dis*. 2018;18:328–36.
3. Freitas ARR, Donalisio MR, Alarcón-Elbal PM. Excess Mortality and Causes Associated with Chikungunya, Puerto Rico, 2014–2015. *Emerg Infect Dis*. 2018;24:2352–5.
4. Santos LLM, de Aquino EC, Fernandes SM, Ternes YMF, Feres VC de R. Dengue, chikungunya, and Zika virus infections in Latin America and the Caribbean: a systematic review. *Revista Panamericana de Salud Pública*. 2023;47:1.
5. Fuller TL, Calvet G, Genaro Estevam C, Rafael Angelo J, Abiodun GJ, Halai U-A, et al. Behavioral, climatic, and environmental risk factors for Zika and Chikungunya virus infections in Rio de Janeiro, Brazil, 2015-16. *PLoS One*. 2017;12:e0188002.
6. Chien L-C, Sy F, Pérez A. Identifying high risk areas of Zika virus infection by meteorological factors in Colombia. *BMC Infect Dis*. 2019;19:888.
7. Mwanyika GO, Sindato C, Rugarabamu S, Rumisha SF, Karimuribo ED, Misinzo G, et al. Seroprevalence and associated risk factors of chikungunya, dengue, and Zika in eight districts in Tanzania. *Int J Infect Dis*. 2021;111:271–80.
8. Bonifay T, Douine M, Bonnefoy C, Hurpeau B, Nacher M, Djossou F, et al. Poverty and Arbovirus Outbreaks: When Chikungunya Virus Hits More Precarious Populations Than Dengue Virus in French Guiana. *Open Forum Infect Dis*. 2017;4.
9. Gardner LM, Bóta A, Gangavarapu K, Kraemer MUG, Grubaugh ND. Inferring the risk factors behind the geographical spread and transmission of Zika in the Americas. *PLoS Negl Trop Dis*. 2018;12:e0006194.
10. Adams LE, Sánchez-González L, Rodríguez DM, Ryff K, Major C, Lorenzi O, et al. Risk factors for infection with chikungunya and Zika viruses in southern Puerto Rico: A community-based cross-sectional seroprevalence survey. *PLoS Negl Trop Dis*. 2022;16:e0010416.
11. Ministério da Saúde. Série histórica - Casos prováveis de dengue - (2000-2023). <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dengue/situacao->

epidemiologica/serie-historica-casos-provaveis-de-dengue-2000-2023/view. Accessed 19 May 2024.

12. CODEPLAN. Pesquisa Distrital por Amostra de Domicílios (PDAD), São Sebastião. 2022. <https://www.codeplan.df.gov.br/pdad-2021-3/>. Accessed 8 Jul 2024.

13. Neto SR da S. Binary Models for Arboviruses Classification Using Machine Learning. Proceedings of the 56th Hawaii International Conference on System Sciences . 2023. <https://scholarspace.manoa.hawaii.edu/items/851b67ab-749d-4b70-b19b-5ee8a8aba69a>. Accessed 8 Jul 2024.

14. Eng CL, Tong JC, Tan TW. Predicting host tropism of influenza A virus proteins using random forest. *BMC Med Genomics*. 2014;7:S1.

15. Walk D. Using Random Forest Methods to Identify Factors Associated with Diabetic Neuropathy: A Novel Approach. *Pain Medicine*. 2017;18:1–2.

16. Manoochehri Z, Barati M, Faradmaj J, Manoochehri S. Random forest model to identify factors associated with anabolic-androgenic steroid use. *BMC Sports Sci Med Rehabil*. 2021;13:30.

17. Ramírez-del Real T, Martínez-García M, Márquez MF, López-Trejo L, Gutiérrez-Esparza G, Hernández-Lemus E. Individual Factors Associated With COVID-19 Infection: A Machine Learning Study. *Front Public Health*. 2022;10:912099.

18. Soogun AO, Kharsany ABM, Zewotir T, North D, Ogunsakin RE. Identifying Potential Factors Associated with High HIV viral load in KwaZulu-Natal, South Africa using Multiple Correspondence Analysis and Random Forest Analysis. *BMC Med Res Methodol*. 2022;22:174.

19. Breiman L. Random forests. *Mach Learn*. 2001;45:5–32.

20. Alexander J, Wilke ABB, Mantero A, Vasquez C, Petrie W, Kumar N, et al. Using machine learning to understand microgeographic determinants of the Zika vector, *Aedes aegypti*. *PLoS One*. 2022;17:e0265472.

21. Silveira FR de V, Moreira LYMR. utilização de algoritmos de aprendizagem de máquina na predição de arboviroses transmitidas pelo *Aedes aegypti*. *Conexões - Ciência e Tecnologia*. 2020;14:64–71.

22. Santos CY, Tuboi S, de Jesus Lopes de Abreu A, Abud DA, Lobao Neto AA, Pereira R, et al. A machine learning model to assess potential misdiagnosed dengue hospitalization. *Heliyon*. 2023;9:e16634.

23. Ong J, Liu X, Rajarethinam J, Kok SY, Liang S, Tang CS, et al. Mapping dengue risk in Singapore using Random Forest. *PLoS Negl Trop Dis*. 2018;12:e0006587.
24. Rodrigues NCP, Daumas RP, de Almeida AS, dos Santos RS, Koster I, Rodrigues PP, et al. Risk factors for arbovirus infections in a low-income community of Rio de Janeiro, Brazil, 2015-2016. *PLoS One*. 2018;13:e0198357.
25. Catenacci LS, Ferreira MS, Fernandes D, Padda H, Travassos-da-Rosa ES, Deem SL, et al. Individual, household and environmental factors associated with arboviruses in rural human populations, Brazil. *Zoonoses Public Health*. 2021;68:203–12.
26. Ferreira DT de O, Atanaka M, Espinosa MM, Schuler-Faccini L, Caldeira A da S, Silva JH da, et al. Recent dengue virus infection: epidemiological survey on risk factors associated with infection in a medium-sized city in Mato Grosso. *Sao Paulo Medical Journal*. 2022;140:33–41.
27. Dalvi APR, Gibson G, Ramos AN, Bloch K V., Sousa G dos S de, Silva TLN da, et al. Sociodemographic and environmental factors associated with dengue, Zika, and chikungunya among adolescents from two Brazilian capitals. *PLoS Negl Trop Dis*. 2023;17:e0011197.
28. Kajeguka DC, Mponela FM, Mkumbo E, Kaaya AN, Lasway D, Kaaya RD, et al. Prevalence and Associated Factors of Dengue Virus Circulation in the Rural Community, Handeni District in Tanga, Tanzania. *J Trop Med*. 2023;2023:1–9.
29. CODEPLAN. COMPATIBILIZAÇÃO ENTRE AS PROJEÇÕES POPULACIONAIS, A PDAD 2018 E A NOVA DELIMITAÇÃO (OFICIAL) DAS REGIÕES ADMINISTRATIVAS DO DISTRITO FEDERAL. 2020. <https://www.codeplan.df.gov.br/wp-content/uploads/2020/06/NT-Compatibiliza%C3%A7%C3%A3o-entre-as-proje%C3%A7%C3%B5es-populacionais-a-PDAD-2018-e-a-nova-delimita%C3%A7%C3%A3o-oficial-das-Regi%C3%B5es-Administrativas-do-DF.pdf>. Accessed 8 Jul 2024.
30. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. CNEFE - Cadastro Nacional de Endereços para Fins Estatísticos. <https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/populacao/38734-cadastro-nacional-de-enderecos-para-fins-estatisticos.html?=&t=downloads>. Accessed 8 Jul 2024.
31. Harris PA, Taylor R, Thielke R, Payne J, Gonzalez N, Conde JG. Research electronic data capture (REDCap)—A metadata-driven methodology and workflow process for providing translational research informatics support. *J Biomed Inform*. 2009;42:377–81.
32. Brecht Devleeschauwer PTJCBLNPPDDB and NS. Package “prevalence” Title Tools for Prevalence Assessment Studies. 2013.

33. Kallás EG, Cintra MAT, Moreira JA, Patiño EG, Braga PE, Tenório JCV, et al. Live, Attenuated, Tetravalent Butantan–Dengue Vaccine in Children and Adults. *New England Journal of Medicine*. 2024;390:397–408.
34. Li Z, Wang J, Cheng X, Hu H, Guo C, Huang J, et al. The worldwide seroprevalence of DENV, CHIKV and ZIKV infection: A systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2021;15:e0009337.
35. Strobl C, Boulesteix A-L, Zeileis A, Hothorn T. Bias in random forest variable importance measures: Illustrations, sources and a solution. *BMC Bioinformatics*. 2007;8:25.
36. Strobl C, Boulesteix A-L, Kneib T, Augustin T, Zeileis A. Conditional variable importance for random forests. *BMC Bioinformatics*. 2008;9:307.
37. Kikuti M, Cunha GM, Paploski IAD, Kasper AM, Silva MMO, Tavares AS, et al. Spatial Distribution of Dengue in a Brazilian Urban Slum Setting: Role of Socioeconomic Gradient in Disease Risk. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;9:e0003937.
38. Power GM, Vaughan AM, Qiao L, Sanchez Clemente N, Pescarini JM, Paixão ES, et al. Socioeconomic risk markers of arthropod-borne virus (arbovirus) infections: a systematic literature review and meta-analysis. *BMJ Glob Health*. 2022;7:e007735.
39. Ochieng C, Ahenda P, Vittor AY, Nyoka R, Gikunju S, Wachira C, et al. Seroprevalence of Infections with Dengue, Rift Valley Fever and Chikungunya Viruses in Kenya, 2007. *PLoS One*. 2015;10:e0132645.
40. Obaidat MM, Roess AA. First report on seroprevalence and risk factors of dengue virus in Jordan. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2018;112:279–84.
41. Rodrigues NCP, Daumas RP, de Almeida AS, dos Santos RS, Koster I, Rodrigues PP, et al. Risk factors for arbovirus infections in a low-income community of Rio de Janeiro, Brazil, 2015-2016. *PLoS One*. 2018;13:e0198357.
42. Chiaravalloti-Neto F, da Silva RA, Zini N, da Silva GCD, da Silva NS, Parra MCP, et al. Seroprevalence for dengue virus in a hyperendemic area and associated socioeconomic and demographic factors using a cross-sectional design and a geostatistical approach, state of São Paulo, Brazil. *BMC Infect Dis*. 2019;19:441.
43. Gerken KN, Mutuku FM, Ndenga BA, Agola GA, Migliore E, Fabre EP, et al. Urban risk factors for human Rift Valley fever virus exposure in Kenya. *PLOS Global Public Health*. 2022;2:e0000505.

44. Chang AY, Encinales L, Porras A, Pacheco N, Reid StP, Martins KAO, et al. Frequency of Chronic Joint Pain Following Chikungunya Virus Infection. *Arthritis & Rheumatology*. 2018;70:578–84.
45. Heath CJ, Lowther J, Noël TP, Mark-George I, Boothroyd DB, Mitchell G, et al. The Identification of Risk Factors for Chronic Chikungunya Arthralgia in Grenada, West Indies: A Cross-Sectional Cohort Study. *Open Forum Infect Dis*. 2018;5.
46. Abella J, Rojas Á, Rojas C, Rondón F, Medina Y, Peña M, et al. Clinical and immunological features of post-chikungunya virus chronic arthritis and its effect on functional ability and quality of life in a cohort of Colombian patients. *Revista Colombiana de Reumatología (English Edition)*. 2019;26:253–9.
47. Pereira Y, Samudio M, Ojeda A, Cabello Á. Seroprevalencia de la infección por dengue en un distrito del Chaco Paraguayo: Estudio poblacional. *Revista chilena de infectología*. 2015;32:618–27.
48. Chang C-J, Chen CS, Tien C-J, Lu M-R. Epidemiological, clinical and climatic characteristics of dengue fever in Kaohsiung City, Taiwan with implication for prevention and control. *PLoS One*. 2018;13:e0190637.
49. Khan MdAS, Al Mosabbir A, Raheem E, Ahmed A, Rouf RR, Hasan M, et al. Clinical spectrum and predictors of severity of dengue among children in 2019 outbreak: a multicenter hospital-based study in Bangladesh. *BMC Pediatr*. 2021;21:478.
50. Kenneson A, Beltrán-Ayala E, Borbor-Cordova MJ, Polhemus ME, Ryan SJ, Endy TP, et al. Social-ecological factors and preventive actions decrease the risk of dengue infection at the household-level: Results from a prospective dengue surveillance study in Machala, Ecuador. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11:e0006150.
51. Hortion J, Mutuku FM, Eyherabide AL, Vu DM, Boothroyd DB, Grossi-Soyster EN, et al. Acute Flavivirus and Alphavirus Infections among Children in Two Different Areas of Kenya, 2015. *Am J Trop Med Hyg*. 2019;100:170–3.
52. Al-Raddadi R, Alwafi O, Shabouni O, Akbar N, Alkhalawi M, Ibrahim A, et al. Seroprevalence of dengue fever and the associated sociodemographic, clinical, and environmental factors in Makkah, Madinah, Jeddah, and Jizan, Kingdom of Saudi Arabia. *Acta Trop*. 2019;189:54–64.
53. Burger-Calderon R, Gonzalez K, Ojeda S, Zambrana JV, Sanchez N, Cerpas Cruz C, et al. Zika virus infection in Nicaraguan households. *PLoS Negl Trop Dis*. 2018;12:e0006518.

54. Soghaier MA, Himatt S, Osman KE, Okoued SI, Seidahmed OE, Beatty ME, et al. Cross-sectional community-based study of the socio-demographic factors associated with the prevalence of dengue in the eastern part of Sudan in 2011. *BMC Public Health*. 2015;15:558.
55. Sissoko D, Moendandze A, Malvy D, Giry C, Ezzedine K, Solet JL, et al. Seroprevalence and Risk Factors of Chikungunya Virus Infection in Mayotte, Indian Ocean, 2005-2006: A Population-Based Survey. *PLoS One*. 2008;3:e3066.
56. Oliver J, Larsen S, Stinear TP, Hoffmann A, Crouch S, Gibney KB. Reducing mosquito-borne disease transmission to humans: A systematic review of cluster randomised controlled studies that assess interventions other than non-targeted insecticide. *PLoS Negl Trop Dis*. 2021;15:e0009601.
57. Morand S, Lajaunie C. Outbreaks of Vector-Borne and Zoonotic Diseases Are Associated With Changes in Forest Cover and Oil Palm Expansion at Global Scale. *Front Vet Sci*. 2021;8.
58. Kolimenakis A, Heinz S, Wilson ML, Winkler V, Yakob L, Michaelakis A, et al. The role of urbanisation in the spread of *Aedes* mosquitoes and the diseases they transmit—A systematic review. *PLoS Negl Trop Dis*. 2021;15:e0009631.
59. Moore TC, Brown HE. Estimating *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Flight Distance: Meta-Data Analysis. *J Med Entomol*. 2022;59:1164–70.
60. Myer MH, Fizer CM, Mcpherson KR, Neale AC, Pilant AN, Rodriguez A, et al. Mapping *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) and *Aedes albopictus* Vector Mosquito Distribution in Brownsville, TX. *J Med Entomol*. 2020;57:231–40.
61. Kajeguka DC, Mponela FM, Mkumbo E, Kaaya AN, Lasway D, Kaaya RD, et al. Prevalence and Associated Factors of Dengue Virus Circulation in the Rural Community, Handeni District in Tanga, Tanzania. *J Trop Med*. 2023;2023:1–9.

**Table 2.** Individual characteristics associated with arbovirus seropositivity. São Sebastião, Federal District, Brazil, 2020-2021.

	ARBO		All	p-value
	positive	non-positive		
<b>Age group</b>				
7 - 17	17 (1.8)	8 (2.0)	25 (1.9)	0.58
18 - 40	428 (45.7)	192 (49.1)	620 (46.7)	
41 - 60	358 (38.2)	162 (41.4)	520 (39.2)	
61 - 87	133 (14.2)	29 (7.4)	162 (12.2)	
Total			1,327	
<b>Trip to rural area</b>				
Yes	120 (12.2)	62 (14.8)	182 (12.9)	0.20
No	866 (87.8)	357 (85.2)	1,223 (87.0)	
Total			1,405	
<b>Main activities</b>				
Work	503 (53.7)	202 (51.1)	705 (52.9)	0.09
Education	37 (3.9)	18 (4.6)	55 (4.1)	
Leisure	92 (9.8)	26 (6.6)	118 (8.9)	
Other	229 (24.4)	120 (30.4)	349 (26.2)	
Don't know	76 (8.1)	29 (7.3)	105 (7.9)	
Total			1,332	
<b>Work frequency</b>				
Daily	410 (81.8)	157 (78.5)	567 (80.9)	0.71
Weekly	85 (17.0)	41 (20.5)	126 (18.0)	
Monthly	3 (0.6)	1 (0.5)	4 (0.6)	
Don't know	3 (0.6)	1 (0.5)	4 (0.6)	
Total			701	
<b>Leisure frequency</b>				
Daily	64 (43.2)	20 (40.0)	84 (42.4)	0.75
Weekly	49 (33.1)	21 (42.0)	70 (35.4)	
Monthly	22 (14.9)	6 (12.0)	28 (14.1)	
Don't know	13 (8.8)	3 (6.0)	16 (8.1)	
Total			198	
<b>Exams</b>				
Yes	241 (24.6)	118 (28.2)	359 (25.7)	0.19
No	743 (75.4)	301 (71.8)	1,044 (74.3)	
Total			1,405	
<b>Myalgia and arthralgia</b>				
Yes	56 (5.7)	31 (7.4)	87 (6.2)	0.27
No	930 (94.3)	388 (92.6)	1,318 (93.8)	
Total			1,405	

<b>Dengue care location</b>				
Health center	52 (16.5)	4 (13.8)	56 (16.3)	
UPA	168 (53.3)	17 (58.6)	185 (53.8)	
Hospital	71 (22.5)	5 (17.2)	76 (22.1)	
Private clinic	12 (3.8)	2 (6.9)	14 (4.1)	0.74
Other	6 (1.9)	0 (0)	6 (1.7)	
Don't know	6 (1.9)	1 (3.4)	7 (2.0)	
Total			344	
<b>Unconfirmed chikungunya</b>				
Yes	29 (3.3)	5 (1.3)	34 (2.6)	
No	829 (93.0)	376 (94.7)	1,205 (93.6)	0.11
Don't know	33 (3.7)	16 (4.0)	49 (3.8)	
Total			1,288	
<b>Unconfirmed yellow fever</b>				
Yes	11 (1.2)	5 (16.2)	16 (1.2)	
No	874 (95.7)	382 (95.3)	1,256 (95.6)	0.92
Don't know	28 (3.1)	14 (3.5)	42 (3.2)	
Total			1,314	

---

**Table 4.** Household characteristics associated with arbovirus seropositivity. São Sebastião, Federal District, Brazil, 2020-2021.

	ARBO		All	p-value
	positive	non-positive		
<b>Lack of water</b>				
Always	22 (2.2)	6 (1.4)	28 (2.0)	
Often	57 (5.8)	18 (4.3)	75 (5.3)	
Regularly	78 (7.9)	27 (6.4)	105 (7.5)	
Rarely	488 (49.5)	191 (45.6)	679 (48.3)	0.04
Never	312 (31.6)	169 (40.3)	481 (34.2)	
Don't know	29 (2.9)	8 (1.9)	37 (2.6)	
Total			1,405	
<b>Reform</b>				
Yes	173 (17.8)	65 (15.7)	238 (17.2)	
No	797 (82.2)	350 (84.3)	1147 (82.8)	0.36
Total			1,385	
<b>Roof shape</b>				
Plan	302 (31.1)	186 (44.5)	488 (35.1)	
Slope/Inclined	629 (64.7)	223 (53.3)	852 (61.3)	
Both	36 (3.7)	5 (1.2)	41 (2.9)	< 0.01
Other	5 (0.5)	4 (1.0)	9 (0.6)	
Total			1,390	
<b>Roof color</b>				
Orange	117 (12.0)	55 (13.3)	172 (12.3)	
Green	1 (0.1)	0 (0)	1 (0.1)	
Brown	21 (2.1)	8 (1.9)	29 (2.1)	
Beige	5 (0.5)	7 (1.7)	12 (0.9)	
Grey	610 (62.4)	207 (49.9)	817 (58.7)	< 0.01
Reddish	56 (5.7)	28 (6.7)	84 (6.0)	
Other	12 (1.2)	3 (0.7)	15 (1.1)	
Not possible to observe	156 (16.0)	107 (25.8)	263 (18.9)	
Total			1,393	
<b>Gutter cleaning</b>				
Weekly	22 (5.0)	13 (7.2)	35 (5.7)	
Monthly	61 (14.0)	26 (14.4)	87 (14.1)	
Biannual	112 (25.7)	39 (21.5)	151 (24.5)	
Annual	109 (25.0)	58 (32.0)	167 (27.1)	0.33
Never	120 (27.5)	40 (22.1)	160 (25.9)	
Other	12 (2.8)	5 (2.8)	17 (2.8)	
Total			617	
<b>External area</b>				

Yes	966 (98.0)	412 (98.3)	1378 (98.1)	
No	20 (2.0)	7 (1.7)	27 (1.9)	0.81
Total			1,405	
<b>Number of families</b>				
1 - 5	287 (92.6)	102 (96.2)	389 (93.5)	
6 - 10	18 (5.8)	3 (2.8)	21 (5.0)	0.41
> 10	5 (1.6)	1 (0.9)	6 (1.4)	
Total			416	
<b>Number of rooms</b>				
1 - 5	432 (44.0)	147 (35.3)	579 (41.4)	
6 - 12	469 (47.8)	223 (53.5)	692 (49.5)	< 0.05
> 12	81 (8.2)	47 (11.2)	128 (9.1)	
Total			1,399	

---

## 6. CONCLUSÕES

- 1) Aproximadamente 70% da população de São Sebastião já foi exposta a dengue, zika e/ou chikungunya e múltiplos arbovírus co-circulam na região;
- 2) A maioria dos indivíduos apresentou perfil de infecção prévia pelos arbovírus avaliados, no entanto, uma proporção considerável estava em fase de transição para a convalescença;
- 3) Cerca de 5,7% a 9,0% da população avaliada foi infectada mais de uma vez por DENV;
- 4) O avanço da idade, baixo nível de escolaridade, interrupção no abastecimento de água, formato e cor do telhado e número de quartos foram significativamente associados a soropositividade à arbovírus;
- 5) A disparidade entre os relatos de infecção por arbovírus e as evidências sorológicas sugerem uma circulação silenciosa dos vírus na população avaliada;
- 6) A ocorrência das arboviroses urbanas pode ser até 84 vezes maior do que o que é capturado pela vigilância epidemiológica.
- 7) Foram detectadas reações cruzadas em kits diagnósticos validados e licenciados pela ANVISA. Isso ressalta a complexidade do diagnóstico em contextos de co-circulação de múltiplos arbovírus e a necessidade urgente de investimentos em pesquisas para desenvolver testes mais acurados.

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo teve como objetivo estimar a soroprevalência das infecções por DENV, ZIKV e CHIKV na população de São Sebastião, estimar a proporção de infecções primárias e secundárias por DENV, identificar fatores associados à soropositividade, avaliar a concordância entre autorrelato e confirmação sorológica e comparar a soroprevalência encontrada com os dados da vigilância epidemiológica.

Os resultados revelaram uma alta prevalência de infecções prévias por dengue, destacando a necessidade de estratégias integradas para prevenção e controle. Em relação a Zika e chikungunya, muitos indivíduos ainda são suscetíveis, indicando um risco de novas epidemias caso ocorram novos padrões de transmissão. A estimativa de que entre 5,7% a 9,0% da população foi infectada mais de uma vez por DENV sugere a circulação de múltiplos sorotipos e susceptibilidade à dengue grave. Este achado reforça a importância de estratégias de controle que considerem a dinâmica de infecções múltiplas, bem como o desenvolvimento de intervenções que previnam novas infecções e manejem adequadamente os casos existentes.

Fatores como idade avançada, baixo nível de escolaridade, interrupção no abastecimento de água, formato e cor do telhado, e número de quartos foram significativamente associados à soropositividade. Isso sublinha a necessidade de intervenções direcionadas às populações vulneráveis e de políticas públicas que melhorem as condições de vida e saneamento por meio de programas de educação em saúde e melhorias na infraestrutura básica.

A disparidade entre os registros do SINAN e as evidências sorológicas obtidas indicam uma circulação silenciosa dos vírus. A comparação entre a soroprevalência estimada e os casos registrados pela vigilância epidemiológica revela que a ocorrência das arboviroses urbanas pode ser até 84 vezes maior, evidenciando a necessidade de fortalecer os

sistemas de vigilância para garantir a detecção oportuna e a resposta rápida a surtos.

Além disso, a detecção de reações cruzadas em kits diagnósticos validados pela ANVISA destaca a complexidade do diagnóstico em contextos de co-circulação de múltiplos arbovírus. Isso aponta para a necessidade de avaliações mais rigorosas pelos órgãos reguladores e de testes diagnósticos mais específicos, dado que os testes de validação realizados pelos fabricantes muitas vezes envolvem poucas amostras devido ao acesso dificultado a amostras bem caracterizadas.

Este estudo apresenta algumas limitações, incluindo o potencial viés de memória nos autorrelatos e o viés de seleção, uma vez que a amostra é composta por voluntários, o que pode não refletir adequadamente a população geral. Além disso, as reações cruzadas nos testes sorológicos podem impactar os resultados. Futuras pesquisas devem buscar aprimorar a especificidade dos testes sorológicos e realizar estudos longitudinais para entender melhor a dinâmica da infecção e da imunidade. Além disso, investigar o impacto de intervenções específicas, como melhorias no saneamento e campanhas de educação em saúde, pode ajudar a identificar estratégias eficazes para reduzir a transmissão de arbovírus

Esta pesquisa contribui significativamente para a compreensão da epidemiologia das arboviroses em áreas urbanas hiperendêmicas para dengue como São Sebastião. Os achados apontam a aplicação de estratégias de vigilância mais robustas e intervenções direcionadas para um controle mais assertivo dessas doenças que envolvem a implementação de vigilância epidemiológica ativa, como inquéritos soroepidemiológicos periódicos, e a ampliação da testagem laboratorial para detecção oportuna de epidemias. Além disso, a integração de sistemas de informação de saúde, a informatização do processo de notificação e a redução da subnotificação são essenciais. Ademais, o fortalecimento do controle vetorial, por meio de

campanhas de eliminação de criadouros e inovações como estações disseminadoras também são importantes.

A educação e mobilização da comunidade, a melhoria na infraestrutura de saneamento e abastecimento de água, além da capacitação contínua de profissionais de saúde, são igualmente importantes para garantir uma resposta eficiente e coordenada às arboviroses, reduzindo seu impacto em áreas endêmicas. Assim, espera-se que os resultados apresentados sirvam como base para futuras investigações e direcionamento de políticas públicas, objetivando melhorar a saúde pública e a qualidade de vida das populações afetadas.

## 8. REFERÊNCIAS

ABAD-FRANCH, F. et al. **Mosquito-disseminated pyriproxyfen yields high breeding-site coverage and boosts juvenile mosquito mortality at the neighborhood scale.** PLOS Neglected Tropical Diseases, v. 9, n. 4, p. e0003702, 7 abr. 2015

ABAD-FRANCH, F.; ZAMORA-PEREA, E.; LUZ, S. L. **Mosquito-disseminated insecticide for citywide vector control and its potential to block arbovirus epidemics: entomological observations and modeling results from Amazonian Brazil.** PLOS Medicine, v. 14, n. 1, p. e1002213, 17 jan. 2017.

ADAMS, L. E. et al. **Risk factors for infection with chikungunya and Zika viruses in southern Puerto Rico: A community-based cross-sectional seroprevalence survey.** PLOS Neglected Tropical Diseases, v. 16, n. 6, p. e0010416, 13 jun. 2022.

ANTÓNIO, D. C. et al. **Toward Climate Change Impact: Vectors carrying viral infection: What we should know.** Publications Office of the European Union, 2018.

ARROYO, H. A. **MICROCEFALIA.** Medicina (B. Aires). Disponível em: <[http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0025-76802018000600018&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0025-76802018000600018&lng=es&nrm=iso)>. Acesso em: 12 jun. 2024.

ARYATI, A. et al. **Performance of commercial dengue NS1 ELISA and molecular analysis of NS1 gene of dengue viruses obtained during surveillance in Indonesia.** BMC Infectious Diseases, v. 13, n. 1, p. 611, 29 dez. 2013.

BARCELLOS, C.; MATOS, V.; LANA, R. M.; LOWE, R. Author Correction: **Climate change, thermal anomalies, and the recent progression of dengue in Brazil.** Scientific Reports, v. 14, n. 1, p. 7428, 28 mar. 2024.

BARRETO, F. K. A. et al. **Seroprevalence, spatial dispersion and factors associated with flavivirus and chikungunya infection in a risk area: a population-based seroprevalence study in Brazil.** BMC Infectious Diseases, v. 20, n. 1, p. 881, 24 nov. 2020.

BARROWS, N. J. et al. **Biochemistry and Molecular Biology of Flaviviruses.** Chemical Reviews, v. 118, n. 8, p. 4448–4482, 25 abr. 2018.

BARTHOLOMEEUSEN, K. et al. **Chikungunya fever.** Nature Reviews Disease Primers, v. 9, n. 1, p. 17, 6 abr. 2023.

BASU, R.; TUMBAN, E. **Zika Virus on a Spreading Spree: what we now know that was unknown in the 1950's**. *Virology Journal*, v. 13, n. 1, p. 165, 6 dez. 2016.

BONIFAY, T. et al. **Poverty and Arbovirus Outbreaks: When Chikungunya Virus Hits More Precarious Populations Than Dengue Virus in French Guiana**. *Open Forum Infectious Diseases*, v. 4, n. 4, 1 out. 2017.

BRAGA, C. et al. **Seroprevalence and risk factors for dengue infection in socio-economically distinct areas of Recife, Brazil**. *Acta Tropica*, v. 113, n. 3, p. 234–240, mar. 2010.

BRASIL. **Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas transmitidas pelo Aedes (dengue, chikungunya e Zika), Semanas Epidemiológicas 1 a 49, 2019**. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/>>. Acesso em: 9 maio. 2024.

BRASIL. **Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas causados por vírus transmitidos por Aedes (dengue, chikungunya e zika), semanas epidemiológicas 1 a 53, 2020**. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/>>. Acesso em: 9 maio. 2024.

BRASIL. **Monitoramento dos casos de arboviroses urbanas causados por vírus transmitidos pelo mosquito Aedes (dengue, chikungunya e zika), semanas epidemiológicas 1 a 51, 2021**. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/>>. Acesso em: 22 dez. 2023.

BRASIL. **Monitoramento dos casos de arboviroses até a semana epidemiológica 52 de 2022**. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/>>. Acesso em: 13 jul. 2023a.

BRASIL. **GUIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE**. Disponível em: <[https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_vigilancia\\_saude\\_3ed.pdf](https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_saude_3ed.pdf)>. Acesso em: 13 jul. 2024b.

BRASIL. **Série Histórica de casos prováveis de dengue (2000 - 2023)**. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/d/dengue/situacao-epidemiologica/serie-historica-casos-provaveis-de-dengue-2000-2023/view>>. Acesso em: 9 maio. 2024a.

BRASIL. **Série histórica de casos prováveis de Zika (2015 a 2023)**. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/z/zika-virus/situacao-epidemiologica/serie-historica-casos-provaveis-de-zika-2015-2023/view>>. Acesso em: 12 jul. 2024b.

BRASIL. **Situação epidemiológica da síndrome congênita associada à infecção pelo vírus Zika: Brasil, 2015 a 2022**. Disponível em:

<<http://plataforma.saude.gov.br/anomalias-congenitas/boletim-epidemiologico-SVSA-05-2023.pdf>>. Acesso em: 12 jul. 2024c.

BRASIL. **Informe Semanal, Dengue.** Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/>>. Acesso em: 9 maio. 2024a.

BRASIL. **Dengue: diagnóstico e manejo clínico: adulto e criança.** Disponível em: <[https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/dengue\\_diagnostico\\_manejo\\_clinico\\_6ed.pdf](https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/dengue_diagnostico_manejo_clinico_6ed.pdf)>. Acesso em: 12 jun. 2024b.

BRASIL. **Atualização de Casos de Arboviroses, Zika.** Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/a/aedes-aegypti/monitoramento-das-arboviroses>>. Acesso em: 9 maio. 2024c.

BRASIL. **Sistema de Informação de Agravos de Notificação.** Disponível em: <<https://portalsinan.saude.gov.br/>>. Acesso em: 13 jul. 2024d.

BURT, F. J. et al. **Chikungunya virus: an update on the biology and pathogenesis of this emerging pathogen.** *Lancet Infectious Diseases*, v. 17, n. 4, p. e107-e117, 1 abr. 2017.

CAPEDING, M. R. et al. **Clinical efficacy and safety of a novel tetravalent dengue vaccine in healthy children in Asia: a phase 3, randomised, observer-masked, placebo-controlled trial.** *The Lancet*, v. 384, n. 9951, p. 1358–1365, 11 out. 2014.

CDC. **Zika MAC-ELISA.** Disponível em: <<https://www.fda.gov/media/96373/download>>. Acesso em: 13 jun. 2024.

CDC. **Dengue Vaccine.** Disponível em: <<https://www.cdc.gov/dengue/vaccine/index.html>>. Acesso em: 13 jul. 2024.

CHIEN, L.-C.; SY, F.; PÉREZ, A. **Identifying high risk areas of Zika virus infection by meteorological factors in Colombia.** *BMC Infectious Diseases*, v. 19, n. 1, p. 888, 24 dez. 2019.

CHONG, H. Y. et al. **Flavivirus infection—A review of immunopathogenesis, immunological response, and immunodiagnosis.** *Virus Research*, v. 274, p. 197770, 1 dez. 2019.

CHOW, A. et al. **Persistent Arthralgia Induced by Chikungunya Virus Infection is Associated with Interleukin-6 and Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor.** *The Journal of Infectious Diseases*, v. 203, n. 2, p. 149–157, 15 jan. 2011.

CLETON, N. et al. **Come fly with me: Review of clinically important arboviruses for global travelers.** *Journal of Clinical Virology*, v. 55, n. 3, p. 191–203, nov. 2012.

CODECO, C. T. et al. **Fast expansion of dengue in Brazil.** Lancet Regional Health - Americas, v. 12, p. 100274, 29 maio 2022.

CODEPLAN. **Compatibilização entre as projeções populacionais, a PDAD 2018 e a nova delimitação (oficial) das regiões administrativas do distrito federal.** Disponível em: <<https://www.codeplan.df.gov.br/wp-content/uploads/2020/06/NT-Compatibiliza%C3%A7%C3%A3o-entre-as-proje%C3%A7%C3%B5es-populacionais-a-PDAD-2018-e-a-nova-delimita%C3%A7%C3%A3o-oficial-das-Regi%C3%B5es-Administrativas-do-DF.pdf>>. Acesso em: 13 jul. 2024.

CODEPLAN. **Pesquisa Distrital por Amostras de Domicílios.** Disponível em: <[https://www.codeplan.df.gov.br/wp-content/uploads/2022/05/PDAD-DF\\_2021.pdf](https://www.codeplan.df.gov.br/wp-content/uploads/2022/05/PDAD-DF_2021.pdf)>. Acesso em: 13 jul. 2024a.

CODEPLAN. **Perfil Distrital por Amostra de Domicílios, São Sebastião.** Disponível em: <[https://www.codeplan.df.gov.br/wp-content/uploads/2022/05/Sao\\_Sebastiao.pdf](https://www.codeplan.df.gov.br/wp-content/uploads/2022/05/Sao_Sebastiao.pdf)>. Acesso em: 13 jul. 2024b.

COELHO, G. E. et al. **Sensitivity of the Dengue Surveillance System in Brazil for Detecting Hospitalized Cases.** PLOS Neglected Tropical Diseases, v. 10, n. 5, p. e0004705, 18 maio 2016.

COLT, S. et al. **Transmission of Zika virus through breast milk and other breastfeeding-related bodily-fluids: A systematic review.** PLOS Neglected Tropical Diseases, v. 11, n. 4, p. e0005528, 10 abr. 2017.

CORDEIRO, R.; STEPHAN, C.; DONALÍSIO, M. R. **AmostraBrasil: um pacote R para amostragem domiciliar em municípios brasileiros.** Cadernos de Saúde Pública, v. 32, n. 11, nov. 2016.

DEJNIRATTISAI, W. et al. **Cross-Reacting Antibodies Enhance Dengue Virus Infection in Humans.** Science, v. 328, n. 5979, p. 745–748, 7 maio 2010.

DEJNIRATTISAI, W. et al. **Dengue virus sero-cross-reactivity drives antibody-dependent enhancement of infection with zika virus.** Nature Immunology, v. 17, n. 9, p. 1102–1108, 23 set. 2016.

DE ALMEIDA, I. F.; LANA, R. M.; CODEÇO, C. T. **How heterogeneous is the dengue transmission profile in Brazil? A study in six Brazilian states.** PLOS Neglected Tropical Diseases, v. 16, n. 9, p. e0010746, 12 set. 2022.

DICK, G. W. A.; KITCHEN, S. F.; HADDOW, A. J. **Zika Virus (I). Isolations and serological specificity.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, v. 46, n. 5, p. 509–520, set. 1952.

DU, S. et al. **Aedes mosquitoes acquire and transmit Zika virus by breeding in contaminated aquatic environments.** Nature Communications, v. 10, n. 1, p. 1324, 22 mar. 2019.

DUFFY, M. R. et al. **Zika Virus Outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia.** New England Journal of Medicine, v. 360, n. 24, p. 2536–2543, 11 jun. 2009.

ECONOMOPOULOU, A. et al. **Atypical Chikungunya virus infections: clinical manifestations, mortality and risk factors for severe disease during the 2005–2006 outbreak on Réunion.** Epidemiology and Infection, v. 137, n. 4, p. 534–541, 11 abr. 2009.

ELSINGA, J. et al. **Health-related impact on quality of life and coping strategies for chikungunya: A qualitative study in Curaçao.** PLoS Neglected Tropical Diseases, v. 11, n. 10, 9 out. 2017.

FARIA, N. R. et al. **Establishment and cryptic transmission of Zika virus in Brazil and the Americas.** Nature, v. 546, n. 7658, p. 406–410, 15 jun. 2017.

FARINELLI, E. C. et al. **Low socioeconomic condition and the risk of dengue fever: A direct relationship.** Acta Tropica, v. 180, p. 47–57, 1 abr. 2018.

FAUCI, A. S.; MORENS, D. M. **Zika Virus in the Americas — Yet Another Arbovirus Threat.** New England Journal of Medicine, v. 374, n. 7, p. 601–604, 18 fev. 2016.

FIOCRUZ. **Mayaro, dengue, zika e chikungunya: veja semelhanças e diferenças entre os vírus transmitidos por mosquitos.** Disponível em: <<https://www.fiocruz.br/2019/06/mayaro-dengue-zika-e-chikungunya-veja-semelhanças-e-diferenças-entre-os-vírus-transmitidos-por-mosquitos/>>. Acesso em: 13 jun. 2024.

FISCHER, C. et al. **Challenges towards serologic diagnostics of emerging arboviruses.** Clinical Microbiology and Infection, v. 27, n. 9, p. 1221–1229, 1 set. 2021.

FRITZELL, C. et al. **Current challenges and implications for dengue, chikungunya and Zika seroprevalence studies worldwide: A scoping review.** PLOS Neglected Tropical Diseases, v. 12, n. 7, p. e0006533, 16 jul. 2018.

FULLER, T. L. et al. **Behavioral, climatic, and environmental risk factors for Zika and Chikungunya virus infections in Rio de Janeiro, Brazil, 2015–16.** PLOS ONE, v. 12, n. 11, p. e0188002, 16 nov. 2017.

- GALVÃO, P. R. S. et al. **An evaluation of the Sinan health information system as used by the Hansen's disease control programme, Pernambuco State, Brazil.** *Leprosy review*, v. 79, n. 2, p. 171–82, jun. 2008.
- GARCIA, K. K. S. et al. **Measuring mosquito control: adult-mosquito catches vs egg-trap data as endpoints of a cluster-randomized controlled trial of mosquito-disseminated pyriproxyfen.** *Parasites & Vectors*, v. 13, n. 1, p. 352, 14 dez. 2020.
- GARDNER, L. M. et al. **Inferring the risk factors behind the geographical spread and transmission of Zika in the Americas.** *PLOS Neglected Tropical Diseases*, v. 12, n. 1, p. e0006194, 18 jan. 2018.
- GASQUE, P. et al. **Chikungunya pathogenesis: From the clinics to the bench.** *Journal of Infectious Diseases*. Anais.Oxford University Press, 1 dez. 2016.
- GATHERER, D.; KOHL, A. **Zika virus: a previously slow pandemic spreads rapidly through the Americas.** *Journal of General Virology*, v. 97, n. 2, p. 269–273, 1 fev. 2016.
- GUBLER, D. J. **Dengue/Dengue Haemorrhagic Fever: History and Current Status.** In: **New Treatment Strategies for Dengue and Other Flaviviral Diseases.** wiley, 2006. p. 3–22.
- GUZMAN, M. G.; HARRIS, E. **Dengue.** *The Lancet*, v. 385, n. 9966, p. 453–465, 31 jan. 2015.
- GYAWALI, N.; BRADBURY, R. S.; TAYLOR-ROBINSON, A. W. **The global spread of Zika virus: Is public and media concern justified in regions currently unaffected?** *Infectious Diseases of Poverty*. BioMed Central Ltd., 2016.
- HADDOW, A. D. et al. **Genetic Characterization of Zika Virus Strains: Geographic Expansion of the Asian Lineage.** *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 6, n. 2, p. e1477, 28 fev. 2012.
- HADDOW, A. J. et al. **TWELVE ISOLATIONS OF ZIKA VIRUS FROM AEDES (STEGOMYIA) AFRICANUS (THEOBALD) TAKEN IN AND ABOVE A UGANDA FOREST.** *Bulletin of the World Health Organization*, v. 31, n. 1, p. 57–69, 1964.
- HARRIS, P. A. et al. **Research electronic data capture (REDCap)—A metadata-driven methodology and workflow process for providing translational research informatics support.** *Journal of Biomedical Informatics*, v. 42, n. 2, p. 377–381, abr. 2009.
- HEYMANN, D. L. et al. **Zika virus and microcephaly: why is this situation a PHEIC?** *The Lancet*, v. 387, n. 10020, p. 719–721, 20 fev. 2016.

IBGE. **Cidades e Estados**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/df.html>>. Acesso em: 13 jul. 2024a.

IBGE. **Cadastro Nacional de Endereços para Fins Estatísticos**. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/populacao/38734-cadastro-nacional-de-enderecos-para-fins-estatisticos.html>>. Acesso em: 13 jul. 2024b.

INMET. **Dados Meteorológicos**. Disponível em: <<https://portal.inmet.gov.br/>>. Acesso em: 13 jul. 2024.

JAENISCH, T. et al. **Clinical evaluation of dengue and identification of risk factors for severe disease: protocol for a multicentre study in 8 countries**. BMC Infectious Diseases, v. 16, n. 1, p. 120, 11 dez. 2016.

KALLAS, E. G. et al. **Safety and immunogenicity of the tetravalent, live-attenuated dengue vaccine Butantan-DV in adults in Brazil: a two-step, double-blind, randomised placebo-controlled phase 2 trial**. The Lancet Infectious Diseases, v. 20, n. 7, p. 839–850, 1 jul. 2020.

KALLÁS, E. G. et al. **Live, Attenuated, Tetravalent Butantan–Dengue Vaccine in Children and Adults**. New England Journal of Medicine, v. 390, n. 5, p. 397–408, fev. 2024.

KIMURA R, H. **On the inoculation of dengue virus into mice**. Nippon Igaku., v. 3379, p. 629–633, 1944.

KIT LAM, S. et al. **Evaluation of a Capture Screening Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Combined Determination of Immunoglobulin M and G Antibodies Produced during Dengue Infection**. Clinical Diagnostic Laboratory Immunology, v. 7, n. 5, p. 850–852, set. 2000.

KUNO, G.; CHANG, G.-J. J. **Biological Transmission of Arboviruses: Reexamination of and New Insights into Components, Mechanisms, and Unique Traits as Well as Their Evolutionary Trends**. Clinical Microbiology Reviews, v. 18, n. 4, p. 608–637, out. 2005.

LANCIOTTI, R. S. et al. **Genetic and Serologic Properties of Zika Virus Associated with an Epidemic, Yap State, Micronesia, 2007**. Emerging Infectious Diseases, v. 14, n. 8, p. 1232–1239, ago. 2008.

LEE, S. A.; ECONOMOU, T.; DE CASTRO CATÃO, R.; BARCELLOS, C.; LOWE, R. **The impact of climate suitability, urbanisation, and connectivity on the expansion of dengue in 21st century Brazil**. PLoS Neglected Tropical Diseases, v. 15, n. 12, p. e0009773, 9 dez. 2021.

LUM, F. M.; NG, L. F. P. **Cellular and molecular mechanisms of chikungunya pathogenesis**. Antiviral Research. Elsevier B.V., 26 jun. 2015.

MACNAMARA, F. N. **Zika virus: A report on three cases of human infection during an epidemic of jaundice in Nigeria.** Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, v. 48, n. 2, p. 139–145, mar. 1954.

MORENS, D. M.; BURKE, D. S.; HALSTEAD, S. B. **The Wages of Original Antigenic Sin.** Emerging Infectious Diseases, v. 16, n. 6, p. 1023–1024, jun. 2010.

MULLER, D. A.; DEPELSENAIRE, A. C. I.; YOUNG, P. R. **Clinical and Laboratory Diagnosis of Dengue Virus Infection.** The Journal of Infectious Diseases, v. 215, n. suppl\_2, p. S89–S95, 1 mar. 2017.

MUSSO, D.; GUBLER, D. J. **Zika Virus.** Clinical Microbiology Reviews, v. 29, n. 3, p. 487–524, 1 jul. 2016.

MUSTAFA, M. S.; RASOTGI, V.; JAIN, S.; GUPTA, V. **Discovery of fifth serotype of dengue virus (DENV-5): A new public health dilemma in dengue control.** Medical Journal Armed Forces India, v. 71, n. 1, p. 67-70, jan. 2015.

MWANYIKA, G. O. et al. **Seroprevalence and associated risk factors of chikungunya, dengue, and Zika in eight districts in Tanzania.** International Journal of Infectious Diseases, v. 111, p. 271–280, 1 out. 2021.

NAJIOULLAH, F.; VIRON, F.; CÉSAIRE, R. **Evaluation of four commercial real-time RT-PCR kits for the detection of dengue viruses in clinical samples.** Virology Journal, v. 11, n. 1, p. 164, 15 dez. 2014.

NUNES, M. R. et al. **Emergence and potential for spread of Chikungunya virus in Brazil.** BMC Medicine, v. 13, p. 102, 30 abr. 2015.

OLIVEIRA, J. F. et al. **Interdependence between confirmed and discarded cases of dengue, chikungunya and Zika viruses in Brazil: A multivariate time-series analysis.** PLOS ONE, v. 15, n. 2, p. e0228347, 3 fev. 2020.

OMS. **Doença do vírus Zika, definição de casos provisórias.** Disponível em:

<[https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/204381/WHO\\_ZIKV\\_SUR\\_16.1\\_por.pdf](https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/204381/WHO_ZIKV_SUR_16.1_por.pdf)>. Acesso em: 13 jun. 2024.

PAHO. **Guidelines for Surveillance of Zika Virus Disease and Its Complications.** Washington, D.C.

PAHO. **Report on the epidemiological situation of dengue in the Americas.** Disponível em: <<https://www.paho.org/en/documents>>. Acesso em: 12 jun. 2024.

- PETERSEN, L. R. et al. **Zika Virus**. *New England Journal of Medicine*, v. 374, n. 16, p. 1552–1563, 21 abr. 2016.
- RAMÍREZ-RAYÓN, E. M. et al. **Guillain-Barre syndrome associated with Zika virus infection**. *Medicina Interna de Mexico*, v. 34, n. 5, p. 667–677, 1 set. 2018.
- RIVERA, L. et al. **Three-year Efficacy and Safety of Takeda's Dengue Vaccine Candidate (TAK-003)**. *Clinical Infectious Diseases*, v. 75, n. 1, p. 107–117, 24 ago. 2022.
- ROBINSON, M. C. **An epidemic of virus disease in Southern Province, Tanganyika territory, in 1952–1953**. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 49, n. 1, p. 28–32, jan. 1955.
- ROEHRIG, J. T.; HOMBACH, J.; BARRETT, A. D. T. **Guidelines for Plaque-Reduction Neutralization Testing of Human Antibodies to Dengue Viruses**. *Viral Immunology*, v. 21, n. 2, p. 123–132, 1 jun. 2008.
- ROMEO-AZNAR, V. et al. **Fine-scale heterogeneity in population density predicts wave dynamics in dengue epidemics**. *Nature Communications*, v. 13, n. 1, p. 996, 22 fev. 2022. Erratum em: *Nature Communications*, v. 13, n. 1, p. 1404, 11 mar. 2022.
- ROTHMAN, A. L.; ENNIS, F. A. **Immunopathogenesis of Dengue Hemorrhagic Fever**. *Virology*, v. 257, p. 1–6, 1999.
- ROY, S. K.; BHATTACHARJEE, S. **Dengue virus: epidemiology, biology, and disease aetiology**. *Canadian Journal of Microbiology*, v. 67, n. 10, p. 687–702, out. 2021.
- SALLES, T. S. et al. **History, epidemiology and diagnostics of dengue in the American and Brazilian contexts: a review**. *Parasites & Vectors*, v. 11, n. 1, p. 264, 24 dez. 2018.
- SANG, C. T.; CUZZUBBO, A. J.; DEVINE, P. L. **Evaluation of a Commercial Capture Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of Immunoglobulin M and G Antibodies Produced during Dengue Infection**. *Clinical Diagnostic Laboratory Immunology*, v. 5, n. 1, p. 7–10, jan. 1998.
- SANGKAWIBHA, N. et al. **Risk factors in dengue shock syndrome: a prospective epidemiologic study In Rayong, Thai-land. I. The 1980 outbreak**. *Am J Epidemiol*, v. 120, n. 5, p. 653–69, 1984.
- SCHNEIDER, M. et al. **Safety and immunogenicity of a single-shot live-attenuated chikungunya vaccine: a double-blind, multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial**. *The Lancet*, v. 401, n. 10394, p. 2138–2147, 24 jun. 2023.

SES/DF. **Informativos Epidemiológicos Dengue, Chikungunya, Zika e Febre Amarela**. Disponível em: <<https://www.saude.df.gov.br/informes-dengue-chikungunya-zika-febre-amarela>>. Acesso em: 10 jun. 2024.

SHU, P.-Y. et al. **Dengue Virus Serotyping Based on Envelope and Membrane and Nonstructural Protein NS1 Serotype-Specific Capture Immunoglobulin M Enzyme-Linked Immunosorbent Assays**. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 42, n. 6, p. 2489–2494, jun. 2004.

SILVA, M. M. O. et al. **Accuracy of Dengue Reporting by National Surveillance System, Brazil**. *Emerging Infectious Diseases*, v. 22, n. 2, p. 336–339, fev. 2016.

SILVA, J. V. J. Jr et al. **A scoping review of Chikungunya virus infection: epidemiology, clinical characteristics, viral co-circulation complications, and control**. *Acta Tropica*, v. 188, p. 213-224, 6 set. 2018.

SIMON, F. et al. **Determinants of Health-Related Quality of Life in Chronic Chikungunya Disease in Guadeloupe**. *Pathogens*, v. 11, n. 9, 1 set. 2022.

STETTLER, K. et al. **Specificity, cross-reactivity, and function of antibodies elicited by Zika virus infection**. *Science*, v. 353, n. 6301, p. 823–826, 19 ago. 2016.

SUKHRALIA, S. et al. **From dengue to Zika: the wide spread of mosquito-borne arboviruses**. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, v. 38, n. 1, p. 3–14, 28 jan. 2019.

SWANSTROM, J. A. et al. **Dengue Virus Envelope Dimer Epitope Monoclonal Antibodies Isolated from Dengue Patients Are Protective against Zika Virus**. *mBio*, v. 7, n. 4, 7 set. 2016.

TANG, H. et al. **Zika Virus Infects Human Cortical Neural Progenitors and Attenuates Their Growth**. *Cell Stem Cell*, v. 18, n. 5, p. 587–590, 5 maio 2016.

THIBERVILLE, S.-D. et al. **Chikungunya fever: Epidemiology, clinical syndrome, pathogenesis and therapy**. *Antiviral Research*, v. 99, n. 3, p. 345–370, set. 2013.

UTARINI, A. et al. **Efficacy of Wolbachia-Infected Mosquito Deployments for the Control of Dengue**. *New England Journal of Medicine*, v. 384, n. 23, p. 2177–2186, 10 jun. 2021.

VAIRO, F. et al. **Chikungunya: Epidemiology, Pathogenesis, Clinical Features, Management, and Prevention**. *Infectious Disease Clinics of North America*, v. 33, n. 4, p. 1003–1025, 1 dez. 2019.

VASCONCELOS, A. M. N. **Cenários Demográficos, Sociais e Econômicos do Distrito Federal**. Disponível em: <<https://www.codeplan.df.gov.br/wp-content/uploads/2018/07/Cen%C3%A1rios-Demogr%C3%A1ficos-Sociais-e-Econ%C3%B4micos-para-o-DF.pdf>>. Acesso em: 13 jul. 2024.

VILLAR, L. et al. **Efficacy of a Tetravalent Dengue Vaccine in Children in Latin America**. *New England Journal of Medicine*, v. 372, n. 2, p. 113–123, 8 jan. 2015.

WANG, Y. et al. **Current Advances in Zika Vaccine Development**. *Vaccines*, v. 10, n. 11, p. 1816, 28 out. 2022.

WEAVER, S. C. **Arrival of Chikungunya Virus in the New World: Prospects for Spread and Impact on Public Health**. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 8, n. 6, p. e2921, 26 jun. 2014.

WHO. **Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control - New edition**.

WHO. **ZIKA SITUATION REPORT**. Disponível em: <<https://reliefweb.int/report/world/who-zika-situation-report-neurological-syndrome-and-congenital-anomalies-5-february>>. Acesso em: 12 jun. 2024.

WHO. **Informing vaccination programs: a guide to the design and conduct of dengue serosurveys**.

WHO. **Zika virus**. Disponível em: <[https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/zika-virus?gclid=CjwKCAjwgqejBhBAEiwAuWHiolqvAp\\_G6hecv1-A-uWu5YfPYkEpEeCsFQ9BqXwQH9-gQMkwKvJHfxoCyBAQAvD\\_BwE](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/zika-virus?gclid=CjwKCAjwgqejBhBAEiwAuWHiolqvAp_G6hecv1-A-uWu5YfPYkEpEeCsFQ9BqXwQH9-gQMkwKvJHfxoCyBAQAvD_BwE)>. Acesso em: 12 jun. 2024a.

WHO. **Laboratory testing for Zika virus and dengue virus infections: interim guidance**. Disponível em: <[https://www.who.int/publications/i/item/WHO-ZIKV\\_DENV-LAB-2022.1](https://www.who.int/publications/i/item/WHO-ZIKV_DENV-LAB-2022.1)>. Acesso em: 12 jun. 2024b.

WHO. **Dengue and severe dengue**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>>. Acesso em: 12 jul. 2024a.

WHO. **Dengue - Global situation**. Disponível em: <<https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2024-DON518#:~:text=Current%20situation,cases%2C%20and%20over%203000%20deaths.>>. Acesso em: 12 jul. 2024b.

WHO. **Chikungunya**. Disponível em: <[https://www.who.int/health-topics/chikungunya#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/chikungunya#tab=tab_1)>. Acesso em: 13 jun. 2024c.

WIMALASIRI-YAPA, B. M. C. R. et al. **Zika Virus and Arthritis/Arthralgia: A Systematic Review and Meta-Analysis.** *Viruses*, v. 12, n. 10, p. 1137, 7 out. 2020.

YOUNG, P. R. et al. **An Antigen Capture Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Reveals High Levels of the Dengue Virus Protein NS1 in the Sera of Infected Patients.** *Journal of Clinical Microbiology*, v. 38, n. 3, p. 1053–1057, mar. 2000.

YOUNG, P. R. Arboviruses: A Family on the Move. In: **Advances in Experimental Medicine and Biology.** Springer New York LLC, 2018a. v. 1062p. 1–10.

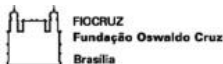
ZANLUCA, C. et al. **First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil.** *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 110, n. 4, p. 569–572, 9 jun. 2015.

ZEIDLER, J. et al. **Non-Canonical Roles of Dengue Virus Non-Structural Proteins.** *Viruses*, v. 9, n. 3, p. 42, 13 mar. 2017.

ZIMMERMANN, I. R.; FERNANDES, R. R. A.; DA COSTA, M. G. S.; PINTO, M.; PEIXOTO, H. M. **Simulation-based economic evaluation of the Wolbachia method in Brazil: a cost-effective strategy for dengue control.** *The Lancet Regional Health - Americas*, v. 35, p. 100783, 3 jun. 2024.

## 9. APÊNDICES

### 9.1 Apêndice 1 – TCLE



Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina  
**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**  
(TCLE)

Prezado(a) Senhor(a)

O(a) Senhor(a) está sendo convidado(a) a participar da pesquisa “**Distribuição espacial das arboviroses (Dengue, Zika e Chikungunya) no Distrito Federal**”.

Você está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa muito importante

Pesquisadores:

Prof. Dr. Walter Massa Ramalho- Professor Adjunto Faculdade de Ceilândia da Universidade de Brasília. Telefone NMT: (61) 3107-0081. E-mail: walter.ramalho@gmail.com

Prof. Dr. Helen da Costa Gurgel- Professora Adjunta do Departamento de Geografia da Universidade de Brasília. Telefone Departamento de Geografia: (61) 3107-7253. E-mail: helengurgel@unb.br

Prof. Dr. André Luiz Dutra Fenner- Pesquisador em Saúde Pública na Diretoria Regional de Brasília da Fundação Oswaldo Cruz. Fiocruz Brasília: (61) 3329-4500.

Prof. Dr. Wildo Navegantes de Araújo- Professor Adjunto Faculdade de Ceilândia da Universidade de Brasília. Telefone NMT: (61) 3107-0081. E-mail: wildo74@gmail.com

Krishna Mara Rodrigues Freire – Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Geografia da Universidade de Brasília. Telefone Departamento de Geografia: (61) 3107-7253. E-mail: kikimara@hotmail.com

O nome da pesquisa é:

- “Distribuição espacial das arboviroses (Dengue, Zika e Chikungunya). Inquérito soroprevalência e sua percepção pela população.”.

Objetivos:

- Saber quais pessoas já tiveram algumas das seguintes doenças: Dengue, Zika e Chikungunya no Distrito Federal. Queremos saber também quais os principais fatores de risco para estas doenças. Finalmente, precisamos saber se você foi picado pelo mosquito *Aedes aegypti*.

Escolha dos participantes:

- A escolha dos participantes foi feita por sorteio, por cadastro das residências, onde todos os habitantes do Distrito Federal são elegíveis de ser escolhidos.

Voluntariedade de Participação:

- A sua participação é voluntária, ou seja, que você quem decide se quer ou não participar da pesquisa. Se caso você decidir não participar nada mudará no seu tratamento ou na sua relação conosco. Que mesmo que você inicialmente tenha aceitado, poderá mudar de ideia e desistir, sem nenhum problema.
- O(a) senhor(a) não poderá receber nenhum tipo de pagamento e nenhum benefício a mais pela participação nessa pesquisa, a não ser o melhor conhecimento da doença e a possibilidade do seu melhor conhecimento de acordo como que for descoberto. Não haverá, também, qualquer despesa financeira pela minha participação que esteja diretamente relacionada com a pesquisa.

Rubrica do pesquisador: \_\_\_\_\_, Rubrica do participante/responsável: \_\_\_\_\_, Página 1 de 3





### TERMO DE GUARDA DE AMOSTRA BIOLÓGICA

Concordo com o armazenamento da minha amostra no Núcleo de Medicina Tropical, localizado na Faculdade de Medicina da UnB, podendo ser utilizada, juntamente com as informações do meu prontuário, em pesquisas futuras coordenadas pelo prof. Walter Massa Ramalho. Se eu quiser, a minha amostra e prontuário poderão ser retirados da pesquisa em qualquer momento, sem qualquer prejuízo, bastando comunicar aos pesquisadores.

Importante: Você será contatado (a) com antecedência para um novo consentimento, caso a amostra do biorrepositório seja utilizada para nova pesquisa

Autorizo

Não autorizo

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.  
Local e data

\_\_\_\_\_  
Participante voluntário

\_\_\_\_\_  
Testemunha

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Walter Massa Ramalho  
Email: [walter.ramalho.fce@gmail.com](mailto:walter.ramalho.fce@gmail.com)  
Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina  
Campus Universitário Darcy Ribeiro, Asa Norte - CEP 70910-900 - Brasília, DF  
Tel.: (61) 3107-1918, [cepfm@unb.br](mailto:cepfm@unb.br)

Este documento foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o sujeito da pesquisa.  
(1ª. Via – Voluntário da pesquisa - 2ª. Via – Pesquisador)

Rubrica do pesquisador: \_\_\_\_\_, Rubrica do participante/responsável: \_\_\_\_\_, Página 3 de 3

## 9.2 Apêndice 2 – TALE



Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina  
**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**  
(TCLE – Para os Responsável por Indivíduos Menores de Idade)

Prezado(a) Senhor(a)

O(a) Senhor(a) é o(a) responsável pelo menor de idade, que está sendo convidado(a) a participar da pesquisa “**Distribuição espacial das arboviroses (Dengue, Zika e Chikungunya) no Distrito Federal**”.

Pesquisadores:

Prof. Dr. Walter Massa Ramalho- Professor Adjunto Faculdade de Ceilândia da Universidade de Brasília. Telefone e WhatsApp: (61) 99215-4486 – NMT: (61) 3107-0081. E-mail: walter.ramalho@gmail.com

Prof. Dr. Helen da Costa Gurgel- Professora Adjunta do Departamento de Geografia da Universidade de Brasília. Telefone e WhatsApp: (61) 98134-6433 – Departamento de Geografia: (61) 3107-7253. E-mail: helengurgel@unb.br

Prof. Dr. André Luiz Dutra ~~Fenner~~- Pesquisador em Saúde Pública na Diretoria Regional de Brasília da Fundação Oswaldo Cruz. Fiocruz Brasília: (61) 3329-4500.

Prof. Dr. ~~Wildo~~ Navegantes de Araújo - Professor Adjunto Faculdade de Ceilândia da Universidade de Brasília. Telefone e WhatsApp: (61) 98117-7974 - NMT: (61) 3107-0081. E-mail: wildo74@gmail.com

Ana Claudia ~~Negret Scalia~~- Técnica de Laboratório do Núcleo de Medicina Tropical da Universidade de Brasília. Telefone NMT: (61) 3107-0081.

Danielly Batista Xavier- Mestranda do Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical da Universidade de Brasília. Telefone e WhatsApp: (61) 99674-6489 – NMT: 3107-0081. E-mail: danielly.xavier@outlook.com

Krishna Mara Rodrigues Freire – Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Geografia da Universidade de Brasília. Telefone e WhatsApp: (61) 98574-3204 – Departamento de Geografia: (61) 3107-7253. E-mail: kikimara@hotmail.com

Estas informações são muito importantes para o integrante da pesquisa. Todas elas estão no Termo de Assentimento para o Participante Legalmente Incapaz, já oferecido para o menor de idade. Porém precisamos também da sua concordância.

O nome da pesquisa é:

- “Distribuição espacial das arboviroses (Dengue, Zika e Chikungunya) no Distrito Federal”.

Objetivos:

- Saber quais pessoas já tiveram algumas das seguintes doenças: Dengue, Zika e Chikungunya no Distrito Federal. Queremos saber também quais os principais fatores de risco para estas doenças. Finalmente, precisamos saber se você foi picado pelo mosquito *Aedes aegypti*.

Escolha dos participantes:

- A escolha dos participantes foi feita por sorteio, por cadastro das residências, onde todos os habitantes do Distrito Federal são elegíveis de ser escolhidos.

Voluntariedade de Participação:

- A sua participação é voluntária, ou seja, que você quem decide se quer ou não participar da pesquisa. Se caso você decidir não participar nada mudará no seu tratamento ou na sua relação conosco. Que mesmo que você inicialmente tenha aceitado, poderá mudar de ideia e desistir, sem nenhum problema.

Rubrica do pesquisador: \_\_\_\_\_ . Rubrica do participante/responsável: \_\_\_\_\_ . Página 1 de 3

- O(a) senhor(a) não poderá receber nenhum tipo de pagamento e nenhum benefício a mais pela participação nessa pesquisa, a não ser o melhor conhecimento da doença e a possibilidade do seu melhor conhecimento de acordo como que for descoberto. Não haverá, também, qualquer despesa financeira pela minha participação que esteja diretamente relacionada com a pesquisa.

Procedimentos:

- Para a pesquisa será realizada uma entrevista, e seu nome não será gravado em nenhum momento. A entrevista completa tem um tempo estimado de aproximadamente 40 minutos.
- Também precisamos da sua autorização para coleta de sangue. Todos os resultados serão mantidos em sigilo, mas aos pesquisadores precisarão saber os resultados pois irão avaliar os resultados individualmente garantindo a qualidade da assistência a sua saúde.

Riscos:

- Neste procedimento, o risco é mínimo, mas é possível que a você sinta dor no local da coleta de sangue e apareça um pequeno hematoma e inchaço, mas este desaparecerá em alguns dias. Se não desaparecer ou sentir febre ou quaisquer outras condições adversa a saúde, identificadas nesta pesquisa, ou dela decorrentes, que precisem de assistência, esta será garantida de maneira gratuita pelo tempo que for preciso na rede de assistência à saúde do Sistema Único de Saúde (SUS), por meio da Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal (SES/DF). A pesquisa irá construir um sítio de informação, onde o participante poderá encontrar mais informações e reportar qualquer reação adversa.

Resultados da pesquisa:

- Os participantes do projeto, com sorologia positiva ou negativa para as arboviroses, serão comunicados por carta e mensagem eletrônica, em até 6 meses da coleta do material biológico.

Tempo de guarda das amostras:

- As amostras biológicas ficaram armazenadas no biorrepositório do Núcleo de Medicina Tropical por um período de 5 anos.

Benefícios:

- A pesquisa irá trazer muitos benefícios à sociedade pois o que queremos é entender melhor estas doenças para sugerir novas formas de controle.

Confidencialidade:

- Ninguém terá acesso a suas informações e as coletadas na pesquisa, os pesquisadores. Não falaremos que você está na pesquisa com mais ninguém e seu (nome/imagem/voz) não irá aparecer em nenhum lugar.

Divulgação dos resultados:

- Depois que a pesquisa acabar, os resultados serão informados para você. Também poderá ser publicada em uma revista, ou livro, ou conferência, etc. Lembre-se que o anonimato será sempre mantido.

Contato:

- Qualquer dúvida, por favor, telefone das 08h às 18h, ou se preferir enviar email para: Walter Massa Ramalho, número (61) 992154486, email: [walter.ramalho.fce@gmail.com](mailto:walter.ramalho.fce@gmail.com)

Rubrica do pesquisador: \_\_\_\_\_ . Rubrica do participante/responsável: \_\_\_\_\_ . Página 2 de 3

TERMO DE GUARDA DE AMOSTRA BIOLÓGICA

Concordo com o armazenamento da minha amostra no Núcleo de Medicina Tropical, localizado na Faculdade de Medicina da UnB, podendo ser utilizada, juntamente com as informações do meu prontuário, em pesquisas futuras coordenadas pelo prof. Walter Massa Ramalho. Se eu quiser, a minha amostra e prontuário poderão ser retirados da pesquisa em qualquer momento, sem qualquer prejuízo, bastando comunicar aos pesquisadores.

Importante: Você será contatado (a) com antecedência para um novo consentimento, caso a amostra do biorepositório seja utilizada para nova pesquisa

Autorizo

Não autorizo

\_\_\_\_\_, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.  
Local e data

Nome e/ou assinatura da criança/adolescente: \_\_\_\_\_.

Nome e assinatura dos pais/responsáveis: \_\_\_\_\_.

Testemunha: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Walter Massa Ramalho  
Telefone para contato -61 | 992154486, email: [walter.ramalho.fce@gmail.com](mailto:walter.ramalho.fce@gmail.com)  
Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina  
Campus Universitário Darcy Ribeiro, Asa Norte - CEP 70910-900 - Brasília, DF  
Tel.: (61) 3107-1918, [cepfm@unb.br](mailto:cepfm@unb.br)

Este documento foi elaborado em duas vias, uma ficará com o pesquisador responsável e a outra com o sujeito da pesquisa.  
(1ª. Via – Voluntário da pesquisa - 2ª. Via – Pesquisador)

Rubrica do pesquisador: \_\_\_\_\_, Rubrica do participante/responsável: \_\_\_\_\_, Página 3 de 3

### 9.3 Apêndice 3 – QUESTIONÁRIO

Page 1 of 29

## Identificação do entrevistado e dos moradores; Antecedentes da dengue no domicílio; Percepção sobre a dengue e as medidas de prevenção do entrevistado

Percepção do entrevistado

IDENTIFICADOR

### IDENTIFICAÇÃO DO ENTREVISTADO E DOS MORADORES

Coordenadas GPS (Latitude e Longitude):

((verificar e preencher através do tablet))

R.A.:

- Águas Claras
- Brazlândia
- Candangolândia
- Ceilândia
- Cruzeiro
- Estrutural/Cidade do Automóvel
- Fercal
- Gama
- Guará
- Itapoã
- Jardim Botânico
- Lago Norte
- Lago Sul
- Núcleo Bandeirante
- Paranoá
- Park Way
- Planaltina
- Plano Piloto
- Recanto das Emas
- Riacho Fundo I
- Riacho Fundo II
- SIA
- Samambaia
- Santa Maria
  
- São Sebastião
- Sobradinho I
- Sobradinho II
- Sudoeste/Octogonal
- Taguatinga
- Varjão
- Vicente Pires

Endereço do domicílio:

((rua, quadra, bloco, número, etc.))

Bairro, Setor ou Logradouro:

((pode ser ponto de referência))

CEP:

((ex: 70000000))

15/09/2023 2:48pm

projectredcap.org



Telefone:

\_\_\_\_\_  
((ex: 30000000))

Qual seu nome?

\_\_\_\_\_  
((ex: Maria Luzia))

Há quanto tempo mora na residência?

\_\_\_\_\_  
((ex: 5 meses ou 5 anos))

Quantas pessoas moram no domicílio, incluindo você?

\_\_\_\_\_  
((ex: 10))

#### ANTECEDENTES DA DENGUE NO DOMICÍLIO

Você sabe o que é dengue?

- Sim  
 Não

Houve casos de dengue entre os residentes da casa?

- Sim  
 Não  
 Não sabe

Se SIM, quantas pessoas?

\_\_\_\_\_  
((ex: 2))

Soube de casos de dengue entre os vizinhos?

- Sim  
 Não

Se SIM, quantas casas vizinhas?

\_\_\_\_\_  
((ex: 5))

#### PERCEPÇÃO SOBRE A DENGUE E AS MEDIDAS DE PREVENÇÃO DO ENTREVISTADO

Você sabe como a dengue é transmitida?

- Pessoa a pessoa  
 Pelo ar  
 Por mosquitos  
 Pela água  
 Pela saliva  
 Outro  
 Não sabe

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_  
((outra maneira de transmissão))

Quais os sintomas mais comuns de uma pessoa com dengue?

- Febre
  - Dor de cabeça
  - Tosse
  - Dor nos ossos e corpo
  - Dor por trás dos olhos
  - Manchas no corpo
  - Inchaço nas pernas
  - Náusea e vômitos
  - Diarreia
  - Sangramento
  - Pressão alta
  - Outro
  - Não sabe
- ((várias respostas possíveis))

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_  
((outro sintoma da dengue))

Quais as formas de controlar a transmissão de dengue na sua casa?

- Lavar periodicamente os reservatórios de água
  - Usar cortinados (cortinas)
  - Colocar tela na(s) janela(s)
  - Larvicida
  - Inseticida de queimar (espiral) ou de parede
  - Inseticida borrifar (spray)
  - Inseticida natural (citronela)
  - Esvaziar e tampar depósitos que acumulem água
  - Manter o ambiente seco
  - Outro
  - Não sabe
- ((várias respostas possíveis))

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_  
((outra forma de controle da transmissão))

Como ficou sabendo das medidas de controle da dengue?

- Pelo rádio
- Pela televisão
- No Centro de saúde
- Por material educativo (cartazes, panfletos)
- Pelos profissionais de saúde (médico, enfermeiro, etc.)
- Pelos jornais e revistas
- Na redes sociais (Facebook, WhatsApp, Instagram, etc.)
- Pelo agente da dengue que visitou sua casa
- Pelos professores da escola
- Por conhecidos ou amigos
- Outros
- Não lembra / Não sabe

Se Outros, onde?

\_\_\_\_\_  
((outras fontes))

Você sabe em que lugar o mosquito do dengue se reproduz?

- Em água suja / barrenta  
 No lixo  
 Em vasos ou plantas com água  
 Em caixa d'água destampada  
 Em água limpa  
 Vasos de plantas sem água  
 Em depósitos com água (latas, garrafas, copos)  
 Outro  
 Não lembra / Não sabe  
 ((várias respostas possíveis))

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_  
 ((outro local de reprodução do mosquito))

Você usa algum mecanismo para se proteger do mosquito?

- Sim  
 Não

O que você usa para se proteger do mosquito?

- Camisa ou calça  
 Óleos essenciais  
 Repelente convencional  
 Repelente caseiro  
 Mosquiteiro  
 Outro  
 ((várias respostas possíveis))

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_  
 ((ex: raquete elétrica))

Que atitude você teria se alguém da sua família estivesse com dengue?

- Tomaria remédio por conta própria  
 Iria à farmácia e perguntaria ao farmacêutico  
 Iria ao médico ou centro de saúde  
 Tomaria remédio caseiro  
 Outro  
 Não sabe  
 ((várias respostas possíveis))

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_  
 ((ex: raquete elétrica))

Que atitude você teria se alguém da sua família estivesse com dengue?

- Tomaria remédio por conta própria  
 Iria à farmácia e perguntaria ao farmacêutico  
 Iria ao médico ou centro de saúde  
 Tomaria remédio caseiro  
 Outro  
 Não sabe  
 ((várias respostas possíveis))

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_  
 ((ex: tomaria soro))

Na sua opinião, a dengue é uma doença que pode levar a morte?

- Sim  
 Não  
 Não sabe

Na sua opinião, a vacina contra Febre Amarela protege contra a Dengue?

- Sim  
 Não  
 Não sabe

## Características do Domicílio

Page 5 of 29

Percepção do entrevistador

Existe mais de uma família morando no domicílio?	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não ((em toda a extensão do lote))
Se SIM, especifique:	_____ ((número de famílias, ex: 2))
Qual a situação da moradia?	<input type="radio"/> Própria <input type="radio"/> Alugada <input type="radio"/> Financiada <input type="radio"/> Cedida / Empréstada <input type="radio"/> Outra
Se Outra, especifique:	_____ ((ex: arrendada))
Qual o tipo de domicílio?	<input type="radio"/> Individual (Casa) <input type="radio"/> Coletivo (Prédio) <input type="radio"/> Coletivo (Vila) <input type="radio"/> Outro
Se Outro, especifique:	_____ ((ex: domicílio improvisado))
Se for coletivo (prédio), em que andar a família mora?	_____ ((ex: 1))
Se for coletivo (prédio), qual número de apartamentos?	_____ ((ex: 100))
Se for coletivo (prédio), qual o total de andares do prédio?	_____ ((ex: 20))
Se for coletivo (vila), qual o número de residências no lote?	_____ ((ex: 4))
Qual o número total de andares do domicílio?	_____ ((ex: 2))
Qual o número total de andares ocupados pela família?	_____ ((ex: 2))

15/09/2023 2:48pm

projectredcap.org



---

Quantos cômodos existem no domicílio, inclusive banheiro? \_\_\_\_\_  
((ex: 10))

---

Quantos cômodos servem de dormitório no domicílio? \_\_\_\_\_  
((ex: 4))

---

Há cozinha no domicílio?  Sim  
 Não

---

Há cozinha na parte externa do domicílio?  Sim  
 Não

---

Há banheiro(s) no domicílio?  Sim  
 Não

---

Há banheiro(s) na parte externa do domicílio?  Sim  
 Não

---

No domicílio tem aparelho de ar condicionado?  Sim  
 Não

---

Qual a frequência no abastecimento de água no domicílio (pela CAESB)?  Diário  
 Intermitente  
 Não tem  
 Não sabe

---

Se Intermitente, especifique: \_\_\_\_\_  
((quantas vezes tem água por semana))

---

Costuma faltar água no domicílio?  Sempre (quase todo dia)  
 Frequentemente (mais de 1 x por semana)  
 Regularmente (1 x no mês)  
 Raramente (de vez em quando)  
 Nunca  
 Não sabe

---

Se Frequentemente, especifique: \_\_\_\_\_  
((número de vezes por semana, ex: 3))

---

O morador sabe o motivo da falha de abastecimento?  Sim  
 Não

---

Se SIM, especifique: \_\_\_\_\_  
((especificar o motivo) )

---

Nos dias de racionamento (falta de água), como o morador faz para armazenar água?  A caixa d'água é suficiente  
 Armazena em baldes, tanques, garrafões, FECHADOS  
 Armazena em baldes, tanques, garrafões, ABERTOS  
 Cisterna  
 Não tem/teve racionamento  
 Não sabe  
((várias respostas possíveis))

Qual reservatório de água o morador usa no domicílio?	<input type="checkbox"/> Caixa d'água COM tampa <input type="checkbox"/> Caixa d'água SEM tampa <input type="checkbox"/> Outro tipo <input type="checkbox"/> Nenhum <input type="checkbox"/> Não sabe ((várias respostas possíveis))
Se Outro tipo, especifique:	_____
	((ex: cisterna))
O domicílio está em construção ou passando por reforma?	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não
Como é feito o acesso ao domicílio?	<input type="radio"/> Acessado por portaria de condomínio de casas <input type="radio"/> Acessado por portaria de condomínio de prédio <input type="radio"/> Acessado por portaria de condomínio misto (casas e prédios) <input type="radio"/> Acessado diretamente pela rua sem passar por portaria <input type="radio"/> Outro
Se Outro, especifique:	_____
Qual o tipo de construção do domicílio?	<input type="radio"/> Isolado <input type="radio"/> Encostado a uma outra casa (geminado) <input type="radio"/> Encostado a uma parede (apartamento)
Qual a situação do terreno que o domicílio foi implantado?	<input type="radio"/> Área plana <input type="radio"/> Área irregular <input type="radio"/> Declive <input type="radio"/> Outro
Se Outro, especifique:	_____
	((ex: encosta))
Qual material predominante no piso interior do domicílio?	<input type="radio"/> Piso de cerâmica ou porcelanato <input type="radio"/> Piso de madeira (laminado ou tábuas corridas) <input type="radio"/> Piso de cimento queimado <input type="radio"/> Terra batida <input type="radio"/> Outro
Se Outro, especifique:	_____
	((ex: mármore/granito))
Qual material predominante na(s) parede(s) do domicílio?	<input type="radio"/> Alvenaria <input type="radio"/> Madeira <input type="radio"/> Chapa metálica <input type="radio"/> Madeirite <input type="radio"/> Taipa <input type="radio"/> Outro <input type="radio"/> Não há parede

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_  
 ((ex: cimento queimado))

Qual é a principal aplicação do revestimento da(s) parede(s)?

- Pintura  
 Reboco/Cimento  
 Tijolo sem revestimento  
 Outro sem revestimento  
 Outro  
 Não há parede

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_  
 ((ex: gesso))

Qual o formato do telhado do domicílio?

- Plano  
 Declive/Inclinado  
 Ambos  
 Outro

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_  
 ((ex: curvado))

Qual a cor do telhado do domicílio?

- Laranja  
 Verde  
 Marrom  
 Bege  
 Cinza  
 Avermelhado  
 Outro  
 Não foi possível observar

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_

Qual o acabamento do telhado do domicílio?

- Telha aparente  
 Telhado embutido  
 Laje descoberta  
 Outro

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_

Como é o teto no interior do domicílio?

- Com forro (gesso, PVC, mineral)  
 Sem forro  
 Com frestas  
 Laje  
 Outro

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_  
 ((ex: drywall))

Tem calha no telhado do domicílio?

- Sim  
 Não  
 Não sabe / Não foi possível observar

Qual a frequência da limpeza da calha?

- Semanal  
 Mensal  
 Semestral  
 Anual  
 Nunca limpou  
 Outro

Se Outro, especifique?

\_\_\_\_\_  
 ((ex: de 5 em 5 anos))

O domicílio possui algum tipo de área externa?

- Pátio cimentado  
 Jardim e/ou quintal  
 Terraço ou varanda  
 Outro  
 Nenhum dos itens anteriores  
 ((várias respostas possíveis))

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_  
 ((ex: área gourmet))

Há árvores na parte externa do domicílio?

- Sim  
 Não  
 Não foi possível observar

Caso SIM, aproximadamente quantas?

\_\_\_\_\_  
 ((ex: 4))

Há arbustos até 2 m na parte externa do domicílio?

- Sim  
 Não  
 Não foi possível observar

Há vasos de plantas na parte externa no domicílio?

- Sim  
 Não  
 Não foi possível observar

Se SIM, os vasos ficam:

- Dentro de casa  
 Fora de casa

Esses vasos de planta acumulam água?

- Sim  
 Não

Há algum tipo de água parada visível na parte externa do domicílio?

- Sim  
 Não  
 Não foi possível observar

Há recipientes visíveis na parte externa do domicílio que podem acumular água?

- Sim  
 Não  
 Não foi possível observar

Caso SIM, qual (is) recipientes?	<input type="checkbox"/> Prato(s) <input type="checkbox"/> Pote(s) <input type="checkbox"/> Balde(s) <input type="checkbox"/> Pneu(s) <input type="checkbox"/> Garrafa(s) (inclusive pet) <input type="checkbox"/> Frasco(s) <input type="checkbox"/> Vaso(s) de planta <input type="checkbox"/> Descartável(is) <input type="checkbox"/> Caixa d'água destampada <input type="checkbox"/> Cisterna / poço sem tampa <input type="checkbox"/> Outro <input type="checkbox"/> Não foi possível observar ((várias respostas possíveis))
Se Outro, especifique:	_____
	((ex: xaxim))
Alguns desses recipientes contêm água?	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Não foi possível observar
Se SIM, quais recipientes?	_____
	((ex: vasilha do cachorro))
Há animais no domicílio?	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Não foi possível observar
Caso SIM, quais animais?	<input type="checkbox"/> Cão <input type="checkbox"/> Gato <input type="checkbox"/> Galinha <input type="checkbox"/> Coelho <input type="checkbox"/> Roedor (hamster, chinchila, preá, etc) <input type="checkbox"/> Pássaro (calopsita, papagaio, etc) <input type="checkbox"/> Porco <input type="checkbox"/> Animal de grande porte (cavalo, gado, etc) <input type="checkbox"/> Outro ((várias respostas possíveis))
Se Outro, especifique:	_____
	((ex: cobra))
Há piscina no terreno do domicílio?	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Não foi possível observar
Se tem piscina, como é seu uso?	<input type="radio"/> Piscina individual (casa) <input type="radio"/> Piscina coletiva (prédio ou condomínio) <input type="radio"/> Não foi possível observar
Há lago, represa ou chafariz no domicílio?	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Não foi possível observar

## Características do Peri-domicílio

Page 11 of 29

Percepção do entrevistador

Qual o tipo predominante do muro ou cerca da propriedade/casa?

- Não existe
- Muro de alvenaria (tijolo e/ou concreto e/ou cimento)
- Cerca viva
- Cerca de madeira
- Cerca de arame
- Outro

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_  
((ex: muro de vidro))

Caso seja um muro fechado e homogêneo, estime a altura em metros

\_\_\_\_\_  
((ex: 2,5 m))

Qual o tipo de ambiente externo da cerca/muro a uma distância de 10 m?

- Estrada de asfalto
  - Estrada de terra
  - Grama
  - Gramado com árvores ou plantas esparsas
  - Jardim de flores
  - Potes de flores
  - Solo exposto (terra)
  - Terreno pantanoso ou alagado
  - Rio ou córrego
  - Mata
  - Outro
- ( várias respostas possíveis )

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_  
((ex: açude))

Há lixo acumulado no entorno da propriedade/casa?

- Sim
- Não

Caso SIM, onde fica?

- Dentro do terreno da propriedade
  - No terreno vizinho
  - Em terreno baldio próximo
  - Em área pública (rua, praça, etc.)
  - Outro
- ((várias respostas possíveis))

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_  
((ex: na calçada))

Como esse lixo está acumulado?

- Amontoado no chão solto
- Amontoado no chão em sacolas plásticas
- Em caixas ou caixotes
- Em lixeira individual de chão
- Em lixeira individual suspensa
- Em lixeira coletiva aberta
- Em lixeira coletiva fechada do tipo container
- Em lixeira pública do GDF
- Em caçamba de entulho
- Outro

((várias respostas possíveis))

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_  
((ex: em caixa de papelão))

Qual a frequência na coleta do lixo do domicílio?

- Diária
- Mais de 1 x por semana
- Semanal
- Quinzenal
- Não há coleta

Qual a maneira do descarte do lixo do domicílio, caso não haja coleta?

- Queimado
- Jogado na mata ou campo aberto
- Enterrado
- Outro

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_  
((ex: pego pelos catadores))

Existe construção no entorno da propriedade?

- Sim
- Não

Há água acumulada/poças visíveis no entorno da propriedade?

- Sim
- Não

Caso SIM, a água é devido a:

- Piscina
- Lago ou açude
- Rio ou riacho
- Recipientes (vasos, baldes, caixas, etc. .)
- Caixa d'água, cisternas, barris
- Depósitos naturais (buraco de árvore, bromélias, etc.)
- Vazamentos na tubulação
- Lonas de cobertura
- Pneus
- Outras

((várias respostas possíveis))

Se Outras, especifique:

\_\_\_\_\_  
((ex: poça d'água))

Existem alguns desses tipos de construções/atividades nas proximidades?

- Cemitério  
 Terreno baldio  
 Borracharia  
 Oficina mecânica  
 Não há construções  
 Outras  
 ((várias respostas possíveis))

Se Outras, especifique:

\_\_\_\_\_  
 ((ex: escola))

As edificações nas proximidades até 300 m da propriedade são de que tipo?

- Coletiva (prédio residencial)  
 Individual (casa ou sobrado)  
 Industrial  
 Comercial  
 Uso público (escola, igreja, clube, etc.)  
 Não há edificações  
 Outras  
 ((várias respostas possíveis))

Se Outras, especifique:

\_\_\_\_\_  
 ((ex: presídio))

Há árvores visíveis no entorno da propriedade?

- Em todos os lados  
 Em 3 lados  
 Em 2 lados  
 Apenas de um lado  
 Em nenhum dos lados

Há pequenos arbustos (até 2 m) e plantas visíveis no entorno da propriedade?

- Em todos os lados  
 Em 3 lados  
 Em 2 lados  
 Apenas de um lado  
 Em nenhum dos lados

É possível observar animais no entorno da propriedade?

- Sim  
 Não

Caso SIM, especifique o tipo:

- Cachorro  
 Gato  
 Ave (pombo, tucano, pardal, etc)  
 Macaco (sagui, mico)  
 Equino (cavalo, burro, mula, etc)  
 Bovino  
 Suíno  
 Roedor (rato)  
 Outro  
 ((várias respostas possíveis))

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_  
 ((ex: peixe))

## Descrição dos habitantes do domicílio (para cada morador)

Page 14 of 29

Percepção do entrevistado

Deverá ser respondido por cada morador do domicílio.

Qual o seu nome?

\_\_\_\_\_

Se tem apelido. Qual?

\_\_\_\_\_

Qual sua data de nascimento?

\_\_\_\_\_  
((ex: 01/01/2001))

Qual o seu MUNICÍPIO e ESTADO de nascimento?

\_\_\_\_\_  
((ex: Brasília/DF))

Caso nascido(a) em um país estrangeiro, qual?

\_\_\_\_\_  
((Ex: França))

Qual o seu gênero/sexo?

- Feminino
- Masculino
- Outro
- Não quer declarar

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_  
((ex: transgênero))

Qual o seu parentesco com o(a)(s) responsável(is) do domicílio?

- O próprio responsável pelo domicílio
- Companheiro(a)
- Filho(a) / Enteadado (a)
- Pai ou Mãe / Madrasta ou Padrasto
- Irmão(ã)
- Primo(a)
- Tio(a)
- Neto(a) ou Bisneto(a)
- Amigo
- Outro
- Não quer declarar

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_  
((ex: concunhado))

---

Qual o seu grau de instrução?

Analfabeto  
 1º Grau completo  
 1º Grau incompleto  
 2º Grau completo  
 2º Grau incompleto  
 Superior completo  
 Superior incompleto  
 Pós Graduação completa  
 Pós Graduação incompleta  
 Não quer declarar / Não sabe

---

Qual o seu estado civil?

Solteiro  
 Casado  
 União Estável  
 Viúvo  
 Outro  
 Não quer declarar / Não sabe

---

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_

((ex: mora junto))

---

Você exerce alguma atividade principal?

Sim  
 Não  
 Aposentado  
 Não quer declarar

---

Se SIM, especifique:

\_\_\_\_\_

((ex: professor))

---

Você exerce atividade(s) secundária(s)?

Sim  
 Não  
 Não quer declarar

---

Se SIM, especifique:

\_\_\_\_\_

((ex: lutador))

---

Já foi vacinado contra febre amarela?

Sim  
 Não  
 Não sabe

---

Como foi comprovada a vacina para febre amarela?

Carteira de vacina/comprovante  
 Verbal  
 Não foi possível confirmar

---

Qual a data de vacinação para febre amarela?

\_\_\_\_\_

((data exata))

---

Qual a data de vacinação para febre amarela?

\_\_\_\_\_

((data aproximada))

---

Já foi vacinado contra a dengue?

Sim  
 Não  
 Não sabe

Se SIM, onde tomou a vacina para dengue?

\_\_\_\_\_  
 ((ex: São Sebastião/DF))

Tomou a vacina em um estabelecimento de saúde?

- Sim  
 Não

Qual o nome do estabelecimento que tomou a vacina para dengue?

\_\_\_\_\_  
 ((ex: Sabin))

Como foi comprovada a vacina para dengue?

- Carteira de vacina/comprovante  
 Verbal  
 Não foi possível confirmar

Qual a data de vacinação para dengue?

\_\_\_\_\_  
 ((data exata))

Qual a data de vacinação para a dengue?

\_\_\_\_\_  
 ((data aproximada))

Qual a origem da vacina?

- Projeto de pesquisa  
 Outra  
 Não sabe

Se Outra, especifique:

\_\_\_\_\_

Viajou para fora do DF nos últimos 3 meses?

- Sim, 1 viagem nacional  
 Sim, 2 viagens nacionais  
 Sim, 3 ou mais viagens nacionais  
 Sim, 1 viagem internacional  
 Sim, 2 viagens internacionais  
 Sim, 3 ou mais viagens internacionais  
 Não

Para qual município/estado?

\_\_\_\_\_  
 ((ex: Alto Paraíso, Goiás))

Qual município/estado da 2ª viagem?

\_\_\_\_\_

Qual município/estado da 3ª viagem?

\_\_\_\_\_

Caso tenha viajado para o exterior, qual a região e o país?

\_\_\_\_\_  
 ((ex: Península de Iucatã, México))

Caso tenha viajado para o exterior, qual a região e o país da 2ª viagem?

\_\_\_\_\_

Caso tenha viajado para o exterior, qual a região e o país da 3ª viagem?

\_\_\_\_\_

Qual foi a duração da viagem?	<input type="radio"/> Menos de um semana <input type="radio"/> Mais de uma semana <input type="radio"/> Não sabe
Qual foi a duração da viagem internacional?	<input type="radio"/> Menos de um semana <input type="radio"/> Mais de uma semana <input type="radio"/> Não sabe
Qual foi a duração da 2ª viagem?	<input type="radio"/> Menos de 1 semana <input type="radio"/> Mais de 1 semana <input type="radio"/> Não sabe
Qual foi a duração da 2ª viagem internacional?	<input type="radio"/> Menos de 1 semana <input type="radio"/> Mais de 1 semana <input type="radio"/> Não sabe
Qual foi a duração da 3ª viagem?	<input type="radio"/> Menos de 1 semana <input type="radio"/> Mais de 1 semana <input type="radio"/> Não sabe
Qual foi a duração da 3ª viagem internacional?	<input type="radio"/> Menos de 1 semana <input type="radio"/> Mais de 1 semana <input type="radio"/> Não sabe
Qual o tipo de transporte utilizado?	<input type="checkbox"/> Rodoviário (carro, ônibus) <input type="checkbox"/> Aéreo <input type="checkbox"/> Ferroviário <input type="checkbox"/> Aquaviário <input type="checkbox"/> Outro <input type="checkbox"/> Não sabe ( várias respostas possíveis )
Se Outro, especifique:	<hr/> ((ex: tração animal))
Qual o tipo de transporte utilizado na viagem internacional?	<input type="checkbox"/> Rodoviário (carro, ônibus) <input type="checkbox"/> Aéreo <input type="checkbox"/> Ferroviário <input type="checkbox"/> Aquaviário <input type="checkbox"/> Outro <input type="checkbox"/> Não sabe ( várias respostas possíveis))
Se Outro, especifique:	<hr/>
Qual o tipo de transporte utilizado na 2ª viagem?	<input type="checkbox"/> Rodoviário (carro, ônibus) <input type="checkbox"/> Aéreo <input type="checkbox"/> Ferroviário <input type="checkbox"/> Aquaviário <input type="checkbox"/> Outro <input type="checkbox"/> Não sabe ( várias respostas possíveis))
Se Outro, especifique:	<hr/>

Qual o tipo de transporte utilizado na 2ª viagem internacional?

- Rodoviário (carro, ônibus)  
 Aéreo  
 Ferroviário  
 Aquaviário  
 Outro  
 Não sabe  
 ((várias respostas possíveis) )

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_

Qual o tipo de transporte utilizado na 3ª viagem?

- Rodoviário (carro, ônibus)  
 Aéreo  
 Ferroviário  
 Aquaviário  
 Outro  
 Não sabe  
 ( várias respostas possíveis))

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_

Qual o tipo de transporte utilizado na 3ª viagem internacional?

- Rodoviário (carro, ônibus)  
 Aéreo  
 Ferroviário  
 Aquaviário  
 Outro  
 Não sabe  
 ( várias respostas possíveis))

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_

Qual o motivo da viagem?

- Trabalho  
 Visita familiar  
 Lazer  
 Outro  
 Não sabe  
 ( várias respostas possíveis))

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_  
 ((ex: participação em congresso))

Qual o motivo da viagem internacional?

- Trabalho  
 Visita familiar  
 Lazer  
 Outro  
 Não sabe  
 ( várias respostas possíveis))

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_  
 ((ex: intercâmbio))

---

Qual o motivo da 2ª viagem?

- Trabalho  
 Visita familiar  
 Lazer  
 Outro  
 Não sabe  
 ((várias respostas possíveis))

Se Outro, especifique:

---



---

Qual o motivo da 2ª viagem internacional?

- Trabalho  
 Visita familiar  
 Lazer  
 Outro  
 Não sabe  
 ((várias respostas possíveis))

Se Outro, especifique:

---



---

Qual o motivo da 3ª viagem?

- Trabalho  
 Visita familiar  
 Lazer  
 Outro  
 Não sabe  
 ((várias respostas possíveis))

Se Outro, especifique:

---



---

Qual o motivo da 3ª viagem internacional?

- Trabalho  
 Visita familiar  
 Lazer  
 Outro  
 Não sabe  
 ((várias respostas possíveis))

Se Outro, especifique:

---



---

Qual o tipo de hospedagem que ficou instalado?

- Casa de campo/de veraneio  
 Casa de família ou amigo  
 Hotel  
 Pousada  
 Camping  
 Hostel  
 Não sabe  
 ((várias respostas possíveis))

---

Qual o tipo de hospedagem que ficou instalado na viagem internacional?

- Casa/cômodo alugada(o)  
 Casa de família ou amigo  
 Hotel  
 Pousada  
 Camping  
 Hostel  
 Não sabe  
 ((várias respostas possíveis))

Qual o tipo de hospedagem que ficou instalado na 2ª viagem?

Casa de campo/de veraneio  
 Casa de família ou amigo  
 Hotel  
 Pousada  
 Camping  
 Hostel  
 Não sabe  
 ((várias respostas possíveis))

Qual o tipo de hospedagem que ficou instalado na 2ª viagem internacional?

Casa/cômodo alugada(o)  
 Casa de família ou amigo  
 Hotel  
 Pousada  
 Camping  
 Hostel  
 Não sabe  
 ((várias respostas possíveis))

Qual o tipo de hospedagem que ficou instalado na 3ª viagem?

Casa de campo/de veraneio  
 Casa de família ou amigo  
 Hotel  
 Pousada  
 Camping  
 Hostel  
 Não sabe  
 ((várias respostas possíveis))

Qual o tipo de hospedagem que ficou instalado na 3ª viagem internacional?

Casa/cômodo alugada(o)  
 Casa de família ou amigo  
 Hotel  
 Pousada  
 Camping  
 Hostel  
 Não sabe  
 ((várias respostas possíveis))

Frequentou que tipo de áreas durante sua viagem?

Cidade  
 Área rural  
 Natureza (mata, rio, cachoeira)  
 Outra  
 ((várias respostas possíveis) )

Se Outra, especifique:

((ex: afastado da cidade, mas não rural))

Frequentou que tipo de áreas durante sua viagem internacional?

Cidade  
 Área rural  
 Natureza (mata, rio, cachoeira)  
 Outra  
 ((várias respostas possíveis))

Se Outra, especifique:

((ex: afastado da cidade, mas não rural))

Frequentou que tipo de áreas durante sua 2ª viagem?

- Cidade  
 Área rural  
 Natureza (mata, rio, cachoeira)  
 Outra  
 ((várias respostas possíveis))

Se Outra, especifique:

\_\_\_\_\_

Frequentou que tipo de áreas durante sua 2ª viagem internacional?

- Cidade  
 Área rural  
 Natureza (mata, rio, cachoeira)  
 Outra  
 ((várias respostas possíveis))

Se Outra, especifique:

\_\_\_\_\_

Frequentou que tipo de áreas durante sua 3ª viagem?

- Cidade  
 Área rural  
 Natureza (mata, rio, cachoeira)  
 Outra  
 ((várias respostas possíveis))

Se Outra, especifique:

\_\_\_\_\_

Frequentou que tipo de áreas durante sua 3ª viagem internacional?

- Cidade  
 Área rural  
 Natureza (mata, rio, cachoeira)  
 Outra  
 ((várias respostas possíveis))

Se Outra, especifique:

\_\_\_\_\_

Frequentou que tipo de áreas durante sua 3ª viagem internacional?

- Cidade  
 Área rural  
 Natureza (mata, rio, cachoeira)  
 Outra  
 ((várias respostas possíveis))

Se Outra, especifique:

\_\_\_\_\_

Teve contato com quais dessas áreas nos últimos 3 meses dentro DF?

- Mata  
 Floresta  
 Cachoeira  
 Rio  
 Nenhuma  
 Outro  
 Não sabe  
 ((várias respostas possíveis) )

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_

Onde? Especifique:

\_\_\_\_\_ ((município/estado))

Quais as principais atividades realizadas no último mês?

- Trabalho  
 Ensino  
 Lazer  
 Outra  
 Não sabe

Se Outra, especifique:

---

Qual a localização do trabalho?

---

((bairro/setor))

---

Qual a localização do ensino?

---

((bairro/setor))

---

Qual a localização do lazer?

---

((bairro/setor))

---

Achou que ficou exposto(a) à picada de mosquitos em algum desses lugares?

- Sim  
 Não
- 

Qual o turno do trabalho?

- Manhã  
 Tarde  
 Noite  
 Não sabe  
 ( várias respostas possíveis )
- 

Qual o turno do ensino?

- Manhã  
 Tarde  
 Noite  
 Não sabe  
 ((várias respostas possíveis))
- 

Qual o turno do lazer?

- Manhã  
 Tarde  
 Noite  
 Não sabe  
 ((várias respostas possíveis))
- 

Como é local do trabalho?

- Prédio/edifício  
 Casa  
 Ar livre  
 Chácara/fazenda  
 Não sabe  
 ((várias respostas possíveis))
- 

Como é o local do ensino?

- Prédio/edifício  
 Casa  
 Ar livre  
 Chácara/fazenda  
 Não sabe  
 ((várias respostas possíveis))
- 

Como é o local do lazer?

- Prédio/edifício  
 Casa  
 Ar livre  
 Chácara/fazenda  
 Não sabe  
 ((várias respostas possíveis))
- 

Você sabe a duração dessa(s) atividade(s)?

- Sim  
 Não

Se SIM, especifique (trabalho):

\_\_\_\_\_  
((em horas))

Se SIM, especifique (ensino):

\_\_\_\_\_  
((em horas))

Se SIM, especifique (lazer):

\_\_\_\_\_  
((em horas))

Qual o período de jornada do trabalho?

- Diariamente  
 Semanalmente  
 Mensalmente  
 Não sabe

Qual o período de jornada do ensino?

- Diariamente  
 Semanalmente  
 Mensalmente  
 Não sabe

Qual o período de jornada do lazer?

- Diariamente  
 Semanalmente  
 Mensalmente  
 Não sabe

Você frequentou algum serviço de saúde formal nos últimos três meses?

- Sim  
 Não  
 Não sabe

Se SIM, foi:

- Particular  
 Público  
 Ambos  
 Não sabe

Por qual motivo?

- Consulta de rotina  
 Por motivo atípico  
 Ambos  
 Não sabe

Para qual procedimento?

- Exame  
 Curativo  
 Fisioterapia  
 Vacinação  
 Consulta  
 Acompanhamento odontológico  
 Não sabe  
 ((várias respostas possíveis))

Tem atualmente plano de saúde?

- Sim  
 Não  
 Não sabe

Você frequentou alguma terapia alternativa nos últimos três meses?

- Sim  
 Não

Se SIM, especifique:

\_\_\_\_\_  
 ((ex: Reiki))

Você tem alguma doença crônica?

- Sim  
 Não  
 Não sabe

Se SIM, qual(is)?

\_\_\_\_\_  
 ((ex: diabetes))

Se SIM, quais foram os sintomas?

- Febre alta (pirexia)  
 Dores musculares (mialgia) e articulares (artralgia)  
 Dor ao redor dos olhos (dor retro-orbitária)  
 Dor de cabeça (cefaléia)  
 Perda do apetite  
 Náuseas  
 Vômitos  
 Prostração (abatimento)  
 Manchas vermelhas na pele (exantema)  
 Outro(s)  
 Não sabe  
 ((várias respostas possíveis))

Se Outro(s), especifique:

\_\_\_\_\_  
 ((ex: coriza, tosse))

Alguns dos membros da sua família estiveram doentes nos últimos 3 meses?

- Sim  
 Não  
 Não sabe

Você já teve dengue?

- Sim  
 Não  
 Não sabe

Se NÃO, você acha que já teve dengue mas não foi confirmada?

- Sim  
 Não  
 Não sabe

Se SIM, quantas vezes teve dengue?

- 1  
 2  
 3  
 4  
 Não sabe

Você lembra quando foi a última vez que teve dengue?

- Sim  
 Não

Se SIM, quando?

\_\_\_\_\_  
 ((data aproximada))

Você foi ao médico se consultar?

- Sim  
 Não  
 Não sabe

Caso SIM, que tipo de médico?	<input type="radio"/> Particular <input type="radio"/> Público <input type="radio"/> Não sabe
Qual a modalidade médica?	<input type="radio"/> Emergência <input type="radio"/> Urgência <input type="radio"/> Consulta marcada <input type="radio"/> Não sabe
Onde você foi atendido?	<input type="radio"/> Posto de saúde <input type="radio"/> UPA <input type="radio"/> Hospital público ou privado <input type="radio"/> Clínica particular <input type="radio"/> Outro <input type="radio"/> Não sabe
Se Outro, especifique:	_____
	((ex: ambulância))
Qual o nome do(s) local(is) onde foi atendido?	_____
	((ex: Hospital Santa Marta))
O que te motivou a procurar esse estabelecimento?	<input type="radio"/> Proximidade do local de residência <input type="radio"/> Proximidade do local da(s) atividade(s) <input type="radio"/> Qualidade do atendimento <input type="radio"/> Indicação <input type="radio"/> Hábito/ preferência <input type="radio"/> Cadastro do SUS (cartão UBS) <input type="radio"/> Outro
Se Outro, especifique:	_____
	((ex: especialidade médica))
Foi mais de uma vez ao médico ou hospital ou posto de saúde até confirmar a dengue?	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Não sabe
Teve confirmação através do exame de sangue para dengue?	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Não sabe
Você sabe onde pegou dengue?	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não
Se SIM, especifique:	_____
	((município/UF/local exato))
Você já teve Zika?	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Não sabe

Se NÃO, você acha que já teve zika mas não foi confirmada?	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Não sabe
Se SIM, quantas vezes teve Zika?	<input type="radio"/> 1 <input type="radio"/> Mais de 1 <input type="radio"/> Não sabe
Você lembra quando foi a última vez que teve Zika?	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não
Se SIM, quando?	<input type="text" value="((data aproximada))"/>
Você foi ao médico se consultar?	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Não sabe
Caso SIM, que tipo de médico?	<input type="radio"/> Particular <input type="radio"/> Público <input type="radio"/> Não sabe
Qual a modalidade médica?	<input type="radio"/> Emergência <input type="radio"/> Urgência <input type="radio"/> Consulta marcada <input type="radio"/> Não sabe
Onde foi atendido?	<input type="radio"/> Posto de saúde <input type="radio"/> UPA <input type="radio"/> Hospital público ou privado <input type="radio"/> Clínica particular <input type="radio"/> Outro <input type="radio"/> Não sabe
Se Outro, especifique:	<input type="text" value="((ex: ambulância))"/>
Qual o nome do(s) local(is) onde foi atendido?	<input type="text" value="((ex: HRT))"/>
Foi mais de uma vez ao médico ou hospital ou posto de saúde até confirmar a Zika?	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Não sabe
Fez exame de sangue?	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Não sabe
Teve confirmação através do exame de sangue para Zika?	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Não sabe
Você sabe onde pegou Zika?	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não

Se SIM, especifique:

\_\_\_\_\_  
 ((município/UF/local exato))

Você já teve Chikungunya?

- Sim  
 Não  
 Não sabe

Se NÃO, você acha que teve chikungunya mas não foi confirmada?

- Sim  
 Não  
 Não sabe

Se SIM, quantas vezes acha que teve Chikungunya?

- 1  
 Mais de 1  
 Não sabe

Você lembra quando foi a última vez que teve Chikungunya?

- Sim  
 Não

Se SIM, quando?

\_\_\_\_\_  
 ((data aproximada))

Você foi ao médico se consultar?

- Sim  
 Não  
 Não sabe

Caso SIM, que tipo de médico?

- Particular  
 Público  
 Não sabe

Qual a modalidade médica?

- Emergência  
 Urgência  
 Consulta marcada  
 Não sabe

Onde foi atendido?

- Posto de saúde  
 UPA  
 Hospital público ou privado  
 Clínica particular  
 Outro  
 Não sabe

Se Outro, especifique:

\_\_\_\_\_  
 ((ex: ambulância))

Qual o nome do(s) local(is) onde foi atendido?

\_\_\_\_\_  
 ((ex: HRAN))

Foi mais de uma vez ao médico ou hospital ou posto de saúde até confirmar a Chikungunya?

- Sim  
 Não  
 Não sabe

Fez exame de sangue?	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Não sabe
Teve confirmação através do exame de sangue para Chikungunya?	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Não sabe
Você sabe onde pegou Chikungunya?	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não
Se SIM, especifique:	_____
	((município/UF/local exato))
Você já teve Febre Amarela?	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Não sabe
Se NÃO, você acha que já teve febre amarela mas não foi confirmada?	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Não sabe
Se SIM, quantas vezes teve Febre Amarela antes?	<input type="radio"/> 1 <input type="radio"/> Mais de 1 <input type="radio"/> Não sabe
Você lembra quando foi a última vez que teve Febre Amarela?	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não
Se SIM, quando?	_____
	((data aproximada))
Você foi ao médico se consultar?	<input type="radio"/> Sim <input type="radio"/> Não <input type="radio"/> Não sabe
Caso SIM, que tipo de médico?	<input type="radio"/> Particular <input type="radio"/> Público <input type="radio"/> Não sabe
Qual a modalidade médica?	<input type="radio"/> Emergência <input type="radio"/> Urgência <input type="radio"/> Consulta marcada <input type="radio"/> Não sabe
Onde foi atendido?	<input type="radio"/> Posto de saúde <input type="radio"/> UPA <input type="radio"/> Hospital público ou privado <input type="radio"/> Clínica particular <input type="radio"/> Outro <input type="radio"/> Não sabe
Se Outro, especifique:	_____
	((ex: ambulância))

---

Qual o nome do(s) local(is) onde foi atendido?

\_\_\_\_\_  
((ex: UBS nº 5))

---

Foi mais de uma vez ao médico ou hospital ou posto de saúde até confirmar a Febre Amarela?

- Sim  
 Não  
 Não sabe

---

Fez exame de sangue?

- Sim  
 Não  
 Não sabe

---

Teve confirmação através do exame de sangue para Febre Amarela?

- Sim  
 Não  
 Não sabe

---

Você sabe onde pegou Febre Amarela?

- Sim  
 Não

---

Se SIM, especifique:

\_\_\_\_\_  
((município/UF/local exato))

## 10. ANEXOS

### 10.1 Anexo 1 – Parecer de aprovação do CEP

UNB - FACULDADE DE  
MEDICINA DA UNIVERSIDADE  
DE BRASÍLIA



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Distribuição espacial das arboviroses (Dengue, Zika e Chikungunya). Inquérito soroprevalência e sua percepção pela população

**Pesquisador:** Walter Massa Ramalho

**Área Temática:**

**Versão:** 4

**CAAE:** 07443418.4.0000.5558

**Instituição Proponente:** Núcleo de Medicina Tropical

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 3.368.167

##### Apresentação do Projeto:

Trata-se de estudo de soroprevalência das arboviroses em população selecionada do Distrito Federal.

##### Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Analisar a distribuição espacial e fatores associados à infecções pelos vírus Zika, Chikungunya e Dengue no Distrito Federal.

##### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos reportados são relacionados à realização da punção venosa e ao acesso das informações pessoais dos pacientes.

Os benefícios são relacionados à melhor descrição da frequência das arboviroses (dado transversal) em pacientes que residem no Distrito Federal.

##### Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa tem grande potencial benéfico para a informação em saúde do Distrito Federal com risco mínimo asseguradas as boas práticas em pesquisa.

##### Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados

**Endereço:** Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Faculdade de Medicina  
**Bairro:** Asa Norte **CEP:** 70.910-900  
**UF:** DF **Município:** BRASÍLIA  
**Telefone:** (61)3107-1918 **E-mail:** cepfm@unb.br

UNB - FACULDADE DE  
MEDICINA DA UNIVERSIDADE  
DE BRASÍLIA



Continuação do Parecer: 3.368.167

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Os pesquisadores corrigiram o termo de consentimento para novos acessos ao biorepositório.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Projeto apreciado na 5ª Reunião Ordinária do CEP-FM-UnB-2019. Após apresentação do parecer do (a) Relator (a), aberta a discussão para os membros do Colegiado. O projeto foi Aprovado.

De acordo com a Resolução 466/2012-CONEP/CNS, itens X.1. - 3.b. e XI. -2.d, este Comitê chama a atenção da obrigatoriedade de envio do relatório parcial semestral e final do projeto de pesquisa para o CEP -FM, através de Notificações submetidas pela Plataforma Brasil, contados a partir da data de aprovação do protocolo de pesquisa.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_169575.pdf	13/05/2019 09:15:15		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4_3_TCLE_responsavelmenores.pdf	13/05/2019 09:14:40	Walter Massa Ramalho	Aceito
Outros	4_3_Carta.pdf	13/05/2019 09:13:10	Walter Massa Ramalho	Aceito
Brochura Pesquisa	4_1_Projeto.pdf	13/05/2019	Walter Massa	Aceito

Endereço: Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Faculdade de Medicina  
 Bairro: Asa Norte CEP: 70.910-900  
 UF: DF Município: BRASÍLIA  
 Telefone: (61)3107-1918 E-mail: cepfm@unb.br

Página 2 de 04

UNB - FACULDADE DE  
 MEDICINA DA UNIVERSIDADE  
 DE BRASÍLIA



Continuação do Parecer: 3.368.167


Brochura Pesquisa	4_1_Projeto.pdf	09:00:38	Ramalho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4_3_TCLE_Assentimento.pdf	13/05/2019 09:00:15	Walter Massa Ramalho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	4_3_TCLE.pdf	13/05/2019 08:59:45	Walter Massa Ramalho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	3_1_Projeto.pdf	10/04/2019 23:14:21	Walter Massa Ramalho	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	3_5_declaracao_biorepositorio.pdf	10/04/2019 23:12:40	Walter Massa Ramalho	Aceito
Outros	3_4_Questionario.pdf	10/04/2019 23:11:55	Walter Massa Ramalho	Aceito
Outros	3_3_TCLE_Assentimento.pdf	10/04/2019 23:11:16	Walter Massa Ramalho	Aceito
Recurso Anexado pelo Pesquisador	3_CartaaoCEP.pdf	10/04/2019 23:10:50	Walter Massa Ramalho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	3_2_TCLE.pdf	10/04/2019 23:10:16	Walter Massa Ramalho	Aceito
Cronograma	N_CRONOGRAMA.pdf	28/01/2019 23:06:44	Walter Massa Ramalho	Aceito
Outros	CV_RODRIGOHADDAD.pdf	28/01/2019 23:01:25	Walter Massa Ramalho	Aceito
Outros	CV_HELENGURGEL.pdf	28/01/2019 23:01:06	Walter Massa Ramalho	Aceito
Outros	CV_CHRISTOVAMBARCELLOS.pdf	28/01/2019 23:00:34	Walter Massa Ramalho	Aceito
Outros	CV_WILDONAVEGANTES.pdf	28/01/2019 22:06:49	Walter Massa Ramalho	Aceito
Outros	CV_EMMNUELROUX.pdf	28/01/2019 22:05:40	Walter Massa Ramalho	Aceito
Outros	CV_WALTERRAMALHO.pdf	28/01/2019 22:05:03	Walter Massa Ramalho	Aceito
Outros	CV_ANDREFENNER.pdf	28/01/2019 21:53:49	Walter Massa Ramalho	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	N11_Termo_Concordancia_Proponente.pdf	28/01/2019 15:16:05	Walter Massa Ramalho	Aceito

Orçamento	N07_planilha_orcamentaria.pdf	28/01/2019	Walter Massa	Aceito
-----------	-------------------------------	------------	--------------	--------

**Endereço:** Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Faculdade de Medicina  
**Bairro:** Asa Norte **CEP:** 70.910-900  
**UF:** DF **Município:** BRASÍLIA  
**Telefone:** (61)3107-1918 **E-mail:** cepfm@unb.br

Página 3 de 04

UNB - FACULDADE DE  
 MEDICINA DA UNIVERSIDADE  
 DE BRASÍLIA



Continuação do Parecer: 3.368.167

Orçamento	N07_planilha_orcamentaria.pdf	10:43:45	Ramalho	Aceito
Outros	N12_Termoconcordancia_coparticipante.pdf	28/01/2019 10:42:36	Walter Massa Ramalho	Aceito
Declaração de Pesquisadores	N06_Declaracao_Responsabilidade.pdf	28/01/2019 10:41:11	Walter Massa Ramalho	Aceito
Outros	N04_cartaencaminhamento.pdf	28/01/2019 10:39:18	Walter Massa Ramalho	Aceito
Folha de Rosto	N_folhaDeRosto_assinada.pdf	27/01/2019 11:08:33	Walter Massa Ramalho	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

BRASÍLIA, 04 de Junho de 2019

Assinado por:  
**Antônio Carlos Rodrigues da Cunha**  
 (Coordenador(a))

**Endereço:** Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Faculdade de Medicina  
**Bairro:** Asa Norte **CEP:** 70.910-900  
**UF:** DF **Município:** BRASÍLIA  
**Telefone:** (61)3107-1918 **E-mail:** cepfm@unb.br

Página 4 de 04

## 10.2 Anexo 2 – Submissão Artigo 1

**CURRENT STATUS**

### We've received your submission and are now running technical checks

We are checking your submission against our journal guidelines and policies. If there is anything we need we will email [tay.nobre@hotmail.com](mailto:tay.nobre@hotmail.com).

**Need help?**

Learn [what happens after you submit](#).

If you have any questions about this submission, you can [email the Editorial Office](mailto:jammel.onciangco@springernature.com) (jammel.onciangco@springernature.com).

For general enquiries, please look at our [support information](#).

**How was your experience today?**

Awful  Bad  OK  Good  Great

[Send feedback](#)

**Progress so far** [Show history](#)

- Submission received
- Technical check

---

**Your submission**

**Title**  
Urban arbovirus underreporting in a hyperendemic area of Brazil: a population-based survey and implications for public health surveillance

**Type**  
Research

**Journal**  
BMC Infectious Diseases

**Collection**  
Neglected tropical diseases

**Submission ID**  
83c50965-f24a-4cb3-bb1f-13e2a0036ef3

## 10.3 Anexo 3 – Artigo publicado relacionado ao tema da pesquisa

Rufalco-Moutinho et al. *Parasites & Vectors* (2021) 14:610  
<https://doi.org/10.1186/s13071-021-05110-9>

Parasites & Vectors

RESEARCH

Open Access



# Evidence of co-circulation of multiple arboviruses transmitted by *Aedes* species based on laboratory syndromic surveillance at a health unit in a slum of the Federal District, Brazil

Paulo Rufalco-Moutinho<sup>1\*</sup>, Lorena Aparecida Gonçalves de Noronha<sup>2</sup>, Tatyane de Souza Cardoso Quintão<sup>1</sup>, Tayane Ferreira Nobre<sup>1</sup>, Ana Paula Sampaio Cardoso<sup>1</sup>, Daiani Cristina Cilião-Alves<sup>3</sup>, Marco Aurélio Bellocchio Júnior<sup>4</sup>, Mateus de Paula von Glehn<sup>4</sup>, Rodrigo Haddad<sup>1,2</sup>, Gustavo Adolfo Sierra Romero<sup>1</sup> and Wildo Navegantes de Araújo<sup>1,2</sup>

### Abstract

**Background:** Vector-borne diseases, especially arboviruses transmitted by *Aedes* sp. mosquitos, should be a health policy priority in Brazil. Despite this urgency, there are significant limitations in the traditional surveillance system, mainly in vulnerable areas. This study aimed to investigate the circulation of dengue (DENV), Zika (ZIKV), and chikungunya viruses (CHIKV) by laboratory syndromic surveillance (LSS) in a slum area of the Federal District of Brazil, comparing the results with traditional surveillance data.

**Methods:** LSS for acute febrile and/or exanthematous symptoms was developed at a health unit of Cidade Estrutural, in order to identify the circulation of arboviruses transmitted by *Aedes* sp. mosquitos. Between June 2019 and March 2020, 131 valid participants were identified and sera tested by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) for DENV (by serotype), ZIKV, and CHIKV acute infection and by immunoglobulin M enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA-IgM) for DENV and CHIKV 15–21 days after symptom onset, when the participant reported no respiratory signs (cough and/or coryza). The results obtained were compared with traditional surveillance data for the study area and period.

**Results:** At least three DENV-1 (2.3%), four DENV-2 (3%), and one CHIKV (0.7%) cases were confirmed in the laboratory, showing evidence of hyperendemicity even though LSS had not reached the historic peak dengue fever months in the Federal District (April–May). When the results obtained here were compared with traditional surveillance, a significant discrepancy was observed, including underreporting of CHIKV infection.

**Conclusions:** In addition to the risks posed to the study population, the area investigated with its respective socio-environmental profile may be a potential site for spread of the virus, given the cosmopolitan presence of *Aedes* sp. and human mobility in the Federal District. It is also suggested that traditional epidemiological surveillance may be reporting acute viral infections other than DENV as dengue fever, while underreporting other arboviruses transmitted by *Aedes* sp. mosquitos in the Federal District.

\*Correspondence: paulorufalco@gmail.com

<sup>1</sup>Center of Tropical Medicine, University of Brasília, Federal District, Brazil  
Full list of author information is available at the end of the article



© The Author(s) 2021. **Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated in a credit line to the data.