

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Centro de Desenvolvimento Tecnológico**  
**Curso de Graduação em Biotecnologia**

**Trabalho de Conclusão de Curso**



**Viroses emergentes: monitoramento de novos patógenos virais com potencial  
pandêmico**

**Elias Eduardo Barbosa da Rosa**

**Pelotas, 2021**

**Elias Eduardo Barbosa da Rosa**

**Viroses emergentes: monitoramento de novos patógenos virais com potencial  
pandêmico**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Alan John Alexander McBride

Pelotas, 2021

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

R788v Rosa, Elias Eduardo Barbosa da

Viroses emergentes : monitoramento de novos patógenos virais com potencial pandêmico / Elias Eduardo Barbosa da Rosa ; Alan John Alexander McBride, orientador. – Pelotas, 2021.

61 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biotecnologia) – Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, 2021.

1. Transbordamento zoonótico. 2. Metagenômica. 3. Imunoinformática. 4. Vigilância de patógenos. 5. Revisão narrativa. I. McBride, Alan John Alexander, orient. II. Título.

CDD : 614.57

**Elias Eduardo Barbosa da Rosa**

**Viroses emergentes: monitoramento de novos patógenos virais com potencial  
pandêmico**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado, como requisito parcial, para obtenção do grau de Bacharel em Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 11/06/2021

Banca examinadora:

Prof. Dr. Alan John Alexander McBride (Orientador, Universidade Federal de Pelotas, Centro de Desenvolvimento Tecnológico)

Dr. Amilton Clair Pinto Seixas Junior (Universidade Federal de Pelotas, Centro de Desenvolvimento Tecnológico)

MSc. Liana Nunes Barbosa (Universidade Federal de Pelotas, Centro de Desenvolvimento Tecnológico)

MSc. Everton Burlamarque Bettin (Universidade Federal de Pelotas, Centro de Desenvolvimento Tecnológico)

## **Agradecimentos**

A primeira pessoa a quem dedico estes agradecimentos é meu orientador, Prof. Dr. Alan McBride. Obrigado pela orientação, pela liberdade em desenvolver este trabalho e por teres acreditado em mim desde o segundo semestre da minha graduação. Foste o primeiro a me acolher num ambiente onde ética, profissionalismo e empatia sempre prevaleceram. Sinto-me privilegiado de ter feito parte de sua equipe ao longo destes 4 anos.

Um agradecimento especial vai para aquela que é meu maior exemplo de pesquisadora. Aquela que coloriu os meus dias cinzas naquele campus e que é perseverante e batalhadora. Uma das pessoas mais incríveis que conheci e uma das maiores amigas que posso ter. Liana, sou muito grato pelos momentos que tive contigo. Seja na felicidade, na tristeza, nos almoços do RU, no desfrute de um bolinho de pote, ou ainda durante as tuas contagens de leptospiras e nos dias de biotério, foste a protagonista destes momentos e o exemplo que reverberou como uma força incansável de quem sempre foi, indubitavelmente, empática, sensível, responsável e ética em absolutamente todos os preceitos. Não consigo imaginar o que seria de mim se não fosse a preciosidade das qualidades que carregas contigo.

Agradeço à minha família que é meu maior alicerce. Em especial, às minhas três mães que me nutriram com os maiores sentimentos e virtudes: Carolina pelo sopro da vida, Neida pela sua ternura e Vera por ser a minha heroína e a motivação de todo meu esforço. Ao meu pai, Valdir, pela admiração e apoio incondicional. Ao meu padrasto, Albino, pelo acolhimento. Aos meus irmãos, Vânia e Wagner, que foram as melhores companhias desde sempre e que me deram a distinta honra de ser tio e padrinho de três meninas que alegam minha existência: Camila, Mariana e Lívia. Vocês são o propulsor do meu empenho e absolutamente tudo o que faço é pensando em cada um de vocês.

Não posso esquecer de agradecer aos meus sublimes amigos que brilham na constelação do céu da minha vida. Celina e Fábio, por serem companheiros de longa data da minha família. Alessandra, pelo apreço e empatia de sempre. Ketnen, pela grandiosa lealdade e companhia ímpares. Marília, por todas as aventuras e os passeios de bicicleta. Pamela e Karina, pelo carinho transmitido através do chimarrão e sorrisos. Thábata, pela amizade imutável e risadas. Não posso deixar de citar Airton, Izadora, Lucas Machado, Sarah e Marina cujo contato e admiração ultrapassaram as

barreiras do ensino médio. Também sou grato pelos companheiros de sala de aula e de curso que abrilhantaram e enriqueceram meus dias: Ana Vitória, Beatriz, Guilherme Sousa, Jackson, João, Nicole, Maria Luiza e demais colegas.

Agradeço aos queridos integrantes que fazem ou já fizeram parte do Laboratório de Pesquisas em Doenças Infecciosas, em especial, Alice, Bruna, Bianca, Cacá, Guilherme Augusto, Gabriana, Lucas Santos e Vítor pelo ótimo ambiente de trabalho proporcionados pela camaradagem e boa convivência.

Por fim, agradeço à Universidade Federal de Pelotas, corpo docente e funcionários do curso de Biotecnologia e demais repartições da universidade, agências de fomento à pesquisa e a banca examinadora deste trabalho que, sem dúvidas, também foram relevantes na minha jornada acadêmica.

Se existe uma palavra que resuma o sentimento dos meus agradecimentos essa palavra é a saudade. Há mais de um ano que não podemos compartilhar sorrisos e histórias pessoalmente. Fica registrado aqui o anseio por dias melhores.

Muitíssimo obrigado,

Elias Eduardo Barbosa da Rosa

*“La hora se acerca, es el momento. Vas a ganar cada batalla, ya lo presiento. Hay que empezar de cero para tocar el cielo”*

*Shakira*

## Resumo

ROSA, Elias Eduardo Barbosa da. **Viroses emergentes: monitoramento de novos patógenos virais com potencial pandêmico**. Orientador: Prof. Dr. Alan John Alexander McBride. 2021. 61 f. Trabalho de Conclusão Curso (Graduação em Biotecnologia) – Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2021.

As doenças infecciosas causadas por vírus representam uma constante ameaça global provocando impactos capazes de mudar a história humana. Com a consolidação da agricultura, interações entre pessoas e animais reservatórios, bem como vetores, passaram a ser mais recorrentes suscitando epidemias e pandemias que foram responsáveis por milhões de mortes e moldaram o modo de vida das sociedades acometidas por esses eventos. Os patógenos acompanham os seres humanos desde os mais remotos tempos e continuarão a evoluir se tornando cada vez mais presentes. Sabe-se que mais de 60% de todas as doenças infecciosas emergentes são causadas por organismos de origem zoonótica e pelo menos 71,8% dessas enfermidades foram originadas especificamente de animais selvagens. Portanto, o entendimento acerca do transbordamento zoonótico — processo pelo qual patógenos como vírus conseguem superar uma série de barreiras entre espécies animais até ter sucesso em infectar humanos — não somente fornece uma visão de como a diversidade microbiana interage com o ambiente, mas também permite traçar estratégias para evitar que isso aconteça ou permite melhor planejamento para uma futura pandemia. Além disso, é importante evidenciar quais ferramentas e abordagens do campo da biotecnologia podem facilitar a compreensão desses fenômenos. Dentre as técnicas que se destacam estão a metagenômica e imunoinformática que podem assumir grande importância, por exemplo, em sistemas de vigilância de patógenos com risco de transbordamento e no desenvolvimento rápido e eficiente de vacinas. Este trabalho faz a condução de uma narrativa através de fatores antropogênicos e naturais que podem influenciar o surgimento de pandemias virais e exemplifica o uso de projetos e estratégias que podem ser usadas para atenuar esse processo.

Palavras-chave: Transbordamento zoonótico. Metagenômica. Imunoinformática. Vigilância de patógenos. Revisão narrativa



## Abstract

ROSA, Elias Eduardo Barbosa da. **Emerging viral diseases: surveillance of new viral pathogens with pandemic potential**. Advisor: Prof. Dr. Alan John Alexander McBride. 2021. 61 p. Term paper (Bachelor's Degree in Biotechnology) – Center for Technological Development, Federal University of Pelotas, Pelotas, 2021.

Infectious diseases caused by viruses represent a constant global threat, causing impacts that can change human history. With the consolidation of agriculture, interactions between people and reservoir animals, as well as vectors, became more recurrent, causing epidemics and pandemics that were responsible for millions of deaths and shaped the way of life of the societies affected by these events. Pathogens have been with humans since the most remote times and will continue to evolve, becoming more and more present. It is known that more than 60% of all emerging infectious diseases are caused by organisms of zoonotic origin and at least 71.8% of these diseases originated specifically from wild animals. In view of this problem, understanding zoonotic spillover — the process by which pathogens such as viruses are able to overcome a series of barriers between animal species until they succeed in infecting humans — not only provides insight into how microbial diversity interacts with the environment, but also allows for devising strategies to prevent this from happening and permits better planning for a future pandemic. Therefore, it is important to highlight which tools and approaches in the field of Biotechnology can facilitate the understanding of these phenomena. Among the techniques that stand out are metagenomics and immunoinformatics, which can assume great importance, for example, in surveillance systems of pathogens with risk of spillover and in the rapid and efficient development of vaccines. This work conducts a narrative through anthropogenic and natural factors that can influence the emergence of viral pandemics and exemplifies the use of projects and strategies that can be used to mitigate this process.

Keywords: Zoonotic spillover. Metagenomics. Immunoinformatics. Pathogen surveillance. Narrative review

## Lista de Figuras

Figura 1 - Esquematização das palavras-chave usadas na busca de publicações...	17
Figura 2 - Esquematização do processo de transbordamento zoonótico e suas barreiras.....	28
Figura 3 - Mecanismo geral para a identificação de novos vírus com emprego da metagenômica.....	39
Figura 4 - Representação esquemática das etapas essenciais do desenvolvimento de vacinas comparando a abordagem da vacinologia convencional com a vacinologia reversa. ....	42
Figura 5 - Abordagens gerais de vacinologia que podem ser derivadas a partir da imunoinformática.....	43
Figura 6 - Exemplo de medidas que podem ser tomadas para prevenir uma nova pandemia em cinco etapas.....	47
Figura 7 - Esquema do processo de descoberta de patógenos virais que é feito pelo programa PREDICT. ....	48
Figura 8 - Como o projeto PREDICT utiliza a descoberta de vírus para entender o risco zoonótico.....	48

## Lista de Tabelas

Tabela 1 - Notáveis pandemias e grandes epidemias que marcaram a história humana.....	20
Tabela 2 - As dez maiores causas de morte no mundo em 2019 .....	23
Tabela 3 - Comparação da vacinologia tradicional com a vacinologia reversa .....	41
Tabela 4 - Exemplo de ferramentas <i>online</i> que podem ser usadas nas análises de imunoinformática .....	43
Tabela 5 - <i>Ranking</i> dos dez vírus com risco de causar pandemias .....	46

## Lista de abreviaturas

a.C	Antes de cristo
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (do inglês: <i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i> )
AP PCR	Reação em cadeia da polimerase de iniciação arbitrária (do inglês: <i>arbitrarily primed polymerase chain reaction</i> )
ca.	Aproximadamente, por volta de (do latim: <i>Circa</i> )
CDC	Centros de Controle e Prevenção de Doenças dos EUA (do inglês: <i>Centers for Disease Control and Prevention</i> )
CEPI	Coalizão para Inovações em Preparação para Epidemias (do inglês: <i>Coalition for Epidemic Preparedness Innovation</i> )
COVID-19	Doença por Coronavírus 2019 (do inglês: <i>Coronavirus Disease 2019</i> )
cPCR	Reação em cadeia da polimerase consenso (do inglês: <i>consensus polymerase chain reaction</i> )
cDNA	DNA complementar
DNA	Ácido desoxirribonucleico (do inglês: <i>Desoxyribonucleic acid</i> )
EPT	Programa de Ameaças pandêmicas emergentes (do inglês: <i>Emerging Pandemic Threats</i> )
HIV	vírus da imunodeficiência humana (do inglês: <i>human immunodeficiency virus</i> )
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde
PIB	Produto Interno Bruto
PCR	Reação em cadeia da polimerase (do inglês: <i>polymerase chain reaction</i> )
RNA	ácido ribonucleico (do inglês: <i>ribonucleic acid</i> )
SARS	Síndrome respiratória aguda grave (do inglês: <i>Severe Acute Respiratory Syndrome</i> )
SARS-CoV-2	Coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 (do inglês: <i>severe acute respiratory syndrome coronavirus 2</i> )
Séc.	Século

SNPs Polimorfismos de nucleotídeo único (do inglês: *single nucleotide polymorphism*)

USAID Agência dos Estados Unidos para o Desenvolvimento Internacional (do inglês: *United States Agency for International Development*)

### **Lista de símbolos**

~ aproximação  
> maior que

## Sumário

1. Introdução.....	14
2. Objetivos.....	16
2.1 Objetivo geral.....	16
2.2 Objetivos específicos .....	16
3. Metodologia .....	17
4. Revisão da Literatura .....	18
4.1 Definição de doença infecciosa emergente .....	18
4.2 Epidemias, pandemias e suas relações com a história humana.....	18
4.3 Panorama e impacto das doenças infecciosas virais.....	21
4.4 Comportamento humano e o surgimento de zoonoses com potencial pandêmico .....	24
4.5 Barreiras que afetam o transbordamento zoonótico .....	27
4.5.1 A relação do clima e das mudanças climáticas com o transbordamento zoonótico.....	30
4.6 Transbordamento zoonótico e a ameaça à diversidade animal .....	32
4.7 Importância do entendimento do processo de transbordamento zoonótico na previsão de pandemias .....	34
4.8 Estratégias biotecnológicas que podem ser usadas para monitoramento de novos patógenos virais .....	35
4.8.1 Metagenômica viral .....	35
4.8.2 Vacinologia reversa e imunoinformática .....	39
4.8.3 Esforços internacionais para vigilância de patógenos virais .....	44
4.8.3.1 Doença X .....	44
4.8.3.2 Sistemas de vigilância.....	45
5. Conclusão .....	50
6. Referências bibliográficas .....	52

## 1. Introdução

Assim que os humanos passaram de caçadores-coletores para agrupamentos de agricultores, a coexistência de microrganismos com potencial de causar doenças infecciosas que resultariam em mortandades passou a ser cada vez mais recorrente na trajetória da nossa história como sociedade. (DOBSON; CARPER, 1996; HAYS, 2005). Como consequência da consolidação da agricultura, diminuição da mobilidade das populações e do aumento de povoados humanos houve o estabelecimento de condições propícias para disseminação e manutenção de doenças infecciosas, bem como o aumento da carga de patógenos em humanos. (LARSEN, 1995). A expansão contínua das populações humanas ao longo da história e seu modo de convívio em sociedade suscitaram um aumento na interação com patógenos com potencial de causar epidemias e, nas últimas décadas, devido ao contexto da globalização, também pandemias (REPERANT; CORNAGLIA; OSTERHAUS, 2012).

Diferentemente de outros tipos de patologias — como as de origem genética, traumática, degenerativa e neoplásica — as doenças infecciosas em sua grande maioria, dependem do contato direto ou indiretamente por meio de vetores, entre indivíduos da mesma espécie ou, nas zoonoses, de indivíduos de diferentes espécies (FENNER, 1968). Deste modo, é sabido que o modo de organização social, como o tamanho da comunidade e o grau e frequência de contato — entre indivíduos do mesmo grupo e de diferentes comunidades — desempenharam um papel importante na determinação da natureza e prevalência das doenças infecciosas no humano moderno (FENNER, 1968).

Sendo assim, as doenças infecciosas causadas por vírus representam uma constante ameaça à biodiversidade no qual estamos inseridos provocando impactos regionais em forma de epidemias e desordens globais, como no caso de pandemias. Tendo em vista que as viroses emergentes estão se tornando cada vez mais recorrentes, torna-se necessário estar ciente do funcionamento de determinados fenômenos relacionados a essa problemática sejam eles naturais ou ocasionados pela humanidade. Um destes fenômenos é o transbordamento zoonótico que é o processo de vários níveis pelo qual os patógenos como vírus conseguem superar uma série de barreiras hierárquicas e conseqüentemente infectar outras espécies até ter sucesso em desencadear uma infecção em seres humanos (DASZAK; CUNNINGHAM;

HYATT, 2000; GORTAZAR *et al.*, 2014; KUIKEN *et al.*, 2006; OLIVAL *et al.*, 2017; PLOWRIGHT *et al.*, 2017).

Destarte, o entendimento acerca deste processo não somente fornece uma visão de como a diversidade microbiana interage com o ambiente, mas também permite traçar estratégias para evitar que isso aconteça. Diante disso, é importante evidenciar as ferramentas e abordagens dentro do universo científico que podem facilitar a compreensão dessa problemática. Dentre as técnicas que se destacam estão a metagenômica e imunoinformática que podem assumir grande importância, por exemplo, em sistemas de vigilância de patógenos com risco de transbordamento e no desenvolvimento rápido e eficiente de vacinas contra doenças infecciosas virais emergentes. Estas abordagens atuam refletindo um importante eixo da biotecnologia moderna que está conectada à necessidade iminente de buscar alternativas inovadoras e eficazes tanto no combate quanto no monitoramento de possíveis novas pandemias. Além disso, a união dessas metodologias está ligada ao princípio da precaução já que visam mitigar a possível propagação viral nas etapas iniciais de transbordamento. Desta forma, este trabalho faz a condução de uma narrativa através de fatores antropogênicos e naturais que podem influenciar o surgimento de pandemias virais e exemplifica o uso de projetos e estratégias que podem ser usadas para atenuar esse processo.



## **2. Objetivos**

### **2.1 Objetivo geral**

O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão de literatura sobre o monitoramento de viroses emergentes decorrentes do transbordamento zoonótico e a elucidação do uso de algumas ferramentas biotecnológicas para mitigar esse problema.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Destacar a relação dos fatores naturais e antropogênicos com o surgimento de viroses emergentes a fim de refletir sobre o comportamento de nossa sociedade frente ao iminente avanço de novos patógenos virais;
- Mostrar a importância da metagenômica viral, imunoinformática e vacinologia reversa como ferramentas para prevenir o transbordamento zoonótico e pandemias virais tendo como propósito evidenciar o papel imprescindível dos profissionais biotecnologistas no contexto da Saúde Única.

### 3. Metodologia

As publicações para a construção deste trabalho foram consultadas em bancos de dados do PubMed e Google Acadêmico. Além disso, para cada tópico deste trabalho foi estabelecida a seleção e leitura de no mínimo cinco publicações dentre as mais citadas nos bancos de dados. A partir destas foram buscadas outras fontes adicionais levando em conta publicações mais recentes e aquelas primordiais usadas como base entre os autores mais citados com a finalidade de construir uma revisão que unisse as publicações basilares juntamente com artigos contemporâneos sobre o tópico em questão. Para cada tópico foram empregadas diferentes palavras-chave sendo algumas específicas e outras com termos relacionados conforme mostra a Figura 1. Além disso, foram consideradas publicações de 1900 até 2021. Cabe ressaltar que para as buscas foram usadas palavras em inglês e por volta de 220 fontes foram consultadas chegando a ser utilizadas 140 publicações para elaboração desta revisão.

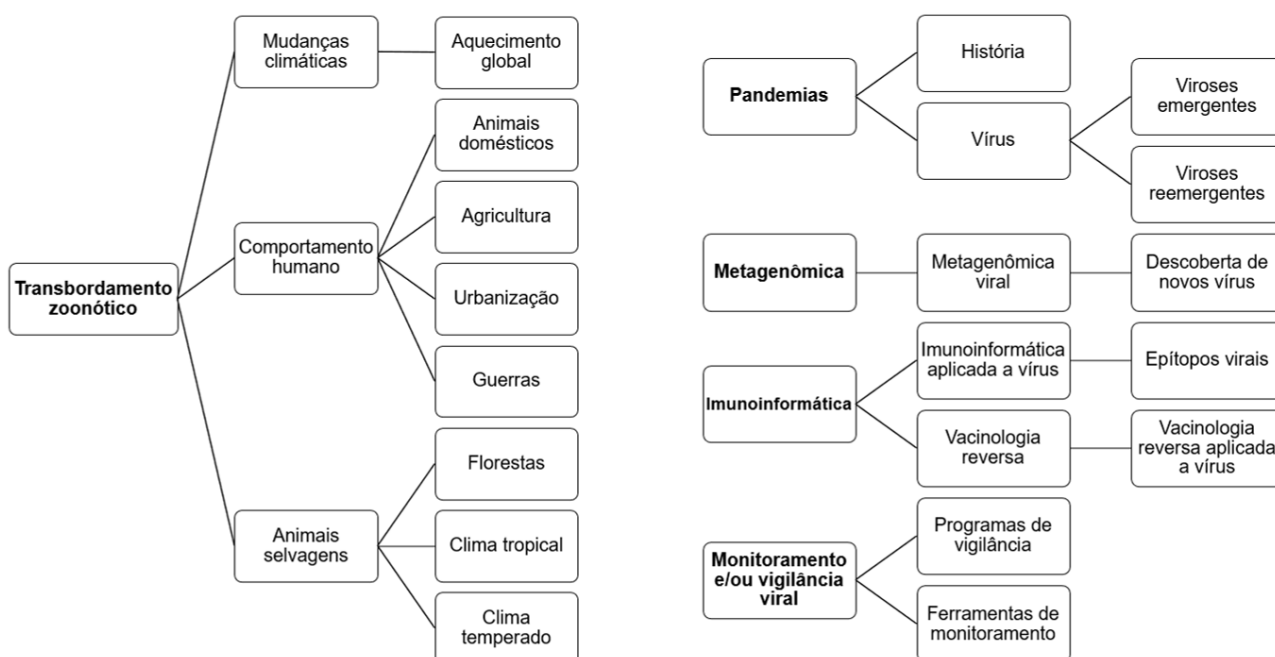


Figura 1 - Esquematização das palavras-chave usadas na busca de publicações. Para cada tópico e subtópico foram empregadas diferentes palavras-chave sendo algumas específicas e outras com termos relacionados à temática na qual desejava-se revisar.

## **4. Revisão da Literatura**

### **4.1 Definição de doença infecciosa emergente**

Uma doença infecciosa emergente conforme definido pelo Centro de Controle de Doenças dos Estados Unidos (CDC) e por Oaks Jr, Shope e Lederber (1992) é esclarecida como uma infecção que tem sido relatada recentemente em uma população ou que já existia, mas que se percebe seu aumento rapidamente em termos de incidência e alcance geográfico. Além disso pode ter definições mais amplas como um conjunto abrangente de doenças infecciosas que, nos últimos vinte a trinta anos, apresentaram pelo menos um dos comportamentos descritos por Silva e Angerami, (2008) dos quais são elencados como infecções que não existiam na espécie humana, mas que passaram a ocorrer; doenças muitas vezes em declínio, controladas ou aparentemente erradicadas que retornam com novos padrões de características biológicas e epidemiológicas; infecções anteriormente não reconhecidas, mas que provavelmente já existiam e, finalmente, doenças que ressurgem após um efetivo controle. Todavia, é preciso ressaltar que estes comportamentos podem aparecer de forma sobreposta e, muitas vezes, são difíceis de serem definidos com exatidão (SILVA; ANGERAMI, 2008). Neste trabalho, as doenças infecciosas emergentes vão ser referidas simplesmente como patógenos que, mesmo descobertos há décadas, são motivos de preocupação quanto sua periculosidade (reemergentes) ou novas doenças que surgiram ao longo do percurso da história humana há pelo menos 30 anos (ou mais em casos excepcionais), não se delimitando a um período específico, mas seguindo o contexto da época em que as fontes consultadas foram publicadas.

### **4.2 Epidemias, pandemias e suas relações com a história humana**

A palavra epidemia deriva do grego significando algo “que está no povo”, sendo a união dos elementos “*epi*” (sobre, acima) e “*demos*” (povo). Pode ser explicada como “uma ocorrência em uma comunidade ou região de casos de uma doença (...) claramente acima da expectativa normal”. A elucidação deste termo ainda é esclarecida “através do número de casos que indicam a presença ou não de uma epidemia varia de acordo com o agente, porte e tipo de população exposta; experiência anterior ou falta de exposição à doença” (LAST, 2008). Já pandemia,

derivada do mesmo idioma significando “todo o povo”. É representada pela junção dos elementos: “*pan*” (todo, tudo) e “*demos*” (povo). De acordo com o livro “*A Dictionary of Epidemiology*” pode ser definida simplesmente como “uma epidemia que ocorre em todo o mundo ou em uma área muito ampla, cruzando fronteiras internacionais e geralmente afetando um grande número de pessoas” (revisado por LAST, 2008).

Conforme afirma Marcoveccio em seu dicionário *Dizionario etimologico storico dei termini medici* (1993) o termo pandemia tem sua primeira aparição histórica no livro “Das Leis” de Platão onde é referida como “qualquer acontecimento capaz de atingir toda a população”. Além disso, no livro “*A Greek-English lexicon*” é descrito que o médico e filósofo romano Galeno foi quem introduziu esta expressão no vocabulário científico durante o século II para caracterizar epidemias “de grande difusão e alcance”. A incorporação definitiva da palavra ao contexto médico se deu no século XVIII, no *Dictionnaire universel Français et Latin*, de Trévoux (1771) (DAUZAT; DUBOIS; MITTERRAND, 1964; MARCOVECCIO, 1993; LIDDEL; SCOTT, 1983 *apud* REZENDE, 1998).

O primeiro uso conhecido da palavra pandemia na língua inglesa foi no ano de 1666 e referia-se a “*Pandemick*” ou “*Endemick*” como “uma doença vernácula”, ou seja, “uma doença sempre reinando em um país”. Quase dois séculos mais tarde, em 1828, a primeira edição do Dicionário Americano Webster (*An American Dictionary of the English Language*) listou epidemia e pandemia como termos sinônimos. (HARVEY, 1666; WEBSTER, 1828 *apud* MORENS; FOLKERS; FAUCI, 2009). Em adição a isso, ainda conforme a revisão de Morens, Folkers e Fauci (2009) é mencionado que no início do século XIX, o termo epidemia tornou-se um termo recorrente e sinônimo de pandemia, com este último vocábulo caindo em crescente desuso. No entanto, a partir do grande surto global de influenza do ano de 1889, a palavra pandemia foi resgatada e em 1918 passou a ser de uso geral persistindo no vocabulário científico e popular até os dias de hoje. Na língua portuguesa, pandemia foi dicionarizada como termo médico por Domingos Vieira, em 1873 (REZENDE, 1998).

As pandemias são causadoras de assombro e perplexidade, tanto nos dias de hoje quanto em tempos passados, surtos de doenças infecciosas, sejam eles epidêmicos ou pandêmicos estão presentes em nossa história muito antes do que se imaginava e ajudaram a moldar a humanidade. Elas foram responsáveis por promover o colapso de sociedades, determinaram desfechos de guerras, exterminaram

populações inteiras, mas também, foram responsáveis por suscitar inovações e avanços nas ciências (HAYS, 2005; HUREMOVIĆ, 2019; MCNEILL, 1976; SCHEIDEL, 2017). A seguir, a Tabela 1 elucida resumidamente uma lista de notáveis pandemias e epidemias que tiveram importante relevância ao longo da história humana. Muitas dessas doenças surgiram e reapareceram em várias ocasiões. Para a maioria das pandemias, os números estimados de mortes variam amplamente e não são considerados precisos (HUREMOVIĆ, 2019; MORENS *et al.*, 2020).

Tabela 1 - Notáveis pandemias e grandes epidemias que marcaram a história humana.

Ano	Enfermidade	Agente etiológico	Mortos
430 a.C	Praga de Atenas	Desconhecido	~100,000
165	Peste de Antonino	Desconhecido	Não estimado
541	Praga de Justiniano	<i>Yersinia pestis</i>	30-50 milhões
1347	Peste Negra	<i>Yersinia pestis</i>	~75-200 milhões
ca. 1500	Tuberculose	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Não estimado
1520	<i>Hueyzaquilt</i>	<i>Variola major</i>	3,5 milhões
Séc XIX	Cólera	<i>Vibrio cholerae</i>	Não estimado
1918	Gripe Espanhola	<i>Influenzavirus A (H1N1)</i>	~20-50 milhões
1981	AIDS	HIV	~32 milhões
2009	Gripe A	<i>Influenzavirus A (H1N1)</i>	284.000
2020	COVID-19	SARS-CoV-2	>3,4 milhões*

Fonte: Adaptado de Barua (1992), DeLeo e Hinnebusch (2005), Huremovic (2019), Johnson e Mueller (2002), Morens (2020). \*Estimativa do Painel do Centro de Ciência e Engenharia de Sistemas (CSSE) da Universidade Johns Hopkins (JHU). Disponível em: <<https://github.com/CSSEGISandData/COVID-19>>. Acesso em 20 de maio de 2021.

Não é novidade que os microrganismos causadores de patologias acompanham os humanos desde os mais remotos tempos. Já é sabido, por exemplo, que bactérias como *Yersinia pestis*, agente causador da peste negra, esteve acompanhando agrupamentos humanos de forma endêmica pela Eurásia por volta de 3000 a.C, na Idade do Bronze. O material genético de cepas menos patogênicas desta bactéria foi identificado em dentes de indivíduos da Ásia e Europa que datam de 2800 a 5000 anos atrás, ou seja, três milênios antes de qualquer registro histórico de pandemias. A cepa mais antiga conhecida desse patógeno até o momento data de aproximadamente 4.900 anos atrás sendo que algumas das várias linhagens foram estabelecidas durante a Idade do Bronze, persistem até os dias atuais. Os resultados destes estudos geraram maior clareza ao avaliar a evolução e disseminação de cepas de pragas pré-históricas e traçam a possibilidade de uma pandemia ter ocorrido muito antes do que se imaginava. (ANDRADES VALTUEÑA *et al.*, 2017; RASCOVAN *et al.*, 2019; RASMUSSEN *et al.*, 2015; SPYROU *et al.*, 2019).

De forma mais recente, já dentro do século XXI a humanidade viu a consolidação de viroses emergentes como a síndrome respiratória aguda grave (SARS) em 2003 que quase se transformou em pandemia. Além de epidemias dos vírus chikungunya (2014), Zika (2015) e uma preocupante epidemia generalizada de Ebola em cinco países africanos, com casos exportados globalmente (2014 a 2015). Já em relação às pandemias declaradas pela OMS estão a de COVID-19 causada pelo SARS-CoV-2 iniciada no ano de 2020 e a de gripe A causada pelo vírus da influenza H1N1 em 2009 (HUREMOVIĆ, 2019; MORENS *et al.*, 2020).

### 4.3 Panorama e impacto das doenças infecciosas virais

O número de diferentes patógenos virais capazes de infectar humanos está aumentando de forma constante demonstrando que as doenças infecciosas emergentes são uma imponente ameaça para a saúde mundial (JONES *et al.*, 2008; KING *et al.*, 2006; MORENS; FOLKERS; FAUCI, 2010; PIKE *et al.*, 2014; SMOLINSKI; HAMBURG; LEDERBERG, 2003). Todavia, cabe salientar que ainda não está totalmente compreendido se esse aumento é devido ao aprimoramento dos mecanismos de vigilância e detecção por meio de métodos de diagnóstico mais eficientes ou surgimento real de novos patógenos (BINDER *et al.*, 1999; JONES *et al.*, 2008; SMOLINSKI; HAMBURG; LEDERBERG, 2003).

De acordo com Jones *et al.* (2008), cerca de 60,3% de todas as doenças infecciosas emergentes são causadas por patógenos de origem zoonótica. Esta porcentagem mostrou-se concordante com análises anteriores feitas por Taylor, Latham e Woolhouse (2001) e também Woolhouse e Gowtage-Sequeria (2005). Além disso, o mesmo estudo aponta que 71,8% dessas zoonoses emergentes são originadas especificamente de animais selvagens.

Apesar dos avanços na área das ciências nos últimos anos ainda não se sabe quantas espécies potenciais de patógenos existem aos quais o ser humano ainda não foi exposto (WOOLHOUSE; GAUNT, 2007). No entanto, já é descrito na literatura que os patógenos humanos conhecidos constituem apenas uma fração da biodiversidade existente, como no caso de bactérias (DYKHUIZEN, 1998). Isso também deve valer para as espécies virais já descobertas (WOOLHOUSE; GAUNT, 2007)

Entre os anos de 1940 e 2004, foi relatado o aparecimento de 335 novas doenças infecciosas em geral (JONES *et al.*, 2008). Em relação a vírus, três a quatro

novas espécies são detectadas na população humana a cada ano o que constitui aproximadamente mais de dois terços de todos os novos patógenos humanos identificados entre 1980 e 2009, sendo em sua maioria de distribuição global e associados a espécies de animais reservatórios (WOOLHOUSE *et al.*, 2012; WOOLHOUSE; GAUNT, 2007). Quanto ao material genético desses organismos, a proporção de vírus zoonóticos é maior para vírus de RNA (159 de 382, 41,6%) do que para vírus de DNA (29 de 205, 14,1%) (OLIVAL *et al.*, 2017). Além disso, está consagrado na literatura pelo menos 25 famílias virais que abrigam aproximadamente 263 vírus capazes de infectar humanos (KING *et al.* 2012 *apud* CARROLL *et al.*, 2018). No entanto, devido à consolidação de programas de vigilância internacional focados no monitoramento de vírus, como o *Emerging Pandemic Threats* (EPT) PREDICT, foram identificados 958 vírus desconhecidos pela comunidade científica desde o ano de 2009 até o momento (USAID, 2020).

Ademais, são estimados aproximadamente 1,67 milhões de espécies virais ainda a serem descobertas em mamíferos e aves. Destes vírus desconhecidos, calcula-se entre 631.000 e 827.000 tenham potencial zoonótico (CARROLL *et al.*, 2018). Morcegos, primatas e roedores têm uma proporção maior de vírus zoonóticos em comparação com outros grupos de mamíferos e por isso são o foco de estudo em programas de vigilância (OLIVAL *et al.*, 2017).

No ano 2000, todas as doenças infecciosas em geral eram, isoladamente, a segunda maior causa de mortes no mundo inteiro e a principal causa de esperança de vida corrigida pela incapacidade (OMS, 2020; FAUCI, 2001) — também conhecidos como anos de vida ajustados por incapacidade, do inglês *Disability Adjusted Life Years* (DALYs) — indicador que quantifica a perda de saúde do indivíduo devido a doenças e lesões específicas (MURRAY, 1994). Esta expressiva magnitude das doenças ocasionadas por patógenos já vinha sendo registrada desde o início da década de 90 e perdurou ao longo dos anos até 2010, conforme descrito por Murray *et al.* (2012). Desde 1990, o primeiro lugar é ocupado pelas mortes decorrentes de doenças cardiovasculares (MURRAY; LOPEZ, 1994).

Dentro das subdivisões das doenças infecciosas, as infecções respiratórias agudas do trato inferior e doenças diarreicas ocuparam, respectivamente, a quarta e a oitava colocações no *ranking* das 10 maiores causas de mortes globais no ano de 2019 conforme mostra a Tabela 2. É válido ressaltar que houve queda de quase meio milhão de mortes por infecções respiratórias inferiores comparando o ano 2000 e 2019

(OMS, 2020). Em adição a isso, deve ser salientado que é difícil estimar as taxas de mortalidade e morbidade causadas especificamente por doenças virais tendo em vista que grande parte delas ocorrem em países subdesenvolvidos com alto grau de subestimação devido à ausência de diagnóstico e sistema de vigilância eficiente (GIBBONS *et al.*, 2014). Nestes casos não é possível discernir se a causa da patologia foi de origem bacteriana, parasitária ou viral o que impacta diretamente nos números reais relatados.

Tabela 2 - As dez maiores causas de morte no mundo em 2019

Posição	Causa	Mortes (em milhões)	% do total de mortos
1	Doença isquêmica do coração	8.885	16,0
2	Doença cerebrovascular	6.194	11,2
3	Doença pulmonar obstrutiva crônica	3.228	5,8
4	Infecção do trato respiratório inferior	2.593	4,7
5	Condições neonatais	2.038	3,7
6	Cânceres de traqueia, brônquio e pulmão	1.784	3,2
7	Doença de Alzheimer e outras demências	1.639	3,0
8	Doenças diarreicas	1.519	2,7
9	Diabetes <i>mellitus</i>	1.496	2,7
10	Doenças renais	1.334	2,4

Fonte: Adaptado de OMS (2020)

Ainda assim, as enfermidades causadas por vírus vêm ganhando atenção nos últimos anos, principalmente em virtude da atual pandemia. Dessa forma, é interessante traçar uma comparação com o número de mortos por COVID-19 no ano de 2020 com o número de causas de mortes em 2019 onde é possível inferir que a doença por si só poderia ser classificada como a sexta mais letal do mundo já que mais 1,8 milhões de pessoas morreram em 2020 (DONG; DU; GARDNER, 2020).

As doenças infecciosas emergentes causadas por vírus podem ter um significativo impacto na economia e representam uma ameaça para a manutenção da segurança e da saúde humana e animal (BINDER *et al.*, 1999; FONKWO, 2008; HAUCK, 2018; JONES *et al.*, 2008; KING *et al.*, 2006; PIKE *et al.*, 2014; WEISS; MCMICHAEL, 2004) e causaram a maioria das pandemias recentes na história da humanidade (MORSE *et al.*, 2012) sendo um problema ainda mais alarmante para maioria dos países tropicais subdesenvolvidos onde outras doenças infecciosas já estão disseminadas em maior grau (KYU *et al.*, 2018). As precárias condições sanitárias são decorrentes da condição econômica destas nações que consequentemente resulta em sistemas de saúde ineficientes agravados pela falta de



incentivo a medidas profiláticas. Estas atribuições são ainda mais agravadas por fatores climáticos, alta presença de reservatórios animais ou elevada densidade demográfica em localidades próximas a ecossistemas com alta biodiversidade de mamíferos selvagens, bem como a consequente interferência humana desses ambientes naturais que, em conjunto, são fatores ideais para propulsão seja de novas ou já existentes infecções virais nestas regiões (ALLEN *et al.*, 2017; MORENS; FOLKERS; FAUCI, 2010; OLIVAL *et al.*, 2017).

No âmbito da economia mundial, as estimativas de perdas econômicas de uma pandemia de influenza variam de US\$ 374 bilhões (em cotação de US\$ 2014) para uma pandemia leve e US\$ 7,3 trilhões para uma pandemia grave com perda de 12,6% do produto interno bruto (PIB) (MCKIBBIN, 2006; BRAHMBHATT, 2005 *apud* PIKE *et al.*, 2014). Dentre outros custos estimados estão uma perda de mais de US\$ 40 bilhões com a epidemia de SARS de 2003, impacto de US\$ 53 bilhões devido ao surto de Ebola na África Ocidental entre 2014 e 2016; e o custo US\$ 45 a 55 bilhões da pandemia de influenza H1N1 de 2009 conforme dados revisados pela Global Preparedness Monitoring Board (2019). Além do mais, a presente pandemia de COVID-19 está causando danos econômicos exorbitantes estimados em trilhões de dólares (ONU NEWS, 2020) e economistas apontaram um recuo de 4,3% no PIB mundial em 2020 (BANCO MUNDIAL, 2021). Isso demonstra que, além dos elevados índices de mortalidade, as doenças infecciosas virais, bem como seus eventos epidêmicos e pandemias possuem um enorme impacto para a vida humana.

#### **4.4 Comportamento humano e o surgimento de zoonoses com potencial pandêmico**

Desde a pré-história, a interação entre animais e humanos foi evoluindo e se expandindo o que consequentemente permitiu que novos patógenos alcançassem o hospedeiro humano atravessando as barreiras entre as espécies (REPERANT; CORNAGLIA; OSTERHAUS, 2012). Deste modo, a ascensão e consolidação de um modo de vida ligado à agricultura foi primordial ao desempenhar papéis que delinearam a evolução de patógenos animais para que pudessem infectar humanos (DIAMOND, 2002; LARSEN, 1995; MCNEILL, 1976). Seguindo o percurso da história humana, a exploração massiva dos recursos minerais e biológicos impulsionados pela Revolução Industrial levou a um aumento da população humana, animais domésticos

e de produção de alimentos que, juntamente com a consolidação da globalização a partir de meados no século XX, aumentou os processos de extrativismo para a produção de bens de consumo o que efervesceu ainda mais o surgimento de zoonoses (REPERANT; CORNAGLIA; OSTERHAUS, 2012).

Sendo assim, o comportamento humano caracterizado por um modo de vida globalizado no qual a densidade populacional humana, domesticação de animais, expansão da agricultura, alta demanda de proteína animal, urbanização, industrialização, desequilíbrio do meio ambiente, movimentos em massa de pessoas, animais e mercadorias, desde o deslocamento regional até escalas intercontinentais juntamente com a interação das pessoas com a vida selvagem e o manejo de animais para consumo humano foram elencados em diversas publicações como sendo os principais motivos responsáveis pelo aumento do número de doenças infecciosas virais emergentes (CASCIO *et al.*, 2011; JOHNSON *et al.*, 2020; JONES *et al.*, 2013, 2008; MORENS; FOLKERS; FAUCI, 2010; MORSE *et al.*, 2012; MYERS *et al.*, 2013; PATZ *et al.*, 2004; REPERANT; CORNAGLIA; OSTERHAUS, 2012; SMOLINSKI; HAMBURG; LEDERBERG, 2003; TATEM; ROGERS; HAY, 2006; TAYLOR; LATHAM; WOOLHOUSE, 2001; WEISS; MCMICHAEL, 2004; WOOLHOUSE; GOWTAGE-SEQUERIA, 2005).

Tendo em vista as impactantes consequências que as ações supracitadas podem exercer no contexto do surgimento de novas epidemias ou pandemias, o modo de vida e a forma como o humano interage com a natureza tem sido alvo de vigilância intensa (DASZAK; CUNNINGHAM; HYATT, 2000; JONES *et al.*, 2008; MORSE, 1995, 2014; MORSE *et al.*, 2012). Dessa maneira, é evidente que o risco de transbordamento está diretamente relacionado aos comportamentos humanos pelo qual podem se estabelecer diferentes vias de transmissão (CASCIO *et al.*, 2011). Dentre alguns comportamentos de alto risco estão o consumo inadequado de determinados produtos de origem animal, utilização de água contaminada e ocupação de ambientes selvagens (MACPHERSON, 2005). Outra problemática é a abundância do hospedeiro em determinado local que, esbarrando com o avanço da urbanização, aumenta o risco de transbordamento zoonótico (OLIVAL *et al.*, 2017). Isso é bem relatado conforme revisão de Johnson (2020) que explica a existência de uma relação entre o número de eventos de transbordamento e propagação viral com a alta presença de mamíferos reservatórios em certas regiões. O trabalho ainda explica que o risco de disseminação de vírus em grande escala é devido a probabilidade de

contato entre humanos e animais, razão pelo qual ciclos de infecção podem ser levados adiante (CASCIO *et al.*, 2011; JOHNSON *et al.*, 2020).

Até mesmo tensões políticas regionais ou globais podem suscitar o surgimento de novas zoonoses ou desencadear epidemias de doenças que já existem em virtude de guerras, imigrações humanas e a forma que alguns governos lidam com investimentos na infraestrutura de vigilância sanitária e demais órgãos de saúde pública de seus países (CASCIO *et al.*, 2011; SMOLINSKI; HAMBURG; LEDERBERG, 2003). O deslocamento de grandes grupos humanos devido a conflitos juntamente com a desnutrição pode contribuir significativamente para o surgimento e disseminação de doenças infecciosas como malária, cólera e tuberculose. (SMOLINSKI; HAMBURG; LEDERBERG, 2003). Um exemplo relevante de como conflitos podem suscitar esses problemas é o caso do HIV-2 subtipo A no qual estudos fornecem evidências de uma transferência zoonótica do patógeno durante a primeira metade do século XX seguido da eclosão de epidemia na Guiné-Bissau que coincide com a guerra de independência deste país entre os anos de 1963 e 1974. Isso sugere que as mudanças relacionadas com a guerra nos padrões socioculturais tiveram um grande impacto neste contexto (LEMEY *et al.*, 2003).

Como forma de concluir o debate dos parágrafos anteriores, os resultados apresentados por Jones *et al.* (2008) corroboram que as origens de doenças infecciosas emergentes estão intimamente ligadas a fatores socioeconômicos, ambientais e ecológicos o que serve como um pilar para a identificação de regiões ou pontos críticos onde novas zoonoses emergentes são mais prováveis de se originar. Eles também revelaram um risco substancial de doenças infecciosas emergentes zoonóticas da vida selvagem e transmitidos por vetores originados em regiões próximas ou entre os trópicos, onde há maior relato de subnotificação (JONES *et al.*, 2008). Além disso, uma das hipóteses apresentadas por Olival *et al.* (2017) é que o número de vírus que uma espécie de mamífero compartilha com os humanos aumenta conforme oportunidade de contato e a proximidade filogenética em relação aos humanos.

Tendo em vista a forma como o ser humano interage com a vida animal e demais recursos bióticos da natureza, é importante o entendimento acerca do processo que leva um patógeno se tornar suscetível a infectar o homem que será discutido a seguir.

#### 4.5 Barreiras que afetam o transbordamento zoonótico

As barreiras que separam as espécies animais não humanas dos humanos representam um grande obstáculo para a exposição, infecção e posterior disseminação de patógenos zoonóticos entre humanos (KUIKEN *et al.*, 2006). Desta forma, a estrutura conceitual proposta por Plowright *et al.* (2017) acerca do processo de transbordamento vai de encontro com Gortazar *et al.* (2014). Ambos revelam três conjuntos de barreiras aplicáveis em qualquer sistema onde exista interação patógeno-hospedeiro. A evolução do transbordamento é promovida por diferentes processos que possibilitam um patógeno animal estabelecer a infecção em um ser humano. A probabilidade que isso venha a ocorrer é definida por interações entre diversos fatores que incluem o comportamento do patógeno no hospedeiro reservatório, a exposição à infecção e as barreiras dentro do organismo humano. Sendo assim, todos os patógenos zoonóticos precisam superar uma série hierárquica de barreiras para que finalmente possam causar infecções na espécie humana (PLOWRIGHT *et al.*, 2017).

Na primeira fase, existe a chamada “pressão do patógeno” a qual é descrita como “a quantidade de patógeno disponível para o hospedeiro humano em um determinado ponto no espaço e tempo” que é definida pela distribuição dos animais reservatórios, a prevalência do agente etiológico e liberação do patógeno no ambiente (PLOWRIGHT *et al.*, 2017). Sucede-se a esse processo: a sobrevivência, desenvolvimento e disseminação do patógeno fora dos hospedeiros reservatórios (PLOWRIGHT *et al.*, 2017).

Na segunda fase, há as barreiras do organismo humano que determinam a capacidade destes organismos em infectar eficientemente o corpo humano e como enfrentam a resposta imune (GORTAZAR *et al.*, 2014). Sendo assim, deve-se observar que, no geral, o comportamento humano e do vetor determinam a exposição ao patógeno (PLOWRIGHT *et al.*, 2017).

Finalmente, a terceira e última barreira que os microrganismos precisam superar é a capacidade de conseguir se disseminar com sucesso entre a população humana. Somente os patógenos que cruzam todas essas barreiras têm o potencial de causar surtos, epidemias e em casos mais raros, pandemias (GORTAZAR *et al.*, 2014). Nesta etapa, deve-se levar em consideração os atributos genéticos, fisiológicos e imunológicos do receptor humano hospedeiro, juntamente com a dose e a via de

exposição. Esses últimos fatores afetam a probabilidade e a gravidade da infecção (PLOWRIGHT *et al.*, 2017).

Além disso, a forma como o agente etiológico é liberado na natureza juntamente com a duração da sobrevivência, bem como tecido biológico e o local onde são dispersos são fundamentais e definem a rota de transmissão pelo qual podem ser disseminados, seja por um vetor artrópode, por abate ou excreções do hospedeiro reservatório. Outro fator relevante é a possível reprodução dos agentes causadores da doença fora de um hospedeiro (PLOWRIGHT *et al.*, 2017). A Figura 2 ajuda a esquematizar o processo de transbordamento e suas possíveis barreiras.

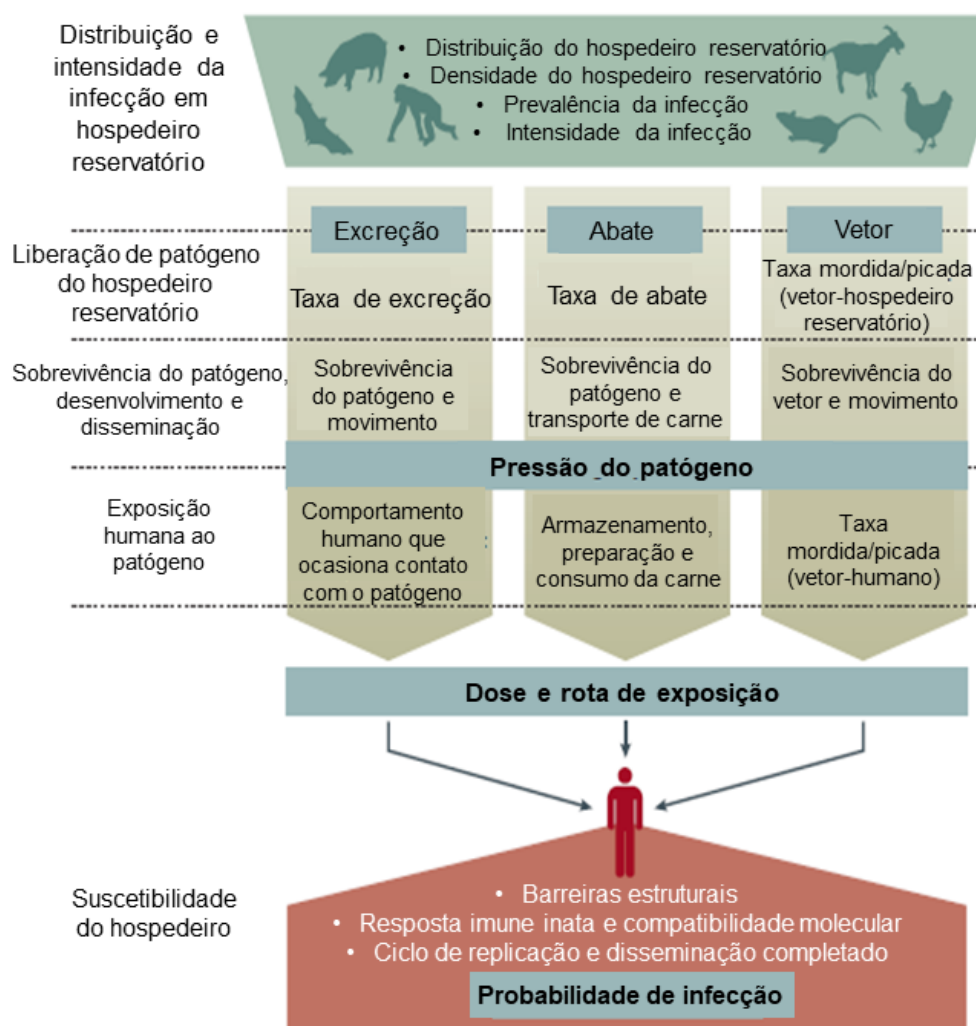


Figura 2 - Esquematização do processo de transbordamento zoonótico e suas barreiras. O risco de transbordamento é determinado pela distribuição e intensidade da infecção em hospedeiros reservatórios, seguida pela liberação do patógeno, movimento, sobrevivência e possível desenvolvimento até o estágio infeccioso. Isso tudo determina a pressão do patógeno, que é definida como a quantidade de patógeno disponível para o hospedeiro receptor em um determinado ponto no espaço e tempo. Fonte: Adaptado e traduzido de Plowright *et al.* (2017)

Quanto às características de vírus em si, a forma como estes organismos evoluem para se adaptarem a novos hospedeiros ainda não está bem compreendida sendo o nível de variação genética um fator bem importante (PARRISH *et al.*, 2008). A maioria dos vírus acabam se adaptando mal a novas espécies e, conseqüentemente, tem déficit de replicação e transmissão ineficiente. Isso define que “quanto maior a taxa de variação, maior a probabilidade de um vírus se adaptar a um novo hospedeiro” (PARRISH *et al.*, 2008). Sendo assim, neste contexto os vírus de RNA têm uma replicação rápida e propensa a erros (DRAKE; HOLLAND, 1999) e por não possuírem um sistema de correção, as polimerases de RNA apresentam uma taxa de um erro a cada  $10^3$  a  $10^4$  nucleotídeos incorporados contra uma taxa de erro de  $10^{10}$  a  $10^{11}$  nucleotídeos no caso da DNA polimerase. Isso mostra que a taxa de erros cometida durante a replicação dos vírus RNA pode ser até um milhão de vezes maior do que aquela resultante da replicação dos vírus DNA (MORAES; JARAMILLO, 2007). Essa dinâmica pode ajudar os vírus de RNA a terem maior taxa de mutações que os permitam a adaptar a novos hospedeiros (BURKE, 1998; HOLMES, 2006; LONGDON *et al.*, 2014; WOOLHOUSE; GOWTAGE-SEQUERIA, 2005; WOOLHOUSE; HAYDON; ANTIA, 2005). Todavia, essa premissa não é uma regra, pois os vírus de RNA não conseguem direcionar mutações para regiões específicas do genoma para melhorar sua adaptabilidade (SANJUÁN; DOMINGO-CALAP, 2016) Além disso, alguns retrovírus mostram taxas de substituição de nucleotídeos muito mais baixas do que aquelas observadas para outros vírus de RNA, bem como alguns vírus de DNA fita simples podem evoluir a taxas semelhantes a muitos vírus de RNA conforme foi revisado por Parrish *et al.* (2008) .

Outro desafio relevante para predição de novas pandemias é estimar o potencial zoonótico de uma espécie ou cepa viral recém-descoberta com base em características virais (GEOGHEGAN *et al.*, 2016; LIPSITCH *et al.*, 2016; MORSE *et al.*, 2012; PARRISH *et al.*, 2008). Uma abordagem interessante pode ser uma caracterização detalhada, por exemplo, sequenciando domínios de ligação a receptores celulares para posteriormente utilizá-los em experimentos de infecção *in vitro* e *in vivo* (GE *et al.*, 2013). Em adição a isso, conforme é relatado por Johnson *et al.* (2015) os vírus com alta plasticidade hospedeira — aqueles cuja gama de hospedeiros é diversa — aumentam o processo de transmissão entre humanos e têm uma distribuição geográfica mais ampla indicando que possuem grande potencial em se propagarem em escala global. Foi estimado que vírus encontrados em 10 ordens

de hospedeiros são 12 vezes mais prováveis de serem transmissíveis em humanos do que vírus encontrados em um único hospedeiro.

Já em relação às características do hospedeiro, deve se levar em conta as barreiras iniciais relacionadas à imunidade inata e outras características como particularidades genéticas, imunológicas e fisiológicas que afetam a suscetibilidade a infecções (PARRISH *et al.*, 2008; PLOWRIGHT *et al.*, 2017). No ser humano, a infecção pode ter sucesso quando os mecanismos de defesa normais são alterados ou quando a imunidade do hospedeiro é prejudicada por fatores genéticos ou, ainda, relacionados à desnutrição (SMOLINSKI; HAMBURG; LEDERBERG, 2003). Em geral, também é preciso se atentar acerca da filogenia dos hospedeiros e como ela afeta o risco de transbordamento já que espécies evolutivamente relacionadas compartilham receptores de células hospedeiras e afinidades de ligação viral (OLIVAL *et al.*, 2017)

Como forma de concluir a discussão dos parágrafos anteriores, cabe salientar que devido à magnitude e complexidade de como o transbordamento zoonótico ocorre, a literatura considera como um evento raro (PARRISH *et al.*, 2008). Além disso, apesar dos humanos estarem expostos a muitos vírus, a maioria deles não tem sucesso em causar doenças e em muitos casos podem ser benéficos para saúde humana (ROOSSINCK, 2011).

#### **4.5.1 A relação do clima e das mudanças climáticas com o transbordamento zoonótico**

A forma como o clima estimula o surgimento de zoonoses é explicado, por exemplo, pela análise de Guernier, Hochberg e Guécán (2004) que evidencia um padrão de riqueza em relação a espécies de patógenos humanos onde é visto um aumento deste padrão em direção à Linha do Equador. Isso seria devido aos parâmetros climáticos e ambientais que ajudam a promover a transmissão de patógenos nessas regiões como temperaturas e índices pluviométricos mais elevados. Isso vai de encontro com Allen *et al.* (2017) e Olival *et al.* (2017) no qual afirmam que o risco de surgimento de novas doenças zoonóticas é mais elevado em regiões de floresta tropical onde a biodiversidade de mamíferos selvagens é alta. Esses trabalhos têm servido de base para projetos de vigilância como o EPT PREDICT.

Em contraposição a essa linha de pensamento, Han, Kramer e Drake (2016) publicaram um estudo descrevendo que mais zoonoses estão concentradas nas latitudes norte, África Oriental e Sudeste Asiático e apesar das regiões temperadas terem menor diversidade de espécies hospedeiros zoonóticos em comparação com as zonas tropicais, os mamíferos encontrados nela abrigam mais zoonoses do que os hospedeiros de outras regiões

Outra discordância é que em um primeiro plano, o clima pode facilitar a sobrevivência, o desenvolvimento e a disseminação de um patógeno e, assim, facilitar o seu transbordamento (RODÓ *et al.*, 2021). Por outro lado, Nunez *et al.* (2019) considera que a intervenção do homem na natureza juntamente com as mudanças climáticas está ocasionando encolhimento dos ecossistemas e diminuição da diversidade de espécies. Essa última suposição faz sugerir um efeito contrário do que se espera, ou seja, as mudanças climáticas poderiam até diminuir o risco de transbordamento.

Diante destes debates, é perceptível que os efeitos do clima nesses eventos de transbordamento entre espécies é algo muito mais amplo e complexo sendo necessário enxergá-los como um fator necessário, mas não o único suficiente que contribui para o surgimento de doenças. Portanto, são exigidas prudência e mais estudos para afirmar com mais propriedade como que isso pode interferir nos mecanismos que fazem os patógenos cruzarem a barreira entre espécies diferentes (JONES *et al.*, 2008; RODÓ *et al.*, 2021; ROGERS; RANDOLPH, 2003)

Sendo assim, o conhecimento aprimorado da ação do clima sobre a dinâmica das zoonoses e suas barreiras será fundamental para entendermos, finalmente, as consequências das mudanças climáticas futuras na transmissão de patógenos entre as espécies. Além disso, é preciso compreender quais das barreiras — sejam elas diminuídas ou aumentadas — poderiam facilitar ou impedir o transbordamento zoonótico (RODÓ *et al.*, 2021). A mudança no clima pode afetar a frequência de zoonoses atuando por mecanismos que podem alterar a densidade populacional de hospedeiro, vetor e população humana em contato com estes através de anomalias nos índices pluviométricos, temperatura e outros eventos climáticos severos (MILLS; GAGE; KHAN, 2010; PATZ *et al.*, 2005). Os extremos climáticos podem afetar direta ou indiretamente a frequência e intensidade de incêndios florestais, secas, inundações, fomes e migrações. Isso os faria atuar como estressores pontuais exercendo intensa pressão zoonótica o que pode ocasionar encontros entre a vida



selvagem e o homem possibilitando diferentes rotas para o transbordamento (PLOWRIGHT *et al.*, 2017; RODÓ *et al.*, 2021). Isso pode ser evidenciado, por exemplo, no surgimento de superpopulação de vetores artrópodes. De acordo com Jones *et al.* (2008), as doenças transmitidas por vetores são responsáveis por 22,8% das doenças infecciosas emergentes sendo 28,8% na última década. Isso está intimamente ligado com as anomalias climáticas ocorridas durante a década de 1990 (revisado por Jones *et al.*, 2008)

Por fim, as mudanças climáticas podem ter efeitos cascata, pois se áreas temperadas forem se tornando mais tropicais, patógenos e seus vetores ou reservatórios provavelmente colonizarão essas regiões passando a se tornar globalmente distribuídos (GUERNIER; HOCHBERG; GUÉGAN, 2004). Outra ameaça decorrente das mudanças climáticas é a aceleração do degelo de regiões que pode abrigar espécies de patógenos muito antigos já erradicados ou que humanidade ainda não teve contato. Um exemplo de patógeno que poderia se dispersar a partir deste contexto é o *Bacillus anthracis* que causa o carbúnculo (também conhecido como antraz). Revich e Podolnaya (2011) revelaram em sua publicação a possibilidade de liberação deste patógeno para o ambiente animal e humano a partir do derretimento de *permafrosts* na Sibéria.

#### **4.6 Transbordamento zoonótico e a ameaça à diversidade animal**

É importante a compreensão da magnitude do processo de transbordamento não somente pelo cuidado quanto à saúde humana, mas também quando surtos de infecções virais ameaçam o bem-estar animal e preservação de espécies selvagens que podem ser levadas à extinção (DASZAK; CUNNINGHAM, 1999; DASZAK; CUNNINGHAM; HYATT, 2000; WOODROFFE, 1999). Em torno de 41% dos agentes que infectam mamíferos selvagens são vírus (PEDERSEN *et al.*, 2007). Assim como animais selvagens são potenciais transmissores de doenças, a transmissão de agentes infecciosos de animais reservatórios domésticos para vida selvagem também pode acontecer (LAFFERTY; GERBER, 2002). Isso ocorre, em suma, por consequência das alterações ecológicas fomentadas pelo homem, tais como o avanço das fronteiras agrícolas onde animais de produção, animais domésticos e espécies de interesse econômico são mantidas em alta densidade servindo de reservatório de doenças infecciosas para mamíferos selvagens (PEDERSEN *et al.*, 2007). Exemplos

de transmissão de vírus de animais domésticos para espécies selvagens incluem o transbordamento do vírus da peste dos pequenos ruminantes (PPR) de rebanhos de cabras e ovelhas para ruminantes selvagens como búfalos; gazelas-de-grants, impalas e gnus na Tanzânia (MAHAPATRA *et al.*, 2015) e transmissão de raiva e cinomose para cães selvagens africanos por cães domésticos (DASZAK; CUNNINGHAM; HYATT, 2000).

Em adição a isso, o próprio ser humano pode transmitir viroses a outras espécies de vertebrados como no caso das “zoonoses reversas” também conhecidas como “zooantroponoses” (HUBÁLEK, 2003). De acordo com revisão feita por Messenger, Bernes e Gray (2014), cerca de 29% dos patógenos possíveis de serem transmitidas pelos humanos aos animais eram vírus. Exemplo de como esse processo pode ocorrer é explicado por Reperant, Cornaglia e Osterhaus (2012) ao especularem que o vírus da hepatite C canina pode ter evoluído do vírus da hepatite C humana (HCV) numa transmissão entre espécies favorecida pela guerra, pobreza e más condições sanitárias da Idade Média. Isso pode ter induzido cães a se alimentarem de partes de cadáveres humanos como o fígado (REPERANT; CORNAGLIA; OSTERHAUS, 2012). No entanto, cabe salientar que mesmo pesquisas sugerindo que o vírus da hepatite C canina teria surgido entre 500 e 1000 atrás (KAPOOR *et al.*, 2011), a verdadeira origem ainda é bastante incerta e o patógeno pode ter transbordado a partir dos próprios cães ou outras espécies não primatas (KAPOOR *et al.*, 2011). Também pode ter sido devido a exposição à hepacivírus de roedores ou morcegos por meio da contaminação fecal de alimentos (PYBUS; THÉZÉ, 2016).

Outros casos de zoonoses transmitidas por humanos a animais são descritos, por exemplo, no surto de sarampo ocorrido em um viveiro de primatas não humanos em 1996 nos EUA (WILLY *et al.*, 1999). Além disso, durante a pandemia de influenza A (H1N1) foram relatados casos de transmissão humana aos animais em fazendas de criação de suínos na Coreia do Sul (SONG *et al.*, 2010), criadouro de perus no Chile e Canadá (BERHANE *et al.*, 2010) e furões domésticos nos Estados Unidos (SWENSON *et al.*, 2010). Ademais, a presença de rotavírus em animais silvestres no Japão como cães-guaxinim japoneses e *Paguma larvata* foi descrita possivelmente devido ao contato dessas espécies com humanos ou gatos nas zonas urbanas (ABE *et al.*, 2010). Mais recentemente, em meio a pandemia de COVID-19, o estudo publicado por Shi *et al.* (2020) afirmou que furões domésticos e gatos são mais

suscetíveis à infecção por SARS-CoV-2. Os felinos domésticos inclusive podem ser infectados por transmissão pelo ar.

#### **4.7 Importância do entendimento do processo de transbordamento zoonótico na previsão de pandemias**

Entender como as barreiras do transbordamento interagem no espaço e no tempo permitirá aperfeiçoar a capacidade de prever e/ou prevenir estes eventos (PLOWRIGHT *et al.*, 2017). Esta linha de pensamento vai de encontro também com o que recomenda Morse *et al.* (2012) no qual descreve que a compreensão desses processos presentes na natureza são fundamentais para o fomento de programas pautados na vigilância de doenças infecciosas eminentes com potencial de causar pandemias (MORSE *et al.*, 2012). A predominância de zoonoses de origem selvagem em doenças emergentes vem chamando a atenção na comunidade científica nos últimos e levou a criação de programas e estratégias para analisar a vida selvagem, descobrir novos vírus e avaliar seu potencial zoonótico (ANTHONY *et al.*, 2013; MORSE *et al.*, 2012; USAID, 2020)

Um entendimento geral que contemple todos processos e fatores que permitem ou impulsionem a passagem de um patógeno originário de um animal vertebrado a ter sucesso em estabelecer uma infecção no ser humano, e como esses processos estão hierarquicamente, funcionalmente e quantitativamente ligados, permanece como uma lacuna relevante na pesquisa sobre zoonoses (LLOYD-SMITH *et al.*, 2009, 2015; OLIVAL *et al.*, 2017). Mesmo com os grandiosos e rápidos avanços vistos nos últimos anos, existem poucas ferramentas analíticas para identificar com precisão quais espécies hospedeiras são susceptíveis de abrigar novos vírus ou quais deles podem cruzar os limites das espécies o que, conseqüentemente, ainda não nos permite traçar nenhuma regra capaz prever a suscetibilidade de um novo hospedeiro (OLIVAL *et al.*, 2017; PARRISH *et al.*, 2008). Além do mais, Gortazar *et al.* (2014) comenta que o foco atual dos estudos em ecologia aborda geralmente sistemas envolvendo uma apenas um patógeno-hospedeiro sendo necessário a expansão das pesquisas para uma perspectiva que considere múltiplos hospedeiros e patógenos.

## **4.8 Estratégias biotecnológicas que podem ser usadas para monitoramento de novos patógenos virais**

Diante do conhecimento da influência do clima e do comportamento humano principalmente atrelado ao consumismo, urbanização e expansão das fronteiras agrícolas, assim como novos hospedeiros e vetores se movimentarão ou surgirão juntamente a essas tendências. Com o propósito de mitigar essas problemáticas, a narrativa deste trabalho segue com o objetivo de refletir e mostrar estratégias de mitigações para reduzir a ameaça de doenças infecciosas em todo o mundo. Uma dessas estratégias é o fomento de projetos de monitoramento de novos patógenos em escala global (MORSE *et al.*, 2012) podendo ser utilizadas ferramentas do ramo da biotecnologia, como a metagenômica e a imunoinformática.

### **4.8.1 Metagenômica viral**

A metagenômica é um campo de pesquisa que envolve a obtenção de sequências do genoma de uma comunidade de organismos que habitam um ambiente específico e fornece um panorama da estrutura (riqueza e distribuição de espécies) e do potencial funcional (metabólico) (HUGENHOLTZ; TYSON, 2008). A primeira aparição dessa abordagem foi na publicação de Handelsamn *et al.* (1998) no qual afirma este ser um “método mais direto, de amplo espectro e rápido”. Além do mais, uma grande vantagem desta abordagem está relacionada ao fato da grande dificuldade de cultivar vírus em laboratório que é descrito como um processo lento, laborioso e que exige conhecimento da fisiologia dos microrganismos (HANDELSMAN *et al.*, 1998; HUGENHOLTZ; TYSON, 2008). A metagenômica aplicada a espécies virais iniciou em 2002 com o estudo de comunidades de bacteriófagos marinhos (BREITBART *et al.*, 2002).

Para vigilância de infecções virais emergentes, Delwart (2007) e Mohsin *et al.* (2021) sugerem que a metagenômica pode ser aplicada na caracterização viral em populações altamente expostas, como usuários de drogas injetáveis, funcionários de instalações de zoológicos e mercados de animais, ou populações altamente suscetíveis, como pacientes imunocomprometidos.

Conforme revisão de Delwart (2007) diferentes técnicas de reação em cadeia da polimerase (PCR) podem ser aplicadas para descoberta de novos vírus. A primeira é a PCR com iniciação arbitrária (AP-PCR) que é conhecida como uma metodologia simples normalmente usada para analisar diferenças entre genomas complexos. Sua vantagem está relacionada à capacidade dos *primers* em iniciar a reação em muitos locais diferentes numa mistura complexa de ácidos nucleicos em baixa temperatura (próximas a 40 °C). (DELWART, 2007). Em 2001, este método foi usado por Van Den Hoogen *et al.* (2001) para clonar uma nova espécie de pneumovírus.

Além disso, existem os *primers* degenerados usados no consenso PCR (também conhecida como cPCR). Essa tecnologia é usada no projeto EPT PREDICT para ligar e amplificar sequências conservadas em espécies virais dentro de um determinado grupo de vírus permitindo a detecção de vírus conhecidos e desconhecidos (USAID, 2020). Delwart (2007) comenta que esta abordagem é limitada por cada grupo viral onde são exigidos o uso de diferentes conjuntos de *primers* degenerados, bem como o uso de primers altamente degenerados para grupos virais altamente variáveis. Outro exemplo relevante é o PCR de amplificação aleatória que é um método baseado na amplificação de todos os ácidos nucleicos presentes numa determinada amostra. Usa-se *primers* com uma sequência de nucleotídeos aleatória na extremidade 3' com o tamanho de quatro a oito nucleotídeos e uma sequência previamente definida em sua extremidade 5'. Para vírus de RNA, é feita a transcrição reversa numa temperatura de anelamento a 37 °C a fim de permitir que extensões de cDNA sejam iniciadas aleatoriamente. (DELWART, 2007)

Além das diferentes metodologias de PCR, as técnicas de microarranjo fornecem uma ferramenta interessante na vigilância de patógenos conforme explica Tang e Chiu (2010) em sua revisão sobre o tema. Dessa maneira, uma abordagem relevante, por exemplo, é o uso de microarranjo “pan-virais” pois este mecanismo pode ser capaz de detectar todos os vírus conhecidos usando dezenas de milhares de sondas oligonucleotídicas. No entanto, devido à amplificação não específica e aleatória, sua sensibilidade analítica é menor quando comparada com os ensaios que detectam um único ou poucos agentes de uma vez (TANG; CHIU, 2010)

Na estrutura desses microarranjos não somente vírus já catalogados podem ser detectados, como também novas espécies e subtipos virais com pelo menos algum grau de similaridade genética com base na homologia das sequências conservadas daqueles conhecidos (WANG *et al.*, 2002, 2003). Em síntese, é preciso

que “novos vírus sejam suficientemente relacionados aos já descobertos para permitir a hibridização específica” (DELWART, 2007). Exemplos são os “Virochip” e o “GreeneChip”, que conforme descreve Tang e Chiu (2010), empregam sondas contendo 70 nucleotídeos visando regiões genéticas conservadas dentro de cada grupo taxonômico de vírus. Esse comprimento aumentado das sondas as torna menos suscetíveis a erros de emparelhamento e, portanto, mais adequadas para a detecção de novos vírus (WANG *et al.*, 2002). Além do mais, o GreeneChip aproveita o banco de dados de famílias de proteínas no GenBank para gerar sondas virais, enquanto o Virochip utiliza sequências conservadas evolutivamente nos genomas virais representados no GenBank (TANG; CHIU, 2010). O uso de Virochip foi relatado na descoberta de coronavírus não caracterizados em uma amostra de um paciente com SARS por Wang *et al.* (2003) e para detecção viral em infecções do trato respiratório por Chiu *et al.* (2008). Além disso, através dessa tecnologia, foi relatada uma diversidade inesperada de coronavírus e rinovírus humanos por Kistler *et al.* (2007) e a detecção de um novo patógeno relacionado aos vírus H1N1 sem informações anteriores conforme descrito por Greninger *et al.* (2010)

Outras abordagens metagenômicas são as técnicas de sequenciamento de nova geração (NGS). Conforme revisado por Tang e Chiu (2010), é uma estratégia capaz de detectar vírus bastante diferentes dos vírus conhecidos, devido à produção de centenas de milhares a milhões de leituras de sequência. Este é um método sofisticado, pois permite identificação de sequências de novos vírus que podem estar presentes em títulos muito baixos na amostra. Ademais, o sequenciamento de alto rendimento é um campo em rápida evolução, e vários novos sistemas de sequenciamento de terceira geração já estão em desenvolvimento para impulsionar essa abordagem. As duas plataformas mais comumente usadas para aplicações de descoberta de vírus incluem o sistema de sequenciamento da 454 Life Sciences e o sistema de “sequenciamento por síntese” da Solexa/Illumina (TANG; CHIU, 2010). Mais recentemente, metodologias de sequenciamento de nova geração podem ter papel crucial na determinação das mutações virais que conferem virulência e resistência contra os antivirais (MOHSIN *et al.*, 2021)

Em adição a isso, Dacheux *et al.* (2010) descreve que os microarranjos de DNA clássicos, embora poderosos em termos de sensibilidade, possuem uma desvantagem relacionada à diminuição da especificidade sendo necessário vários marcadores. Além disso, esses métodos carecem de informações abrangentes sobre

o patógeno no nível de um único nucleotídeo, o que pode representar um grande problema quando as sequências em questão mostram um elevado grau de similaridade. No entanto, a técnica de ressequenciamento baseado nos microarranjos representa uma alternativa promissora para superar essas limitações, pois identifica os patógenos de forma específica e analisa vários deles em um único teste. Esta tecnologia usa conjuntos de blocos que contêm sondas perfeitamente combinadas para ambas as fitas dos genes alvo. É relatada que essa estratégia pode ter capacidade de detectar e identificar novas espécies de vírus já que abrange um repertório de organismos identificáveis muito além daqueles que estão inicialmente incluídos na matriz (revisado por Dacheux *et al*, 2010)

Além disso, Mohsin *et al.* (2021) reafirma que graças aos recentes avanços em equipamentos de NGS é possível o sequenciamento de alto rendimento de metagenomas, como sequenciamento em tempo real de molécula única e sequenciamento por nanoporos. Dessa forma, os autores ainda atentam que estes avanços possibilitaram um melhor fechamento de *gap* devido a leituras longas e a minimização de erros citando a tecnologia de sequenciamento *nanopore* como uma ferramenta portátil que pode ser usada em locais remotos.

De uma forma geral, a Figura 3 descreve um mecanismo para a descoberta de novos agentes infecciosos virais. Primeiro, o processo se inicia a partir de amostras que são suspeitas de conter vírus, mas cujo resultado é negativo para patógenos por testes convencionais de microbiologia. Então, elas são analisadas para vírus comuns por meio de PCR. Em caso de vírus comuns estarem presentes, eles são sequenciados para determinar se são novas variantes. As amostras negativas para os vírus já conhecidos são hibridizadas com um microarranjo pan-viral para detectar uma gama mais ampla de vírus. Se os vírus não puderem ser encontrados por meio de técnicas de microarranjo, a amostra então deverá ser submetida ao sequenciamento (TANG; CHIU, 2010).

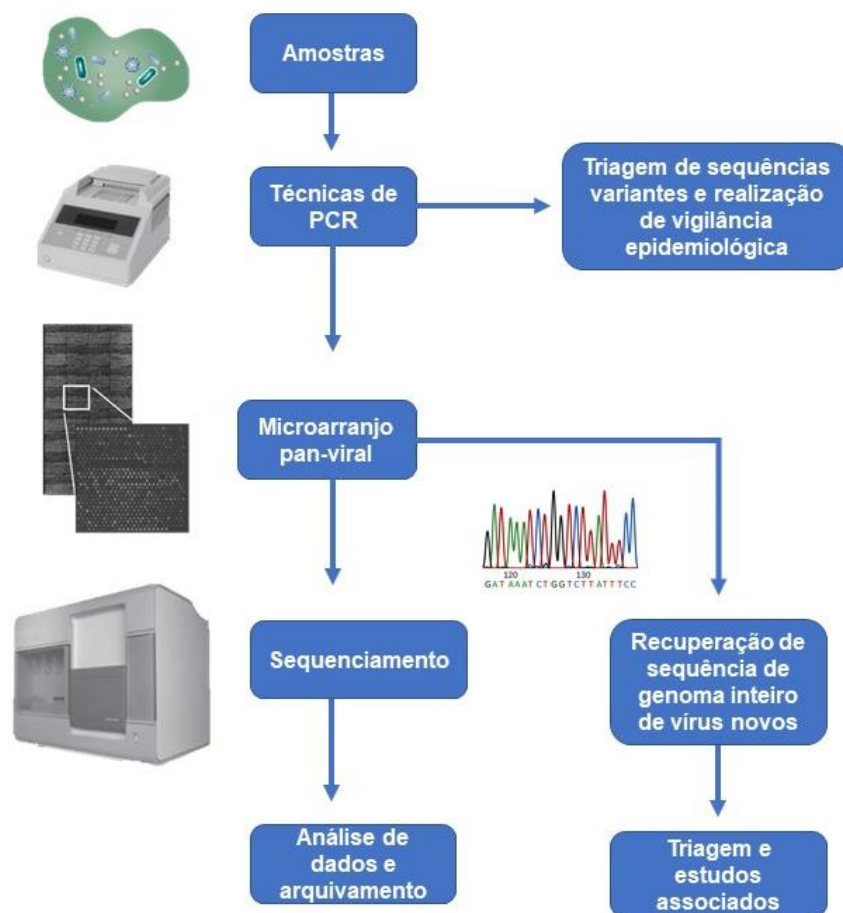


Figura 3 - Mecanismo geral para a identificação de novos vírus com emprego da metagenômica. Primeiro, o processo se inicia a partir de amostras que são suspeitas de conter vírus. Em caso de resultado negativo, elas são analisadas para vírus comuns por meio de PCR. Se vírus comuns estiverem presentes, eles são sequenciados para determinar se são novas variantes. As amostras negativas para os vírus já conhecidos são hibridizadas com um microarranjo pan-viral para detectar uma gama mais ampla de vírus. Se os vírus não puderem ser encontrados por meio de técnicas de microarranjo, a amostra então deverá ser submetida ao sequenciamento. Por fim são feitas análises de dados ou estudos de triagem. Fonte: Adaptado e traduzido de Tang e Chiu (2010)

#### 4.8.2 Vacinologia reversa e imunoinformática

Faz mais de 20 anos desde que Rappuoli (2000) descreveu a técnica conhecida como vacinologia reversa, que ampliou os horizontes dentro do campo de desenvolvimento de novas vacinas e se conectou de forma ideal com os avanços no sequenciamento de organismos naquela época suscitando uma “terceira geração” de vacinas, que são baseadas na aplicação da ciência vacinômica (KANAMPALLIWAR, 2020). Um dos grandes diferenciais desta abordagem em relação à vacinologia clássica é a rapidez nas primeiras etapas de triagem novos alvos vacinais, pois são feitas análises a partir o genoma do patógeno que oferece um “catálogo virtual de todos os antígenos proteicos que o organismo pode expressar a qualquer momento”



(RAPPUOLI, 2000). O protocolo desta técnica foi originalmente desenvolvido para o desenvolvimento de uma vacina contra a infecção causada pela bactéria *Neisseria meningitidis* sorogrupo B. (PIZZA *et al.*, 2000)

Além do mais, um importante benefício é não precisar cultivar grandes quantidades de vírus, bactérias e outros patógenos, o que pode ser dispendioso (DONATI; RAPPUOLI, 2013; RAPPUOLI, 2000). Ao longo dos anos, com a consolidação desta técnica, já se sabe que ela é capaz de identificar uma ampla gama de candidatos vacinais, incluindo aquelas proteínas que não haviam sido identificadas antes, pois eram ocultadas por outros alvos imunodominantes e a triagem permite reduzir a quantidade de testes em modelos animais (DONATI; RAPPUOLI, 2013). Outras vantagens e desvantagens são descritas na Tabela 3 e, conforme mostrado na Figura 4, essa abordagem se inicia a partir da sequência genômica que com análises de bioinformática, como a imunoinformática onde são feitas previsões dos antígenos com maior probabilidade de serem candidatos à vacina (RAPPUOLI, 2000).

As vacinas de subunidade baseadas em epítomos são geralmente consideradas mais seguras quando comparadas a outras formulações contendo vetores atenuados, por exemplo (revisado por Kanampalliwar, 2020). Sendo assim, a vacinologia reversa lida com a análise de imunoinformática para prever epítomos que desempenham um papel importante no desenvolvimento de uma vacina candidata (revisado por Kanampalliwar, 2020). É importante ressaltar que os linfócitos B e T possuem papel primordial no sistema imunológico e, dessa maneira, desenvolver vacinas baseadas nessas estruturas proteicas pode ser uma estratégia promissora no desenvolvimento de um novo imunizante (KANAMPALLIWAR, 2020). A Figura 5 traz um esquema geral de abordagens de imunoinformática aplicadas para o desenvolvimento de vacinas contra patologias virais.

Tabela 3 - Comparação da vacinologia tradicional com a vacinologia reversa

Vacinologia clássica	Vacinologia reversa
Principais características	
Usa-se antígenos imunogênicos durante a doença	Todos os antígenos imunogênicos durante a doença Pode identificar antígenos que não são imunogênicos durante a infecção
Microrganismos devem ser cultiváveis	Identifica antígenos de microrganismos não cultiváveis
Modelos animais são essenciais	Modelos animais são essenciais
Correlatos de proteção são úteis	Correlatos de proteção são muito importantes O dobramento correto da proteína heteróloga é importante Expressão com alto rendimento é importante
Vantagens	
Vacinas podem ser baseadas moléculas não proteicas como polissacarídeos, lipopolissacarídeos e glicolipídeos	Acesso rápido a praticamente todos os antígenos Microrganismos não cultiváveis podem ser pesquisados Antígenos não abundantes podem ser identificados Antígenos que não são imunogênicos durante a infecção podem ser identificados Antígenos que são expressos transitoriamente durante a infecção e não expressos <i>in vitro</i> podem ser identificados
Desvantagens	
Muito tempo gasto para identificação de antígenos	
Variabilidade antigênica de muitos dos antígenos identificados	Antígenos não proteicos não podem ser usados (polissacarídeos, lipopolissacarídeos, glicolipídeos)
Antígenos expressos <i>in vitro</i> não podem ser identificados	
Apenas proteínas estruturais são consideradas	

Fonte: Adaptado e traduzido de Rappuoli (2000)

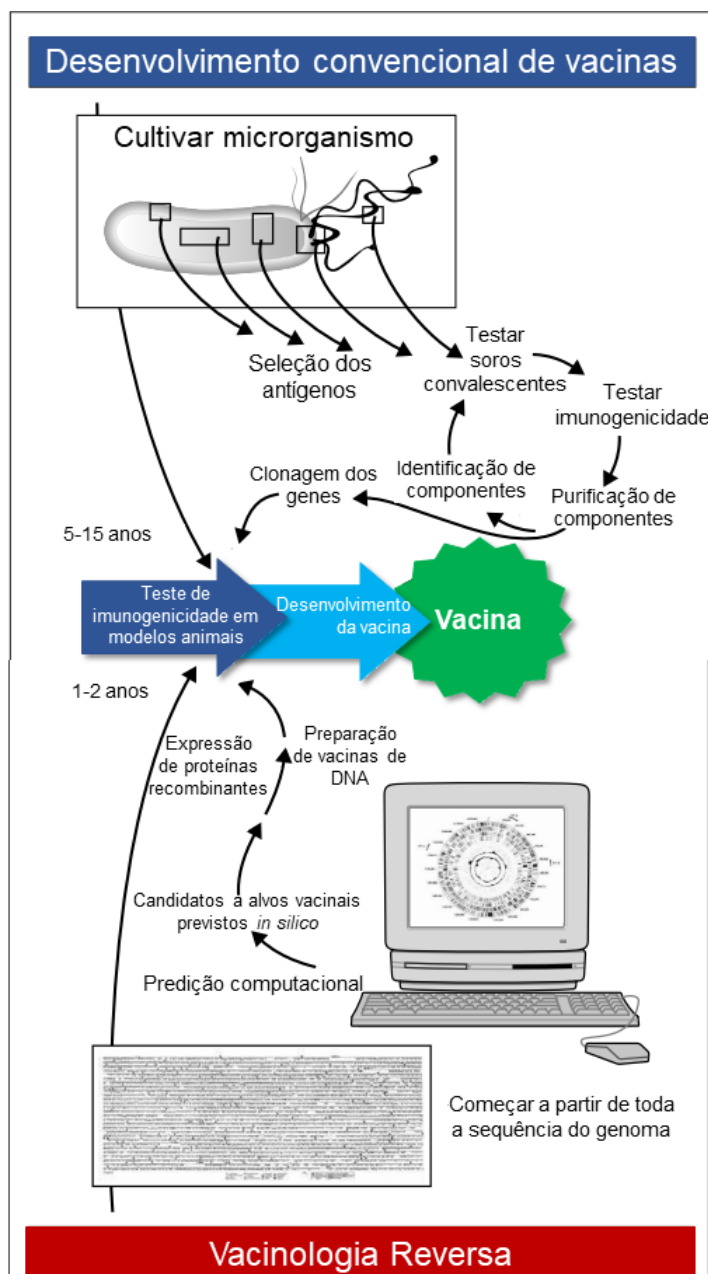


Figura 4 - Representação esquemática das etapas essenciais do desenvolvimento de vacinas comparando a abordagem da vacinologia convencional com a vacinologia reversa.  
 Fonte: Adaptado e traduzido de Rappuoli (2000)

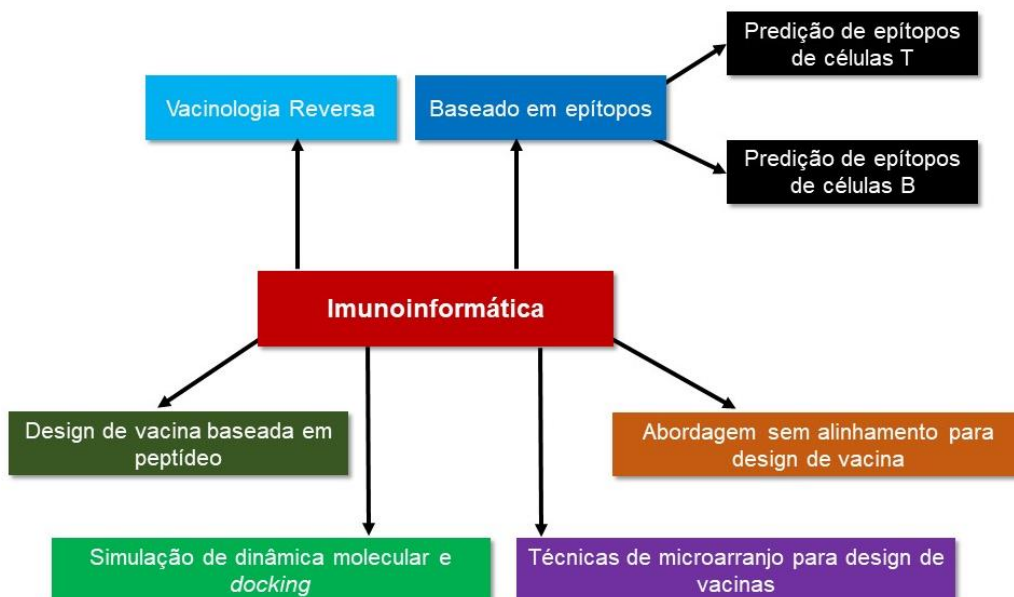


Figura 5 - Abordagens gerais de vacinologia que podem ser derivadas a partir da imunoinformática  
 Fonte: Adaptado e traduzido de Anand e Raghuwanshi (2020) p.279

Tendo em vista a potencialidade do uso de estratégias computacionais para predição dessas estruturas imunogênicas, a Tabela 4 descreve exemplos de ferramentas *online* que podem ajudar a prever epítomos de células B e T.

Tabela 4 - Exemplo de ferramentas *online* que podem ser usadas nas análises de imunoinformática

Ferramenta	Nome	URL
Banco de dados	SVM Server	sysbio.unl.edu/SVMTriP
	MHCPEP	wehih.wehi.edu.au/mhcpep
	JenPep	www.jenner.ac.uk/JenPep
	MHCBN	www.imtech.res.in/raghava/mhcbn
	EPIMHC	mif.dfci.harvard.edu/Tools/db_query_epimhc
Preditor de epítomos de células B	ABCpred	www.imtech.res.in/raghava/abcpred
	Bepipred	www.cbs.dtu.dk/services/BepiPred
	Bcepred	www.imtech.res.in/raghava/bcepred/
	Pepitope	www.pepitope.tau.ac.il
	FBCpred	ailab.cs.iastate.edu/bcpreds
Preditor de epítomos de células T	IMGT®	www.imgt.org
	IEDB	www.immuneepitope.org
	EpiJen v 1.0	www.ddg-harmfac.net/epijen/EpiJen/EpiJen.htm
	MHCpred	www.jenner.ac.uk/MHCPred
	NetMHC 3.0	www.cbs.dtu.dk/services/NetMHC/

Fonte: Adaptado de Kanampalliwar *et al.* (2013) e De e Tomar (2014)

Em relação às viroses emergentes, pesquisas recentes usam a imunoinformática na tentativa de desenvolver uma vacina contra febre de Lassa (BARAL *et al.*, 2020; SAYED *et al.*, 2020) e síndromes respiratórias agudas causadas

por Nipah (MAJEE; JAIN; KUMAR, 2021; MOHAMMED *et al.*, 2020; RAVICHANDRAN; VENKATESAN; FEBIN PRABHU DASS, 2019) e Hendranipavírus (KAMTHANIA *et al.*, 2019), o que evidencia a potencialidade da vacinologia reversa em somar forças para o monitoramento de patógenos com potencial em causar pandemias.

### **4.8.3 Esforços internacionais para vigilância de patógenos virais**

De acordo com a definição descrita no *site* do CDC, Saúde Única é uma abordagem que descreve a saúde humana conectada diretamente à saúde animal e ao ambiente que compartilhamos com estes seres. Sendo assim, é uma iniciativa que possui um caráter colaborativo, multissetorial e transdisciplinar atuando desde o nível local ou regional até âmbitos nacionais e global (CDC, 2021). Um dos focos principais dessa iniciativa é combater zoonoses emergentes considerando todos os componentes que podem levar ao surgimento das mesmas (CUNNINGHAM; DASZAK; WOOD, 2017). Concordante a isso, a “*One Health Initiative*” afirma tratar-se de uma estratégia mundial que permitirá a humanidade avançar em diversos aspectos “acelerando as descobertas da pesquisa biomédica, aumentando a eficácia da saúde pública, expandindo rapidamente a base de conhecimento científico e melhorando a educação médica e o atendimento clínico”. (ONE HEALTH INITIATIVE, 2021). Tendo em vista o cenário atual em que estamos vivendo, essa iniciativa continuará ganhando espaço nos próximos anos impactando diversas esferas da sociedade induzindo o desenvolvimento e cumprimento de agendas internacionais (GIBBS, 2014)

#### **4.8.3.1 Doença X**

Conectada ao anseio das dinâmicas virais emergentes, a OMS declarou em 2018 através do documento “*Blueprint of Priority Diseases*” que a “Doença X” seria uma enfermidade causada por um patógeno desconhecido com a capacidade de desencadear uma grande emergência na saúde pública global ou ainda “um patógeno já conhecido que mudou suas características epidemiológicas aumentando sua transmissibilidade ou gravidade” (MEHAND *et al.*, 2018). A problemática em relação ao surgimento de uma doença desconhecida emergente com potencial pandêmico é

a capacidade limitada de desenvolver exames de diagnóstico, vacina e tratamentos de forma rápida, eficiente e com abrangência global (SIKKEMA; KOOPMANS, 2021).

#### 4.8.3.2 Sistemas de vigilância

Mohsin *et al.* (2021) propõe um sistema de vigilância baseado na combinação de abordagens de metagenômica e epidemiologia não deve ser limitada às áreas de alta biodiversidade já identificados (também conhecidos como “*hotspots*”), mas também aspectos relacionados à densidade populacional e condições climáticas. Além disso, ao saber de um novo patógeno em determinada localidade todos os lugares próximos com parâmetros semelhantes devem ser rigorosamente examinados imediatamente a fim de manter um forte controle sobre qualquer possível surto de disseminação. O autor ainda acrescenta que técnicas de metagenômica baseadas no sequenciamento de última geração, juntamente com a epidemiologia, poderá formar um sistema bastante eficiente de vigilância e comenta que para ser aplicável, este sistema deve estar conectado um banco de dados abrangente, atualizado e expandido regularmente quanto às sequências virais já registradas. Essa abordagem consequentemente poderia ajudar a detectar qualquer possível cepa diferente. Conectado a estes anseios recentes, Grange *et al.* (2021) criaram a plataforma *online* para classificação de risco viral, o “SpillOver” (<https://spillover.global>). Trata-se de um banco de dados com objetivo de catalogar vírus emergentes comparando e estimando uma pontuação de risco com os vírus já conhecidos fornecendo uma orientação para que sejam formuladas intervenções de saúde pública com o intuito de prevenir e estabelecer um controle rápido de surtos de doenças. A plataforma foi desenvolvida usando revisões de literatura e contribuições de especialistas, o que resultou na identificação de fatores que contribuem para o risco de transbordamento. Na Tabela 5 está descrito o *ranking* dos dez vírus com suas respectivas pontuações relacionadas ao risco de causar pandemias conforme elaborado por Grange *et al.* (2021). Nesta lista estão incluídos vírus já conhecidos pela ciência e que já sofreram processo de transbordamento, bem como aqueles com potencial ainda desconhecido. Todos foram detectados na África e nas regiões sudeste e sul da Ásia de 2009 a 2019.

Tabela 5 - *Ranking* dos dez vírus com risco de causar pandemias

Posição	Pontuação de Risco	Vírus
1	91.2	Vírus de Lassa
2	87.14	SARS-CoV-2
3	87.00	Ebola
4	86.5	Seoul vírus
5	86.5	Nipah vírus
6	86.4	Vírus da Hepatite E
7	85.70	Marburg vírus
8	85.04	SARS-CoV
9	84.8	Vírus da imunodeficiência símia
10	84.7	Vírus da Raiva

Fonte: Adaptado de Grange *et al.* (2021)

Conforme mostra a Tabela 5, o vírus de Lassa tem sido relatado como um relevante patógeno no contexto de viroses emergentes com risco pandêmico. Um aumento de casos da doença causada por esse agente — uma febre hemorrágica viral grave conhecida como Febre de Lassa — chamou atenção da comunidade científica em 2018 (ROBERTS, 2018). O principal reservatório deste vírus são os roedores africanos da espécie *Mastomys natalensis* sendo os humanos infectados por meio do contato com secreções e excreções do animal na qual é relatada uma taxa de mortalidade de 20% (CHARREL; DE LAMBALLERIE, 2003) e a taxa real de transmissão entre humanos ainda é desconhecida (ROBERTS, 2018).

Outro ponto interessante levantado por Mohsin *et al.* (2021) é a possibilidade do uso de marcadores genéticos populacionais para determinar, por exemplo, se a prevalência de SNPs em uma determinada população os torna mais vulneráveis a um tipo específico de patógeno viral. Ademais, Sokolow *et al.* (2019) contextualiza que a vacinação de hospedeiros reservatórios pode ser uma alternativa eficiente para evitar o transbordamento zoonótico o que também poderia ser aplicado em populações humanas expostas a viroses emergentes, como recentemente está sendo feito para comunidades localizadas em zona de risco para contágio de Ebola (SAPHIRE, 2020). A Figura 6 apresenta uma esquematização de como futuros surtos pandêmicos poderiam ser prevenidos.



Figura 6 - Exemplo de medidas que podem ser tomadas para prevenir uma nova pandemia em cinco etapas.

Fonte: Informações adaptadas de Mohsin et al. (2021), Sokolow et al., (2019) e Saphire (2020). Ilustração própria.

A comunidade científica internacional, como forma de se alertar e tentar mitigar o surgimento de infecções imprevistas, já vêm mostrando esforços em programas de vigilância. Em 2005, a OMS revisou e promulgou o “Regulamento Sanitário Internacional” (RSI), um acordo internacional onde está descrito que os Estados Membros da OMS ficam obrigados a manter sistemas eficazes de vigilância e devem relatar novas doenças emergentes que possam se tornar um problema global. As normas têm por objetivo prevenir a propagação de doenças infecciosas. Este regulamento já existia em 1969, no entanto apenas tratava acerca da ameaça da cólera, peste e febre amarela. Em 2005, o documento foi revisado e foram incluídas qualquer doença nova ou desconhecida. As determinações passaram a vigorar no ano de 2007 e dentre alguns pontos que se destacam nas declarações estão o fortalecimento da capacidade de detecção, notificação e resposta rápida aos eventos de saúde pública, bem como de “notificar à OMS, no prazo máximo de 24 horas, todos os eventos que podem constituir uma emergência de saúde pública de importância internacional” e fazer o que for possível para implementar as medidas recomendadas pela organização. (OPAS, 2021)

Neste mesmo contexto, diversas iniciativas e projetos visando evitar o transbordamento de vírus com potencial pandêmico vêm ganhando cada vez mais espaço nos últimos. Um exemplo é o projeto EPT PREDICT iniciado em 2009 e que é



encabeçado pela Agência dos EUA para o Desenvolvimento Internacional (USAID). Este é o primeiro programa coordenado em escala global projetado para conduzir a descoberta de vírus em reservatórios selvagens. Além disso, tem por objetivo caracterizar e elucidar fatores ecológicos e socioeconômicos que impulsionam seu risco de transbordamento (USAID, 2020). A principal ferramenta que esta iniciativa utiliza é a reação em cadeia da polimerase de consenso (cPCR). Ainda segundo a USAID, esta técnica é barata, altamente implementável em ambientes com recursos limitados e é adequada para encontrar novos vírus em muitas amostras conforme mostram as Figuras 7 e 8 (USAID, 2020).



Figura 7 - Esquema do processo de descoberta de patógenos virais que é feito pelo programa PREDICT.

Fonte: Traduzido e adaptado de USAID (2020) p. 28



Figura 8 - Como o projeto PREDICT utiliza a descoberta de vírus para entender o risco zoonótico. A partir da coleta de amostras do ambiente são desenvolvidos também estudos *in vitro*, ecológicos, epidemiológicos e até mesmo estudos evolutivos para melhor avaliação dos riscos relacionados às espécies virais. Fonte: Adaptado e traduzido de USAID (2020) p. 43

Outro projeto nessa vertente, é o Coalizão para Inovações em Preparação para Epidemias (CEPI) lançado oficialmente no Fórum Econômico Mundial em 2017 com o lema “*Um mundo em que as epidemias não são mais uma ameaça para a humanidade*”. Esta iniciativa é uma parceria entre organizações públicas, privadas e filantrópicas. Sua principal meta se baseia em acelerar o desenvolvimento de vacinas contra doenças infecciosas emergentes e a defesa de um acesso equitativo a essas vacinas para as populações mais atingidas durante os surtos (CEPI, 2021).

Mais um exemplo nesse caminho é o “*The Global Virome Project*” que conforme descreve Carroll *et al.* (2018) tem o ambicioso objetivo de fazer amostragem em grande escala e descoberta viral afim de caracterizar centenas de milhares de vírus desconhecidos. Todavia, a vigilância de doenças ainda desconhecidas é uma abordagem complexa podendo ser bastante cara (SIKKEMA; KOOPMANS, 2021). É estimado que a descoberta de todos os vírus com potencial epidêmico e a caracterização de seu risco de transbordamento, usando as tecnologias e protocolos atualmente disponíveis, seria custosa em mais de US \$ 7 bilhões (CARROLL *et al.*, 2018). Mesmo assim, é perceptível que esse valor é muito inferior aos prejuízos ocasionados pela atual pandemia de COVID-19, por exemplo.

De maneira bastante semelhante, em virtude da ameaça expressa pelos surtos de Ebola em 2014-2016 na África, surgiu o “*Global Preparedness Monitoring Board*” que é um Conselho da OMS composto por líderes políticos, chefes de agências e especialistas cujos objetivos principais são a avaliação da capacidade internacional de se proteger diante de emergências de saúde, identificação de lacunas e elaboração de atividades de prevenção com líderes nacionais ou mundiais. Além disso, são responsáveis por “complementar e aprimorar as funções de responsabilidade existentes da OMS, das Nações Unidas, do Banco Mundial e de outras partes interessadas” (GLOBAL PREPAREDNESS MONITORING BOARD, 2019).

## 5. Conclusão

Mesmo sendo considerados organismos simples do ponto de vista estrutural, os vírus são sinônimo de uma força invisível que modifica enormemente o ciclo de vida de outros seres desnudando o fascínio e o medo daqueles que se consideram os mais complexos e inteligentes dentre todas as espécies da Terra: os humanos. Sendo assim, deste trabalho podemos concluir que a humanidade, diante da problemática de surgimento de novos patógenos, não pode medir esforços para monitorá-los e combatê-los. O conhecimento acerca dos aspectos que influenciam os processos de transbordamento zoonótico e as formas como podemos evitá-los, controlá-los e monitorá-los é essencial dentro do princípio da Saúde Única devendo não apenas refletir a saúde humana, mas a preservação de todo conjunto de seres vivos que contribuem para harmonia da biosfera. Os seres humanos têm atravessado séculos adquirindo conhecimentos extraordinários que não apenas lhe dão conforto, mas acima de tudo lhe garantem a manutenção da preciosidade mais primordial que qualquer ser vivo pode possuir: a vida. Mesmo diante da tecnologia que permeia nossa vivência seguimos ameaçados por duas forças. Uma delas é invisível aos nossos olhos sendo desencadeada por microrganismos, como vírus e bactérias. Já a outra é visível, explícita e bastante evidente: a ignorância humana.

À vista disso, o mundo precisa estar permeado pelo respeito e incentivo à ciência, bem como o mantimento contínuo de recursos financeiros para garantir a preservação do nosso futuro. Mesmo com a afronta do negacionismo nocivo de uma parcela da sociedade, valorizar os cientistas — que atuam como um importante pilar na guerra contra doenças infecciosas — é um dos primeiros passos para trilharmos um caminho de prosperidade neste planeta. No entanto, esta não é a única direção. Ao finalizar a narrativa dessa revisão fica evidente que a humanidade tem falhado em diversos aspectos. Essa percepção fica ainda mais nítida quando paramos para refletir todas as situações que circundam nossa rotina em sociedade — desde as pequenas atitudes individuais até o discurso de líderes políticos que influenciam a conduta de dezenas ou centenas de milhões de pessoas.

Sendo assim, é urgente uma reflexão em conjunto com as demais bilhões de pessoas que, mesmo separadas por milhares de quilômetros, são capazes de desencadear fenômenos e cataclismas que podem mudar para sempre a vida humana neste planeta. Isso pode soar utópico, mas é uma das únicas maneiras de frear a

derrocada de nossa existência, pois as doenças infecciosas causadas por vírus não são uma novidade e vão continuar nos acompanhando e nos afligindo enquanto a espécie humana estiver aqui. Para sanar essa problemática, podem ser elencados aspectos ligados ao consumismo e ao comportamento humano, que não podem ser esquecidos e muito menos subestimados. Além disso, cabe destacar que a ciência vem cumprindo seu papel como uma luz resplandecendo em meio a essa escuridão advinda da ganância humana. Nas últimas décadas, a biotecnologia e suas inovações vêm trazendo mais impulso a uma transformação que se faz cada vez mais necessária e incontestável.

Ademais, sabendo que nossa maior preciosidade é a vida e a forma como a manipulamos, está no conhecimento dos cientistas e na consciência de cada indivíduo a chave para atingirmos a imperturbabilidade do princípio vital responsável por mover este orbe peculiar que nos abriga diante da imensidão infinita do universo.

## 6. Referências bibliográficas

- ABE, M. *et al.* Molecular characterization of rotaviruses in a Japanese raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*) and a masked palm civet (*Paguma larvata*) in Japan. **Veterinary Microbiology**, v. 146, n. 3–4, p. 253–259, 2010.
- ALLEN, T. *et al.* Global hotspots and correlates of emerging zoonotic diseases. **Nature Communications**, v. 8, n. 1, p. 1–10, 2017.
- ANDRADES VALTUEÑA, A. *et al.* The Stone Age Plague and Its Persistence in Eurasia. **Current Biology**, v. 27, n. 23, p. 3683–3691.e8, 2017.
- ANTHONY, S. J. *et al.* A strategy to estimate unknown viral diversity in mammals. **mBio**, v. 4, n. 5, p. 1–15, 2013.
- BARAL, P. *et al.* In-silico identification of the vaccine candidate epitopes against the Lassa virus hemorrhagic fever. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1–11, 2020.
- BARUA, D. History of Cholera. In: **Cholera**. Boston: Springer US, 1992. p. 1–36.
- BERHANE, Y. *et al.* Molecular characterization of pandemic H1N1 influenza viruses isolated from Turkeys and pathogenicity of a human pH1N1 isolate in Turkeys. **Avian Diseases**, v. 54, n. 4, p. 1275–1285, 2010.
- BINDER, S. *et al.* Emerging infectious diseases: Public health issues for the 21st century. **Science**, v. 284, n. 5418, p. 1311–1313, 1999.
- BREITBART, M. *et al.* Genomic analysis of uncultured marine viral communities. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 99, n. 22, p. 14250–14255, 2002.
- BURKE, D. S. Evolvability of emerging viruses. In: NELSON, A.; HORSBURGH, C. (Eds.). **Pathology of emerging infection**. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1998. p. 1–12.
- CARROLL, D. *et al.* The Global Virome Project. **Science**, v. 359, n. 6378, p. 872–874, 2018.
- CASCIO, A. *et al.* The socio-ecology of zoonotic infections. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 17, n. 3, p. 336–342, 2011.
- Centers for Disease Control and Prevention. Emerging Infectious Diseases.** Disponível em: <<https://www.cdc.gov/niosh/topics/emerginfectdiseases/>>. Acesso em: 1 maio. 2021.
- Centers for Disease Control and Prevention. One Health.** Disponível em: <<https://www.cdc.gov/onehealth/basics/index.html>>. Acesso em: 15 maio. 2021.
- Coalition for Epidemic Preparedness Innovations: Why we exist?** Disponível em:

<<https://cepi.net/about/whyweexist/>>. Acesso em: 16 maio. 2021.

CHARREL, R. N.; DE LAMBALLERIE, X. Arenaviruses other than Lassa virus. **Antiviral Research**, v. 57, n. 1–2, p. 89–100, 2003.

CHIU, C. Y. *et al.* Utility of DNA Microarrays for Detection of Viruses in Acute Respiratory Tract Infections in Children. **Journal of Pediatrics**, v. 153, n. 1, 2008.

CUNNINGHAM, A. A.; DASZAK, P.; WOOD, J. L. N. One health, emerging infectious diseases and wildlife: Two decades of progress? **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 372, n. 1725, 2017.

DACHEUX, L. *et al.* Application of Broad-Spectrum Resequencing Microarray for Genotyping Rhabdoviruses. **Journal of Virology**, v. 84, n. 18, p. 9557–9574, 2010.

DASZAK, P.; CUNNINGHAM, A. A. Extinction by infection. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 14, n. 7, p. 279, 1999.

DASZAK, P.; CUNNINGHAM, A. A.; HYATT, A. D. Emerging infectious diseases of wildlife - Threats to biodiversity and human health. **Science**, v. 287, n. 5452, p. 443–449, 2000.

DELEO, F. R.; HINNEBUSCH, B. J.; PLAGUE. A plague upon the phagocytes. **Nature Medicine**, v. 11, n. 9, p. 927–928, 2005.

DELWART, E. L. Viral metagenomics. **Reviews in Medical Virology**, v. 17, n. 2, p. 115–131, 2007.

DIAMOND, J. Evolution, consequences and future of plant and animal domestication. **Nature**, v. 418, n. August, 2002.

DOBSON, A. P.; CARPER, E. R. Infectious Diseases and Human population History: establishment of disease has been a side effect of the growth of civilization. **BioScience**, v. 46, n. 2, p. 115–126, 1996.

DONATI, C.; RAPPUOLI, R. Reverse vaccinology in the 21st century: Improvements over the original design. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1285, n. 1, p. 115–132, 2013.

DONG, E.; DU, H.; GARDNER, L. COVID-19 in real time. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 20, n. 5, p. 533–534, 2020.

DRAKE, J. W.; HOLLAND, J. J. Mutation rates among RNA viruses. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 96, n. 24, p. 13910–13913, 1999.

DYKHUIZEN, D. E. Santa Rosalia revisited: Why are there so many species of bacteria? **Antonie van Leeuwenhoek**, p. 25–33, 1998.

FAUCI, A. S. Infectious diseases: Considerations for the 21st century. **Clinical**

**Infectious Diseases**, v. 32, n. 5, p. 675–685, 2001.

FENNER, F. The effects of changing social organisation on the infectious diseases of man. In: **The Impact of Civilisation on the Biology of Men**. [s.l.] Australian National University Press, 1968. p. 48–76.

FONKWO, P. N. Pricing infectious disease. The economic and health implications of infectious diseases. **EMBO Reports**, v. 9, n. SUPPL. 1, p. 3–7, 2008.

GE, X. *et al.* Isolation and characterization of a bat SARS-like coronavirus that uses the ACE2 receptor. **Nature**, v. 503, n. 7477, p. 535–538, 2013.

GEOGHEGAN, J. L. *et al.* Virological factors that increase the transmissibility of emerging human viruses. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 113, n. 15, p. 4170–4175, 2016.

GIBBONS, C. L. *et al.* Measuring underreporting and under-ascertainment in infectious disease datasets: A comparison of methods. **BMC Public Health**, v. 14, n. 1, p. 1–17, 2014.

GIBBS, E. P. J. The evolution of one health: A decade of progress and challenges for the future. **Veterinary Record**, v. 174, n. 4, p. 85–91, 2014.

GORTAZAR, C. *et al.* Crossing the Interspecies Barrier: Opening the Door to Zoonotic Pathogens. **PLoS Pathogens**, v. 10, n. 6, 2014.

**Global Preparedness Monitoring Board. World Health Organisation. A world at risk: Annual report on global preparedness for health emergencies..** [s.l.: s.n.]. Disponível em: <[https://apps.who.int/gpmb/assets/annual\\_report/GPMB\\_annualreport\\_2019.pdf](https://apps.who.int/gpmb/assets/annual_report/GPMB_annualreport_2019.pdf)>.

GRANGE, Z. L. *et al.* Ranking the risk of animal-to-human spillover for newly discovered viruses. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 118, n. 15, p. 1–8, 2021.

GRENINGER, A. L. *et al.* A metagenomic analysis of pandemic influenza a (2009 H1N1) infection in patients from North America. **PLoS ONE**, v. 5, n. 10, p. 1–16, 2010.

GUERNIER, V.; HOCHBERG, M. E.; GUÉGAN, J. F. Ecology drives the worldwide distribution of human diseases. **PLoS Biology**, v. 2, n. 6, p. 740–746, 2004.

HAN, B. A.; KRAMER, A. M.; DRAKE, J. M. Global Patterns of Zoonotic Disease in Mammals. **Trends in Parasitology**, v. 32, n. 7, p. 565–577, 2016.

HANDELSMAN, J. *et al.* Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: A new frontier for natural products. **Chemistry and Biology**, v. 5, n. 10, 1998.

HAUCK, K. The Economics of Infectious Diseases. In: **Oxford Research Encyclopedia of Economics and Finance**. [s.l.] Oxford University Press, 2018.

HAYS, J. N. **Epidemics and pandemics: their impacts on human history**. [s.l.] Abc-clio, 2005.

HOLMES, E. C. The evolution of viral emergence. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 103, n. 13, p. 4803–4804, 2006.

HUBÁLEK, Z. Emerging human infectious diseases: anthroponoses, zoonoses, and sapronoses. **Emerging infectious diseases**, v. 9, n. 3, p. 403, 2003.

HUGENHOLTZ, P.; TYSON, G. W. Microbiology: Metagenomics. **Nature**, v. 455, n. 7212, p. 481–483, 2008.

HUREMOVIĆ, D. Brief history of pandemics (Pandemics Throughout History). In: **Psychiatry of pandemics**. [s.l.] Springer, 2019. p. 7–35.

JOHNSON, C. K. *et al.* Spillover and pandemic properties of zoonotic viruses with high host plasticity. **Nature Publishing Group**, v. 5, n. 1, p. 1–8, 2015.

JOHNSON, C. K. *et al.* Global shifts in mammalian population trends reveal key predictors of virus spillover risk. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 287, n. 1924, 2020.

JOHNSON, N. P. A. S.; MUELLER, J. Updating the accounts: global mortality of the 1918-1920 “Spanish” influenza pandemic. **Bulletin of the history of medicine**, v. 76, n. 1, p. 105–115, 2002.

JONES, B. A. *et al.* Zoonosis emergence linked to agricultural intensification and environmental change. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 110, n. 21, p. 8399–8404, 2013.

JONES, K. E. *et al.* Global trends in emerging infectious diseases. **Nature**, v. 451, n. 7181, p. 990–993, 2008.

KAMTHANIA, M. *et al.* Immunoinformatics Approach to Design T-cell Epitope-Based Vaccine Against Hendra Virus. **International Journal of Peptide Research and Therapeutics**, v. 25, n. 4, p. 1627–1637, 2019.

KANAMPALLIWAR, A. M. Reverse Vaccinology and Its Applications. In: TOMAR, N. (Ed.). **Immunoinformatics**. [s.l.] Humana Press, 2020. p. 1–16.

KAPOOR, A. *et al.* Characterization of a canine homolog of hepatitis C virus. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 108, n. 28, p. 11608–11613, 2011.

KING, D. A. *et al.* Infectious diseases: Preparing for the future. **Science**, v. 313, n. 5792, p. 1392–1393, 2006.

KISTLER, A. *et al.* Pan-viral screening of respiratory tract infections in adults with and without asthma reveals unexpected human coronavirus and human rhinovirus diversity. **Journal of Infectious Diseases**, v. 196, n. 6, p. 817–825, 2007.



KUIKEN, T. *et al.* Host species barriers to influenza virus infections. **Science**, v. 312, n. 5772, p. 394–397, 2006.

KYU, H. H. *et al.* Global, regional, and national disability-adjusted life-years (DALYs) for 359 diseases and injuries and healthy life expectancy (HALE) for 195 countries and territories, 1990-2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. **The Lancet**, v. 392, n. 10159, p. 1859–1922, 2018.

LAFFERTY, K. D.; GERBER, L. R. Good Medicine for Conservation Biology: the Intersection of Epidemiology and Conservation Theory\rBuena Medicina para la Biología de la Conservación: la Intersección de la Epidemiología y la Teoría de Conservación. **Conservation Biology**, v. 16, n. 3, p. 593–604, 2002.

LARSEN, C. Biological Changes in Human Populations with Agriculture. **Annual Review of Anthropology**, v. 24, n. 1, p. 185–213, 1995.

LAST, J. M. **A Dictionary of Epidemiology**. 5. ed. [s.l.] Oxford University Press, Inc., 2008.

LEMEY, P. *et al.* Tracing the origin and history of the HIV-2 epidemic. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 100, n. 11, p. 6588–6592, 2003.

LIPSITCH, M. *et al.* Viral factors in influenza pandemic risk assessment. **eLIFE**, v. 5, p. 1–38, 2016.

LLOYD-SMITH, J. O. *et al.* Epidemic dynamics at the human-animal interface. **Science**, v. 326, n. 5958, p. 1362–1367, 2009.

LLOYD-SMITH, J. O. *et al.* Nine challenges in modelling the emergence of novel pathogens. **Epidemics**, v. 10, p. 35–39, 2015.

LONGDON, B. *et al.* The Evolution and Genetics of Virus Host Shifts. **PLoS Pathogens**, v. 10, n. 11, 2014.

MACPHERSON, C. N. L. Human behaviour and the epidemiology of parasitic zoonoses. **International Journal for Parasitology**, v. 35, n. 11–12, p. 1319–1331, 2005.

MAHAPATRA, M. *et al.* Spillover of peste des petits ruminants virus from domestic to wild ruminants in the Serengeti ecosystem, Tanzania. **Emerging Infectious Diseases**, v. 21, n. 12, p. 2230–2234, 2015.

MAJEE, P.; JAIN, N.; KUMAR, A. Designing of a multi-epitope vaccine candidate against Nipah virus by in silico approach: a putative prophylactic solution for the deadly virus. **Journal of Biomolecular Structure and Dynamics**, v. 39, n. 4, p. 1461–1480, 2021.

MCNEILL, W. H. **Plagues and People**. Garden City, NY: Anchor Books, 1976.

MEHAND, M. S. *et al.* The WHO R&D Blueprint: 2018 review of emerging infectious diseases requiring urgent research and development efforts. **Antiviral Research**, v. 159, p. 63–67, 2018.

MESSENGER, A. M.; BARNES, A. N.; GRAY, G. C. Reverse zoonotic disease transmission (Zooanthroponosis): A systematic review of seldom-documented human biological threats to animals. **PLoS ONE**, v. 9, n. 2, p. 1–9, 2014.

MILLS, J. N.; GAGE, K. L.; KHAN, A. S. Potential influence of climate change on vector-borne and zoonotic diseases: A review and proposed research plan. **Environmental Health Perspectives**, v. 118, n. 11, p. 1507–1514, 2010.

MOHAMMED, A. A. *et al.* Epitope-Based Peptide Vaccine against Glycoprotein G of Nipah Henipavirus Using Immunoinformatics Approaches. **Journal of Immunology Research**, v. 2020, n. April, 2020.

MOHSIN, H. *et al.* Potential role of viral metagenomics as a surveillance tool for the early detection of emerging novel pathogens. **Archives of Microbiology**, v. 203, n. 3, p. 865–872, 2021.

MORAES, M. P.; JARAMILLO, H. D. Genética e evolução viral. In: FLORES, E. F. (Ed.). **Virologia veterinária**. Santa Maria: Editora UFSM, 2007. v. 5p. 87–106.

MORENS, D. M. *et al.* Pandemic covid-19 joins history's pandemic legion. **mBio**, v. 11, n. 3, p. 1–9, 2020.

MORENS, D. M.; FOLKERS, G. K.; FAUCI, A. S. What is a pandemic? **Journal of Infectious Diseases**, v. 200, n. 7, p. 1018–1021, 2009.

MORENS, D. M.; FOLKERS, G. K.; FAUCI, A. S. Erratum: The challenge of emerging and re-emerging infectious diseases (Nature (2004) 430 (242-249)). **Nature**, v. 463, n. 7277, p. 122, 2010.

MORSE, S. S. Factors in the emergence of infectious diseases. **Emerging Infectious Diseases**, v. 1, n. 1, p. 7–15, 1995.

MORSE, S. S. *et al.* Prediction and prevention of the next pandemic zoonosis. **The Lancet**, v. 380, n. 9857, p. 1956–1965, 2012.

MORSE, S. S. Public Health Disease Surveillance Networks. **One Health**, p. 197–211, 2014.

MURRAY, C. J. Quantifying the burden of disease : the technical basis for disability-adjusted life years. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 72, n. 3, p. 429–445, 1994.

MURRAY, C. J. L. *et al.* Disability-adjusted life years (DALYs) for 291 diseases and injuries in 21 regions, 1990-2010: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. **The Lancet**, v. 380, n. 9859, p. 2197–2223, 2012.

MURRAY, C. J. L.; LOPEZ, A. D. Global and regional cause-of-death patterns in 1990. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 72, n. 3, p. 447–480, 1994.

MYERS, S. S. et al. Human health impacts of ecosystem alteration. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 110, n. 47, p. 18753–18760, 2013.

NUNEZ, S. et al. Assessing the impacts of climate change on biodiversity: is below 2 °C enough? **Climatic Change**, v. 154, n. 3–4, p. 351–365, 2019.

OAKS JR, S. C.; SHOPE, R. E.; LEDERBER, J. **Emerging infections: microbial threats to health**. Washington, DC: National Academy Press, 1992.

OLIVAL, K. J. et al. Host and viral traits predict zoonotic spillover from mammals. **Nature**, v. 546, n. 7660, p. 646–650, 2017.

Organização Mundial da Saúde. **The top 10 causes of death. Global Health Estimates**. Disponível em: <<https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates>>.

**One Health Initiative: About Us**. Disponível em: <<https://onehealthinitiative.com/about/>>. Acesso em: 15 maio. 2021.

**ONU News. Banco Mundial prevê pior recessão desde a Segunda Guerra Mundial**. Disponível em: <<https://news.un.org/pt/story/2020/06/1716072>>. Acesso em: 10 maio. 2021.

**Organização Pan-Americana de Saúde: Regulamento Sanitário Internacional**. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/regulamento-sanitario-internacional-rsi>>. Acesso em: 16 maio. 2021.

PARRISH, C. R. et al. Cross-Species Virus Transmission and the Emergence of New Epidemic Diseases. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 72, n. 3, p. 457–470, 2008.

PATZ, J. A. et al. Unhealthy landscapes: Policy recommendations on land use change and infectious disease emergence. **Environmental Health Perspectives**, v. 112, n. 10, p. 1092–1098, 2004.

PATZ, J. A. et al. Impact of regional climate change on human health. **Nature**, v. 438, n. 7066, p. 310–317, 2005.

PEDERSEN, A. B. et al. Infectious diseases and extinction risk in wild mammals. **Conservation Biology**, v. 21, n. 5, p. 1269–1279, 2007.

PIKE, J. et al. Economic optimization of a global strategy to address the pandemic threat. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 111, n. 52, p. 18519–18523, 2014.

PIZZA, M. et al. Identification of vaccine candidates against serogroup B

meningococcus by whole-genome sequencing. **Science**, v. 287, n. 5459, p. 1816–1820, 2000.

PLOWRIGHT, R. K. *et al.* Pathways to zoonotic spillover. **Nature Reviews Microbiology**, v. 15, n. 8, p. 502–510, 2017.

PYBUS, O. G.; THÉZÉ, J. Hepacivirus cross-species transmission and the origins of the hepatitis C virus. **Current Opinion in Virology**, v. 16, p. 1–7, 2016.

RAPPUOLI, R. Reverse vaccinology. **Current Opinion in Microbiology**, v. 3, n. 5, p. 445–450, out. 2000.

RASCOVAN, N. *et al.* Emergence and Spread of Basal Lineages of *Yersinia pestis* during the Neolithic Decline. **Cell**, v. 176, n. 1–2, p. 295–305.e10, 2019.

RASMUSSEN, S. *et al.* Early Divergent Strains of *Yersinia pestis* in Eurasia 5,000 Years Ago. **Cell**, v. 163, n. 3, p. 571–582, 2015.

RAVICHANDRAN, L.; VENKATESAN, A.; FEBIN PRABHU DASS, J. Epitope-based immunoinformatics approach on RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) protein complex of Nipah virus (NiV). **Journal of Cellular Biochemistry**, v. 120, n. 5, p. 7082–7095, 2019.

REPERANT, L. A.; CORNAGLIA, G.; OSTERHAUS, A. D. M. E. The Importance of Understanding the Human–Animal Interface. In: **Current Topics in Microbiology and Immunology**. [s.l.] Springer, Berlin, Heidelberg, 2012. v. 365p. 49–81.

REVICH, B. A.; PODOLNAYA, M. A. Thawing of permafrost may disturb historic cattle burial grounds in East Siberia. **Global health action**, v. 4, 2011.

REZENDE, J. M. DE. Epidemia, Endemia, Pandemia. Epidemiologia. **Revista de Patologia Tropical / Journal of Tropical Pathology**, v. 27, n. 1, p. 14–15, 1998.

ROBERTS, L. Nigeria hit by unprecedented Lassa fever outbreak. **Science**, v. 359, n. 6381, p. 1201–1202, 2018.

RODÓ, X. *et al.* Changing climate and the COVID-19 pandemic: more than just heads or tails. **Nature Medicine**, p. 19–22, 2021.

ROGERS, D. J.; RANDOLPH, S. E. Studying the global distribution of infectious diseases using GIS and RS. **Nature Reviews Microbiology**, v. 1, n. 3, p. 231–237, 2003.

ROOSSINCK, M. J. The good viruses : viral mutualistic symbioses. **Nature Publishing Group**, v. 9, n. 2, p. 99–108, 2011.

SANJUÁN, R.; DOMINGO-CALAP, P. Mechanisms of viral mutation. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 73, n. 23, p. 4433–4448, 2016.

SAPHIRE, E. O. A Vaccine against Ebola Virus. **Cell**, v. 181, n. 1, p. 6, 2020.

SAYED, S. BIN *et al.* Exploring Lassa Virus Proteome to Design a Multi-epitope Vaccine Through Immunoinformatics and Immune Simulation Analyses. **International Journal of Peptide Research and Therapeutics**, v. 26, n. 4, p. 2089–2107, 2020.

SCHEIDEL, W. The Black Death. In: **The great leveler: Violence and the history of inequality from the stone age to the twenty-first century**. Princeton: Princeton University Press, 2017. p. 291–313.

SHI, J. *et al.* Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus 2. **Science**, v. 368, n. 6494, p. 1016–1020, 2020.

SIKKEMA, R. S.; KOOPMANS, M. P. G. Preparing for Emerging Zoonotic Viruses. **Encyclopedia of Virology**, p. 256–266, 2021.

SILVA, L. J. DA; ANGERAMI, R. N. **Viroses emergentes no Brasil**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008.

SMOLINSKI, M. S.; HAMBURG, M. A.; LEDERBERG, J. **Microbial threats to health: emergence, detection, and response**. Washington, DC: National Academies Press, 2003. v. 124

SOKOLOW, S. H. *et al.* Ecological interventions to prevent and manage zoonotic pathogen spillover. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 374, n. 1782, p. 1–10, 2019.

SONG, M. S. *et al.* Evidence of human-to-swine transmission of the pandemic (H1N1) 2009 influenza virus in South Korea. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 48, n. 9, p. 3204–3211, 2010.

SPYROU, M. A. *et al.* Phylogeography of the second plague pandemic revealed through analysis of historical *Yersinia pestis* genomes. **Nature Communications**, v. 10, n. 1, 2019.

SWENSON, S. L. *et al.* Natural cases of 2009 pandemic H1N1 Influenza A virus in pet ferrets. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 22, n. 5, p. 784–788, 2010.

TANG, P.; CHIU, C. Metagenomics for the discovery of novel human viruses. **Future Microbiology**, v. 5, n. 2, p. 177–189, 2010.

TATEM, A. J.; ROGERS, D. J.; HAY, S. I. Global Transport Networks and Infectious Disease Spread. **Advances in Parasitology**, v. 62, n. 05, p. 293–343, 2006.

TAYLOR, L. H.; LATHAM, S. M.; WOOLHOUSE, M. E. J. Risk factors for human disease emergence. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 356, n. 1411, p. 983–989, 2001.

USAID. **PREDICT. Advancing Global Health Security at the Frontiers of Disease Emergence.** Disponível em:  
<<https://ohi.vetmed.ucdavis.edu/sites/g/files/dgvnsk5251/files/inline-files/PREDICT>

LEGACY - FINAL FOR WEB -compressed\_0.pdf>.

VAN DEN HOOGEN, B. G. *et al.* A newly discovered human pneumovirus isolated from young children with respiratory tract disease. **Nature Medicine**, v. 7, n. 6, p. 719–724, 2001.

WANG, D. *et al.* Microarray-based detection and genotyping of viral pathogens. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 99, n. 24, p. 15687–15692, 2002.

WANG, D. *et al.* Viral discovery and sequence recovery using DNA microarrays. **PLoS Biology**, v. 1, n. 2, 2003.

WEISS, R. A.; MCMICHAEL, A. J. Social and environmental risk factors in the emergence of infectious diseases. **Nature Medicine**, v. 10, n. 12, p. 570–576, 2004.

WILLY, M. E. *et al.* Management of a measles outbreak among old world nonhuman primates. **Laboratory Animal Science**, v. 49, n. 1, p. 42–48, 1999.

WOODROFFE, R. Managing disease threats to wild mammals. **Animal Conservation**, v. 2, n. 03, p. 185–193, 1999.

WOOLHOUSE, M. *et al.* Human viruses: Discovery and emergence. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 367, n. 1604, p. 2864–2871, 2012.

WOOLHOUSE, M. E. J.; GOWTAGE-SEQUERIA, S. Host range and emerging and reemerging pathogens. **Emerging Infectious Diseases**, v. 11, n. 12, p. 1842–1847, 2005.

WOOLHOUSE, M. E. J.; HAYDON, D. T.; ANTIA, R. Emerging pathogens: The epidemiology and evolution of species jumps. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 20, n. 5, p. 238–244, 2005.

WOOLHOUSE, M.; GAUNT, E. Ecological origins of novel human pathogens. **Critical Reviews in Microbiology**, v. 33, n. 4, p. 231–242, 2007.

WORLD BANK. **Global Economic Prospects, January 2021**. [s.l: s.n.].