

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

THAIS ALLIPRANDINI SILVA

INOVAÇÃO E AUTONOMIA NO DIAGNÓSTICO DE DENGUE: PRODUÇÃO
DA PROTEÍNA EDIII-TETRAVALENTE COMO FERRAMENTA PARA O
FORTALECIMENTO DO COMPLEXO ECONÔMICO INDUSTRIAL DA SAÚDE
BRASILEIRO

MATINHOS

2024

THAIS ALLIPRANDINI SILVA

INOVAÇÃO E AUTONOMIA NO DIAGNÓSTICO DE DENGUE: PRODUÇÃO DA
PROTEÍNA EDIII-TETRAVALENTE COMO FERRAMENTA PARA O
FORTALECIMENTO DO COMPLEXO ECONÔMICO INDUSTRIAL DA SAÚDE
BRASILEIRO

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Ciências Ambientais, Setor Litoral, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Ciências Ambientais.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Fernandes Huergo.

MATINHOS

2024

RESUMO

A dengue é uma das principais doenças virais transmitidas por mosquitos, com um impacto significativo na saúde pública global, especialmente no Brasil, que concentra mais da metade da carga da doença. Como uma doença negligenciada, a dengue enfrenta desafios significativos devido à falta de investimentos por parte do Complexo Econômico-Industrial da Saúde (CEIS) em escala global, dificultando seu enfrentamento eficaz. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo desenvolver e otimizar um protocolo para a produção e purificação da proteína recombinante EDIII-Tetravalente, um importante insumo destinado ao diagnóstico sorológico da dengue. A proteína foi expressa em *Escherichia coli*, escolhida por sua facilidade de manipulação, baixo custo e eficiência produtiva. A otimização do protocolo permitiu aumentar o rendimento de produção de 7-8 mg para 15,5 mg de proteína por litro de cultura, enquanto os custos de produção são muito menores, em comparação aos valores da proteína manufaturada praticada no mercado internacional. Além disso, a proteína apresentou excelente desempenho em testes ELISA realizados por outros membros do grupo de pesquisa, demonstrando alta capacidade de discriminação entre soros positivos e negativos para dengue. A EDIII-Tetravalente também mostrou maior estabilidade durante o processo de diálise, em contraste com as proteínas EDIII-DENV1 e EDIII-DENV2, que apresentaram precipitação. Como resultado prático, a tecnologia desenvolvida foi transferida para uma empresa privada que produz insumos voltados ao Sistema Único de Saúde (SUS), fortalecendo o complexo econômico-industrial brasileiro e promovendo a inovação e a autonomia tecnológica na área da saúde. Essa parceria reforça o impacto social da pesquisa, ampliando o acesso a soluções diagnósticas de alta qualidade para a população

Palavras-chave: Dengue; Proteínas Recombinante; EDIII-Tetravalente; Purificação; Inovação Tecnológica em Saúde.

ABSTRACT

Dengue is one of the most significant mosquito-borne viral diseases, with a substantial impact on global public health, especially in Brazil, which accounts for more than half of the disease burden worldwide. As a neglected disease, dengue faces significant challenges due to the lack of investments from the Health Economic-Industrial Complex (HEIC) on a global scale, hindering effective control and response efforts. In this context, the present study aimed to develop and optimize a protocol for the production and purification of the recombinant EDIII-Tetravalent protein, an essential input for the serological diagnosis of dengue. The protein was expressed in *Escherichia coli*, chosen for its ease of manipulation, low cost, and productive efficiency. The optimization of the protocol increased the production yield from 7-8 mg to 15.5 mg of protein per liter of culture, while significantly reducing production costs compared to international market prices. Additionally, the protein demonstrated excellent performance in ELISA tests conducted by other research group members, showing high capacity to discriminate between positive and negative dengue sera. The EDIII-Tetravalent protein also exhibited greater stability during the dialysis process, unlike EDIII-DENV1 and EDIII-DENV2 proteins, which precipitated under the same conditions. As a practical outcome, the developed technology was transferred to a private company that produces inputs for the Unified Health System (SUS), strengthening Brazil's Health Economic-Industrial Complex and fostering innovation and technological autonomy in the health sector. This partnership reinforces the social impact of the research, expanding access to high-quality diagnostic solutions for the population.

Keywords: Dengue; Recombinant Proteins; EDIII-Tetravalent; Purification; Technological Innovation in Health.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: ANIMAÇÃO MÉDICA 3D DE UM VÍRUS DA DENGUE.....	23
Figura 2: DESENHO ESQUEMÁTICO DA TRADUÇÃO DO GENOMA.....	25
Figura 3: GEL DO PERFIL ELETROFORÉTICO.....	30

SUMÁRIO

1 .INTRODUÇÃO	8
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	10
2.1 UMA ESTRUTURA SOCIAL DE INJUSTIÇAS E DESIGUALDADES.	10
2.2 INJUSTIÇAS AMBIENTAIS EM SAÚDE (DETERMINANTES SOCIAIS DA SAÚDE)	12
2.3 AS DOENÇAS TROPICAIS NEGLIGENCIADAS	15
2.4 O DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL POR MEIO DA INOVAÇÃO EM SAÚDE	18
2.5 O VÍRUS DENGUE	22
3 .METODOLOGIA	26
3.1 PLASMÍDEO DE EXPRESSÃO	27
3.2 PREPARO DE CÉLULAS QUIMIOCOMPETENTES E TRANSFORMAÇÃO BACTERIANA.....	27
3.3 EXPRESSÃO, PURIFICAÇÃO E REDOBRAMENTO DA PROTEÍNA EDIII- TETRAVALENTE	28
3.4 DOSAGEM DE PROTEÍNA	29
3.5 ELETROFORESE EM GEL DE POLIACRILAMIDA SOB CONDIÇÃO DESNATURANTE (SDS-PAGE)	29
4 .RESULTADOS	29
5 .CONSIDERAÇÕES FINAIS	31
6 .MEMORIAL DE INTERAÇÕES CULTURAIS HUMANÍSTICAS E PROJETO DE APRENDIZAGEM	33
REFERÊNCIAS	34

1. INTRODUÇÃO

As estruturas sociais que foram construídas ao longo da história, se consolidaram globalmente sob uma perspectiva que causa evidentes desigualdades no acesso e gozo de todo e qualquer elemento ambiental¹, seja ele material ou cultural. Dentre as inúmeras iniquidades existentes, é preciso dar a devida atenção àquelas vinculadas à saúde, já que suas causas estão intimamente relacionadas às desigualdades de outros setores da vida comunitária e suas consequências se somam e agravam as injustiças que recaem sobre as parcelas mais vulneráveis da sociedade, mostrando o seu caráter interdependente.

Esses fatores, conhecidos como determinantes sociais da saúde, em sua dimensão mais ampla, são fortemente influenciados por políticas macroeconômicas, que, por sua vez, estão diretamente ligadas aos interesses do mercado. Essas políticas orientam as diretrizes do Complexo Econômico-Industrial da Saúde², que opera sob uma lógica capitalista, onde o lucro é o principal fator para a produção de insumos. Tal abordagem desconsidera a saúde como um problema sistêmico, cujos impactos atravessam diversas dimensões do desenvolvimento humano, gerando reflexos significativos inclusive na economia.

As falhas de mercado dificultam o desenvolvimento de soluções para problemas que afetam majoritariamente populações de baixa renda, como é o exemplo das doenças tropicais negligenciadas. Essas enfermidades incidem predominantemente em países em desenvolvimento, localizados em zonas tropicais, onde as populações enfrentam barreiras significativas de acesso a políticas sociais efetivas. Além disso, esses desafios são intensificados por fatores ambientais, como condições climáticas que favorecem a proliferação de vetores e dificultam seu controle.

Dentre as doenças negligenciadas, a dengue apresenta uma relevância singular para o Brasil. Apesar dos crescentes investimentos em seu controle e erradicação, a doença permanece hiperendêmica no país, que sozinho concentra 83% da carga total registrada na América Latina e Caribe (ONU, 2024) e mais da metade da carga mundial (Agência Brasil, 2023). Em 2024, o Brasil atingiu um recorde histórico de mais de 6 milhões de casos

¹ Aqui a definição de meio ambiente é multiescalar, como aquela estabelecida pela Resolução 306/2002 do CONAMA: “Meio Ambiente é o conjunto de condições, leis, influência e interações de ordem física, química, biológica, social, cultural e urbanística, que permite, abriga e rege a vida em todas as suas formas”

² Conceito que, segundo Costa (2013), se refere ao “conjunto de segmentos produtivos (industriais e de serviços) que estabelecem uma relação sistêmica entre si envolvidos na prestação de serviços de saúde” (Costa, 2013, p.89), sendo usado pela autora como sinônimo de “Complexo da Saúde”, “Complexo Produtivo”, “Complexo Industrial da Saúde”

prováveis (Brasil, 2024), o que, além de sobrecarregar o sistema de saúde, gerou um prejuízo econômico 28 bilhões³ de reais para o erário.

Para o controle e prevenção de doenças como a dengue, o diagnóstico desempenha um papel essencial, pois possibilita a coleta de dados confiáveis para a vigilância⁴ epidemiológica. Por meio dele, é possível mapear e avaliar os fatores de disseminação e distribuição da doença, identificar padrões de incidência e grupos de risco, além de compreender sua relação com os determinantes sociais da saúde. Essas informações são cruciais para direcionar recursos e estratégias de controle de forma mais eficiente, concentrando esforços nas áreas mais vulneráveis. Além disso, permitem o desenvolvimento de políticas públicas integradas e intersetoriais, capazes de abordar as causas estruturais da propagação da doença, promovendo tanto o tratamento imediato quanto a prevenção de novas ocorrências.

Os testes sorológicos são ferramentas fundamentais para o diagnóstico, pois permitem a detecção de anticorpos ou antígenos específicos no sangue, indicando exposição ao agente infeccioso ou a presença da doença. Entre os principais tipos de testes sorológicos estão o teste rápido e os testes laboratoriais, como o ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), que oferecem maior sensibilidade e especificidade. O teste ELISA destaca-se por sua capacidade de identificar e quantificar proteínas específicas, como antígenos virais ou anticorpos, sendo amplamente utilizado para doenças infecciosas, incluindo a dengue. Além disso, o ELISA é essencial para pesquisas que visam aprimorar tecnologias diagnósticas, reduzindo custos e aumentando a acessibilidade para o desenvolvimento de versões mais rápidas e acessíveis, como o ELISA portátil ou testes rápidos baseados em princípios similares.

Para os ensaios de testes imunológicos é essencial dispor de uma variedade de insumos biológicos, como proteínas recombinantes e anticorpos específicos. No entanto, o

³ De acordo com o jornal Metrôpoles (2024), um estudo publicado na revista *Science* por pesquisadores brasileiros cruzou dados recentes de notificação de casos fornecidos pelo Ministério da Saúde com estimativas realizadas pela Federação das Indústrias do Estado de Minas Gerais (FIEMG). A FIEMG havia projetado que as arboviroses resultariam em um prejuízo de 20,3 bilhões de reais ao governo brasileiro em 2024. No entanto, o estudo subestimou significativamente o número de casos, ao prever 4,2 milhões de notificações para as arboviroses. Somente os casos de dengue registrados neste ano já ultrapassam 6 milhões (FIEMG, 2024).

⁴ Segundo a Organização Pan-Americana da Saúde: "Vigilância: é a análise contínua de todos os aspectos da ocorrência e propagação de uma doença pertinentes ao seu controle efetivo. A vigilância inclui a análise, interpretação e retroalimentação de dados coletados de forma sistemática, em geral utilizando métodos que se distinguem por seu aspecto prático, uniformidade e rapidez mais do que por sua precisão e nível de cobertura" (OPAS, p.10, 2010).

Brasil enfrenta uma significativa dependência de mercados estrangeiros para a aquisição desses materiais, o que encarece os custos de produção e limita a autonomia do país na resposta a surtos e epidemias. A falta de infraestrutura e inovação na produção desses insumos representa um desafio para a sustentabilidade e eficácia do sistema de saúde nacional, tornando urgente a implementação de políticas públicas que incentivem a pesquisa e a produção interna desses recursos.

Dentre os antígenos do vírus da dengue usados em testes imunológicos, a proteína EDIII se destaca devido à sua alta resposta imunológica em indivíduos infectados. A proteína EDIII está relacionada à capacidade do vírus de se ligar aos receptores celulares. Uma proteína quimérica combinando fragmentos da proteína do envelope dos quatro sorotipos do vírus DENV (1,2,3 e 4) pode ser adquirida no mercado internacional a um custo médio de \$1.500 (dólares americanos) por miligrama, refletindo os altos custos associados à produção de proteínas recombinantes.

O Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Paraná, Setor Litoral, desenvolveu uma proteína quimérica da dengue, a EDIII-Tetravalente, projetada para ser utilizada no desenvolvimento de testes sorológicos voltados ao diagnóstico da doença. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi implementar um protocolo para purificação de tal proteína, a fim de reduzir a dependência de insumos externos, contribuindo para maior autonomia tecnológica e para o desenvolvimento de soluções mais acessíveis e sustentáveis no diagnóstico da dengue.

Este estudo também busca contextualizar a pesquisa prática ao abordar as desigualdades em saúde que afetam o processo saúde-doença em populações vulneráveis, com foco nas doenças negligenciadas, como a dengue. Além disso, discute a importância das inovações em saúde e o papel das parcerias público-privadas nesse processo, propondo que essas inovações contribuam para o desenvolvimento de soluções locais sustentáveis, capazes de promover maior equidade e autonomia tecnológica nas regiões afetadas

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Uma estrutura social de injustiças e desigualdades.

O colonialismo foi um ponto de inflexão na globalização das desigualdades, pois foi nesse período que países europeus, hoje integrantes do Norte Global, estabeleceram uma política de dominação e exploração de outras sociedades. Essa política não apenas aprofundou

disparidades econômicas e sociais, mas também, sob o pretexto de uma suposta superioridade cultural, desumanizou as sociedades colonizadas, reduzindo-as a meros instrumentos de exploração e submissão (Césaire, 1978).

As desigualdades criadas por esta política colonial-escravagista ficam totalmente evidente quando Aimé (1978) declara: “Eu, eu falo de sociedades esvaziadas de si próprias, de culturas espezinhadas, de instituições minadas, de terras confiscadas, de religiões assassinadas, de magnificências artísticas aniquiladas, de extraordinárias possibilidades suprimidas” (Césaire, 1978, p.25). Este discurso evidencia não apenas as violências físicas e econômicas sofridas, mas para além delas as violências simbólicas e estruturais a que foram submetidos os povos colonizados e escravizados.

Não por acaso, muitos dos países que hoje compõem o Sul Global vivenciaram esse processo histórico que culminou em um abismo de desigualdades, tanto entre países, no nível global, quanto dentro das estratificações sociais, resultando em populações marginalizadas. Isto porque, o apagamento étnico gerou o subdesenvolvimento dessas sociedades, que, embora tenham deixado de ser colônias escravistas, nunca conseguiram ter autonomia para o seu desenvolvimento, tornando-se áreas marcadas pela exploração neocolonial do imperialismo industrial (Ribeiro, 1970).

Essas desigualdades observadas sob os aspectos de injustiças econômicas, sociais e culturais, foram amplamente discutidas pelos pensadores ao longo da história. No entanto, o conceito de injustiça ambiental ganhou enfoque a partir dos movimentos sociais, organizados nos Estados Unidos na década de 1970, contra o racismo ambiental enfrentado pela população negra. Nos anos de 1980, esses movimentos se uniram aos ambientalistas para compor o Movimento de Justiça Ambiental, que enfrenta as políticas de distribuição desigual dos riscos ambientais resultados da atividade humana (Acselrad, Mello e Bezerra, 2009; Porto, Pacheco e Leroy, 2013).

As injustiças ambientais promovidas pelo imperialismo industrial manifestam-se tanto na exploração desigual dos recursos quanto na distribuição desigual dos impactos ambientais gerados. Isto porque, enquanto o mercado importa dos países do Sul Global recursos humanos, ambientais e de biodiversidade, exporta para esses mesmos países uma carga desproporcional de poluição e degradação. A perversidade dessa lógica moderna, frequentemente defendida como forma de desenvolvimento, fica totalmente escancarada

quando nos deparamos com as propostas do *Memorando Summers*⁵ (Acselrad, Mello e Bezerra, 2009).

Uma evidência da atuação desta política, já endossada pelo Banco Mundial e intensificada pela era da globalização e do capitalismo, é a exploração da América Latina, que para garantir sua inserção no mercado global, claramente tornou-se refém da exportação de *commodities* rurais e metálicas (Acselrad, Mello e Bezerra, 2009; Porto e Pacheco, 2009). Outro exemplo, é a crescente exportação de lixo dos Estados Unidos para a América Latina, denunciada por uma matéria recentemente publicada pela BBC News⁶.

Esse modelo de desenvolvimento, historicamente predatório, intensifica a tensão de conflitos ambientais existentes, principalmente quanto ao tema da saúde humana, ambiental e dos trabalhadores, já que os problemas de saúde pública causados pela vulnerabilização das populações e dos territórios afetados, estão no cerne das reivindicações dos movimentos sociais pela justiça ambiental (Porto e Pacheco, 2009).

Segundo Porto e Pacheco (2009), a relação entre a saúde e o meio ambiente já estava presente nas reivindicações dos movimentos americanos contra o racismo ambiental. No entanto, na América Latina, a integração da perspectiva de justiça ambiental às agendas de combate às iniquidades em saúde só ganhou força a partir dos anos 1990. Essa visão influenciou significativamente a medicina social latino-americana, o que contribuiu para que hoje se tenha uma abordagem de saúde pública que considera os determinantes sociais da saúde (Porto e Pacheco, 2009).

2.2 Injustiças ambientais em saúde (determinantes sociais da saúde)

Paralelamente à incorporação do conceito de injustiça ambiental nas políticas sociais, a evolução do pensamento sobre saúde integral, resultou na adoção do conceito de determinantes sociais da saúde. Buss e Filho (2007) destacam que a relação entre saúde e fatores socioambientais, atualmente denominados determinantes sociais da saúde, já era reconhecida desde meados do século XIX. Os autores atribuem ao polonês Rudolf Virchow

⁵ O *Memorando Summer* é mencionado por Acselrad Mello e Bezerra (2009), na introdução do livro "*O que é Injustiça Ambiental*", como uma evidência do planejamento de uma distribuição desigual dos impactos ambientais. Segundo o autor, o então chefe do Banco Mundial teria escrito aos colegas: "*Cá entre nós, o Banco Mundial não deveria incentivar mais a migração de indústrias poluentes para os países menos desenvolvidos?*" (Let Them Ear Pollution, 1992, p.66, *apud* Acselrad, Mello e Bezerra, 2009, p.7).

⁶ Matéria intitulada: "Por que a América Latina se tornou novo 'lixão' dos EUA" publicada em 13 de fevereiro de 2022, disponível em: <<https://www.bbc.com/portuguese/internacional-60304415>>

um papel de destaque entre os pioneiros que reconheceram a importância do contexto socioambiental na formulação de políticas públicas voltadas à saúde. No entanto, apontam que o debate sobre saúde integral oscilou ao longo do tempo, alternando períodos de abordagem predominantemente biológica, voltada ao estudo de doenças específicas, e outros momentos de um enfoque social mais amplo acerca do processo saúde-doença (Buss e Filho, 2007).

Os determinantes sociais da saúde são o reflexo das desigualdades estruturais que afetam a qualidade de vida das populações, ou seja, “são os fatores sociais, econômicos, culturais, étnicos/raciais, psicológicos e comportamentais que influenciam a ocorrência de problemas de saúde e seus fatores de risco na população” (Buss e Filho, 2007, p.78). É inegável que o meio ambiente exerce uma influência direta sobre a saúde humana, ao determinar os tipos de exposições e riscos aos quais as pessoas estão sujeitas, além de influenciar as condições de acesso a serviços, bens e recursos essenciais para a promoção da saúde e do bem-estar.

É importante destacar que as iniquidades em saúde, causadas por estes determinantes, não são meras desigualdades ambientais descontextualizadas, elas estão atreladas à noção de injustiças sociais e ambientais. Ou seja, trata-se de desigualdades injustas e evitáveis, resultantes da forma como a sociedade está organizada e das relações de poder que se estabelecem entre os diferentes estratos sociais (Barata, 2009; Pae-Sousa, Buss e Barreto, 2021).

A formalização do conceito de determinantes sociais da saúde ocorreu em 2005, quando passou a integrar oficialmente a agenda global em saúde com a criação da Comissão sobre Determinantes Sociais da Saúde pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Esse marco inspirou a formação de uma comissão nacional de mesmo nome no Brasil, consolidando a abordagem integrada entre saúde e fatores socioambientais no contexto das políticas públicas (Buss e Filho, 2007; Miranda, Silveira e Paes-Souza, 2020).

Entre os determinantes sociais de saúde que incidem sobre as populações mais marginalizadas, destacam-se a falta de saneamento adequado, a contaminação das águas por substâncias químicas e a disposição inadequada de lixo e resíduos tóxicos (Acseirad, Mello e Bezerra, 2009). Em outra seara, há a escassez de acesso a serviços essenciais, que se manifesta pela ausência de educação de qualidade, pela precarização de serviços de saúde, pelas péssimas condições de trabalho e pelas escassas oportunidades de lazer e prática de manifestações culturais.

Essas iniquidades, que também são de saúde, são agravadas por questões de gênero, etnia e posição social. Um estudo realizado pelo IPEA aponta que, apesar de o Brasil ter uma população majoritariamente composta por negros e pardos, e as mulheres serem a maioria, os transplantes de órgãos são realizados predominantemente em homens brancos (Marinho, Cardoso e Almeida, 2011). Essa realidade reflete as múltiplas faces das desigualdades, evidenciando a necessidade de ir além das análises focadas exclusivamente na distribuição de renda (Miranda, Silveira e Paes-Souza, p.10, 2020).

Nesse contexto, a estratificação das desigualdades deve ser interpretada com base em quatro condicionantes principais: i) Desigualdades de quê?, que tratam dos diferentes aspectos em que as desigualdades se manifestam, como a saúde; ii) Desigualdades entre quem?, que destacam as disparidades entre homens e mulheres, brancos e negros, ricos e pobres; iii) Desigualdades quando? que considera a construção histórica das desigualdades; e iv) Desigualdades onde? que analisam diferenças regionais e territoriais, como entre áreas urbanas e rurais ou centros e periferias afetadas (Miranda, Silveira e Paes-Souza, p.10, 2020).

Um trecho muito esclarecedor encontrado em Miranda, Silveira e Paes-Souza (2020) traduz a complexidade dos determinantes sociais da saúde:

“Para exemplificar as interconexões entre os determinantes, pensemos que a escolaridade das crianças depende do status socioeconômico dos pais, que também está relacionado à saúde das crianças, começando antes mesmo do nascimento, e a capacidade cognitiva, por meio de estímulos durante a primeira infância. Este conjunto de atributos também influencia fortemente a possibilidade de crescer em um bairro cujas condições sanitárias sejam adequadas, às escolas que virão a frequentar, as oportunidades que poderão ter no mercado de trabalho. Devemos considerar, ainda, a raça e gênero dessas crianças e suas redes de afeto. Todos esses fatores determinam a saúde dessas crianças que, na vigência de déficits, poderão ter prejudicadas suas capacidades de gerar renda, e participar da vida social e política de suas comunidades. Todas essas privações podem se reforçar e se acumular ao longo do tempo - gerando e até ampliando disparidades sociais. A relação entre expectativa de vida e escolaridade, por exemplo, aponta para diferenças enormes no interior de um mesmo país. Aqueles indivíduos que receberam um tempo menor de escolaridade, apresentam desvantagem, menor expectativa de vida, em relação aos que tiveram mais tempo de escolaridade” (Miranda, Silveira e Paes-Souza, 2020, p.8 e 9).

Diante desta complexa interrelação entre os determinantes sociais da saúde, a análise isolada de índices, como o GINI⁷, não é suficiente. É necessário compreendê-los por meio de “enfoques multiníveis”, que integrem os elementos históricos, ambientais, biológicos e ecológicos que há na relação entre saúde e desigualdades (Buss e Filho, 2007).

⁷ O índice de Gini é indicador de desigualdade, usado para medir a distribuição de riqueza dentro de uma sociedade, opera por uma escala de 0 a 1, onde 0 é a riqueza igualmente distribuída e 1 totalmente acumulada. É importante destacar que não se relaciona com nível de prevalência da pobreza (uma pessoa vivendo com menos de US\$2,15 por dia), pois mesmo países mais pobres podem ter uma divisão mais igualitária de suas riquezas (Pae-Sousa, Buss e Barreto, 2021; World Bank 2022).

O modelo de Dahlgren e Whitehead é particularmente interessante para o planejamento de estratégias voltadas aos determinantes sociais da saúde, pois os organiza esses fatores em diferentes camadas. No centro, estão os fatores individuais e de comportamento; na camada seguinte, as comunidades e redes sociais; em seguida, a atuação política para garantir condições materiais e psicossociais; e, na camada mais externa, os macrodeterminantes, representados por políticas macroeconômicas, ambientais, de mercado e por iniciativas voltadas à paz, à cultura e à solidariedade. Portanto, ao elaborar estratégias que possam alcançar a esfera individual, é fundamental promovê-las nas camadas mais amplas, como a dos macrodeterminantes (Buss e Filho, 2007).

Ao realizar uma análise macroeconômica sobre as doenças que assolam a humanidade, observa-se que algumas recebem menos atenção e investimento por parte do Complexo Econômico-Industrial da Saúde. Isso ocorre porque este mercado global é pautado pelos interesses de países do Norte Global, que não enfrentam, na mesma proporção, as chamadas doenças tropicais e negligenciadas. Essas enfermidades predominam em países tropicais, onde encontram, além de condições climáticas favoráveis, políticas urbanas desordenadas que favorecem sua proliferação (Trouiller *et al.*, 2002; Hotez *et al.*, 2008; Mendonça, Souza e Dutra, 2009; Brasil, 2010; Morel, 2011; Araújo, Moreira e Aguiar, 2013; Costa, 2013; Zicker, Albuquerque e Fonseca 2019).

2.3 As doenças tropicais negligenciadas

As Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs) (em inglês NTDs - Neglected Tropical Diseases), são conceituadas pela OMS (em inglês WHO - World Health Organization) como um conjunto de doenças variadas, provocadas por uma pluralidade de agentes patogênicos, agrupadas devido ao preocupante impacto social e econômico que causam, principalmente, na saúde das populações de países em desenvolvimento, localizados, em sua maioria, nas zonas tropicais, bem como pela pouca atenção dada na agenda global para solucioná-las (WHO, 2023).

São exemplos de DTNs, a doença de chagas, a dengue, a chikungunya, a leishmaniose, a lepra, a raiva, a sarna, a helmintíases transmitidas pelo solo, a teníase/cisticercose, dentre muitas outras. Devido a esta diversidade, a epidemiologia das DTNs é complexa, já que os meios de transmissão são muito diversos, o que torna seu controle e prevenção um desafio (WHO, 2023).

Morel (2006) destaca que o uso do termo "negligenciadas" para classificar essas doenças representa uma ruptura com o paradigma anterior, que as restringia ao rótulo de "doenças tropicais". Essa visão, que segundo ele é herdada do colonialismo, atribuía suas causas principalmente a fatores geográficos, ignorando os determinantes sociais e econômicos que perpetuam essas enfermidades. A mudança de terminologia representa uma compreensão mais crítica e abrangente, essencial para enfrentar os desafios complexos que essas doenças impõem. (Morel, 2006).

Kenneth S. Warren figura como um importante precursor do emprego de tal conceito, já que empossado do cargo de Diretor de Ciências da Saúde na Fundação Rockefeller, em 1977, criou o programa intitulado “*The Great Neglected Diseases of Mankind*”. Por meio dessa iniciativa, não apenas canalizou recursos da fundação, mas também mobilizou a comunidade científica para levar aos países menos desenvolvidos os avanços da biologia molecular promovendo o enfrentamento de doenças vinham sendo historicamente negligenciadas (Keating, 2014).

Essa abordagem começa a ganhar mais destaque a partir de sua consolidação pela agenda global da Organização das Nações Unidas (ONU), quando, em 2001, a OMS publica um relatório denominado “Macroeconomia e Saúde”. Neste relatório, as doenças foram classificadas em três diferentes tipos: Doenças Globais (Tipo I), Doenças Negligenciadas (Tipo II) e Doenças Mais Negligenciadas (Tipo III). Embora este tenha representado um avanço significativo, pois, no documento, os autores evidenciaram o importante papel da saúde para o desenvolvimento econômico e social, as ações da agência global como um todo ainda revelavam uma perspectiva restrita dessas doenças, tratando-as apenas como resultado da falta de desenvolvimento e não com seu duplo viés de consequência e causa (Morel, 2011).

Para além de doenças que assolam os países de acentuada pobreza e desigualdade, as doenças negligenciadas devem ser encaradas como “promotoras de pobreza”, pois são simultaneamente: consequência da pobreza e das iniquidades enfrentadas pelas populações vulneráveis; e uma importante causa de vulnerabilização dessas comunidades (Hotez *et al.*, 2008; Brasil, 2010; Morel, 2011; Araújo, Moreira e Aguiar, 2013; Morel, 2022).

Não se pode ignorar que as doenças tropicais negligenciadas têm uma relação direta não apenas com a pobreza, mas também com a desigualdade, uma vez que a concentração de riqueza em uma parcela pequena da sociedade gera profundas iniquidades ambientais e de saúde. O Brasil, por exemplo, é classificado pelo Banco Mundial um país de renda média-

alta⁸, mas figura entre os mais desiguais⁹ do planeta. Isso demonstra que sua crescente economia não reflete em um desenvolvimento sustentável e inclusivo, condenando grande parte de sua população a um precário acesso à saúde e a uma alta exposição aos riscos de contaminação, resultando ao país um percentual desproporcional da carga de DNTs da América Latina e Caribe, especialmente das doenças: esquistossomose (96%), leishmaniose visceral (93%), hanseníase (92%) e leptospirose (86%) (Hotez e Fujiwara, 2014).

Neste contexto, fica claro que as DNTs estão intimamente relacionadas à vulnerabilidade das populações, como demonstra um levantamento realizado pelo Ministério da Saúde, que analisou os padrões e tendências espaciais e temporais dessas doenças no país, comparando a taxa de detecção de casos de DNTs com as faixas do Índice de Vulnerabilidade Social (IVS)¹⁰ (Brasil, p.99 – 139, 2018). Estes dados correlacionam-se com os determinantes sociais da saúde e, portanto, ao “acesso à cidade”, já que essas populações estão localizadas em áreas onde a urbanização ocorreu de forma desordenada e sem infraestrutura, ou seja, regiões periféricas onde o grau de risco é mais elevado. Estas regiões estão predominantemente localizadas em áreas próximas a cursos d’água, com falta de saneamento e coleta de lixo, tornando-se favoráveis à proliferação dos principais vetores de doenças negligenciadas (Hotez *et al.*, 2008; Mendonça, Souza e Dutra, 2009; Acselrad, Mello e Bezerra, 2009; Böhm *et al.*, 2016)).

Apesar do alarmante cenário global, no qual as DTNs são responsáveis por quase dois terços das mortes no mundo, persiste um profundo abismo entre a demanda por medicamentos e outros insumos necessários para seu combate e a produção efetiva pelo Complexo Econômico-Industrial da Saúde. Entre 2012 e 2018, apenas 3,1% dos medicamentos desenvolvidos foram direcionados ao enfrentamento das DTNs, evidenciando a negligência

⁸ Segundo o Banco Mundial, “economias de renda média alta são aquelas em que o Atlas GNI per capita de 2023 estava entre \$4.516 e \$14.005”, disponível em <https://data.worldbank.org/?locations=BR-XT>

⁹ O Brasil está entre os dez países mais desiguais do mundo, atualmente (dados mais recentes de 2022) ocupa a sétima posição desta lista, conforme informações do Banco Mundial, disponível em <https://datos.bancomundial.org/indicador/SI.POV.GINI?locations=TD> & most recent_value_desc=true&view=map.

¹⁰ Segundo o IPEA (2018) “A vulnerabilidade social expressa no IVS decorre da seleção de dezesseis indicadores da plataforma ADH e está organizada em três dimensões: i) infraestrutura urbana; ii) capital humano; e iii) renda e trabalho (quadro 1). Quanto mais alto o IVS de um território, maior é sua vulnerabilidade social e, portanto, maior a precariedade das condições de vida de sua população. Assim, na régua do IVS, inversamente ao que se observa no IDHM, quanto mais próximo de um está o índice, piores são as condições de vida da população daquele território, ao passo que valores próximos a zero denotam baixa ou inexistente vulnerabilidade social” (IPEA, p.7, 2018).

histórica e estrutural em relação às populações mais afetadas por essas doenças (Costa, 2013; Ferreira e Andricopulo, 2019; Paes-Sousa, Buss e Barreto, 2021).

Por isso, iniciativas internacionais são criadas para o combate destas doenças, como por exemplo, em 2003, o *Drugs for Neglected Diseases Initiative* (DNDi) coordenado pelo Médicos Sem Fronteiras (MSF- *Médecins San Frontières*) em parceria com: “o Instituto Pasteur de Paris, a Fundação Oswaldo Cruz do Brasil, o Instituto de Pesquisas Médicas do Quênia (KEMRI), o Conselho para Pesquisas Médicas da Índia (ICMR) e o Ministério da Saúde da Malásia” (Morel, p.1, 2011).

Além disso, as doenças tropicais negligenciadas (DTNs) começaram a fazer parte das metas globais de saúde com a adoção dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) em 2015, na Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável. Especificamente, estão positivadas na Meta 3.3 do ODS 3, que visa "acabar com as epidemias de AIDS, tuberculose, malária e outras doenças tropicais negligenciadas" até 2030. Mas também se conectam a outros ODS diante do seu caráter sistêmico (ONU, 2023).

2.4 O desenvolvimento sustentável por meio da inovação em saúde

A inauguração dos 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável, dada pela Agenda 2030 da ONU, é um importante avanço para o enfrentamento das injustiças sociais e ambientais que assolam o mundo, pois tem como objetivo traçar “um plano de ação para as pessoas, para o planeta e para a prosperidade” (ONU, p.1, 2015). Com essa iniciativa, os países ganham flexibilidade e autonomia para implementar soluções adaptadas às peculiaridades de seus territórios e regiões, alinhando-se de maneira orgânica às metas globais propostas pela agenda (Abrahão, 2023).

Para compreender a definição de desenvolvimento sustentável, é fundamental destacar que a insustentabilidade das práticas econômicas vigentes já era debatida por cientistas desde a década de 1960, que alertavam sobre o iminente colapso do modelo de desenvolvimento devido à esgotabilidade dos recursos naturais. Em 1972, o Clube de Roma publicou o relatório intitulado *Os Limites do Crescimento*, que, apesar de ter sido amplamente criticado por sugerir crescimento zero enquanto países em desenvolvimento ainda não haviam alcançado condições mínimas de dignidade para suas populações, desempenhou um papel crucial como alerta. Sua publicação influenciou as discussões globais e marcou a histórica Conferência de Estocolmo, realizada no mesmo ano (Abrahão, 2023).

O relatório “Nosso Futuro Comum” ficou amplamente reconhecido por propor uma definição de desenvolvimento sustentável que contemplasse as diversas correntes que emergiam, contribuindo para uma estratégia a nível mundial. Segundo os autores, o desenvolvimento sustentável deve priorizar o atendimento das necessidades humanas básicas, iniciando-se pela população em maior vulnerabilidade, que não têm acesso efetivo a elas, sem esquecer das futuras gerações, que não podem ser desconsideradas em favor do presente (Brundtland, 1987).

Cavalcanti (2012), propôs que o enfrentamento da problemática deve passar por mudanças no sistema econômico vigente e que os limites dos meios de suporte à vida devem ser encarados como limites à nossa própria existência. Por isso devemos diferenciar o crescimento (visto como aumento quantitativo), do desenvolvimento (melhoria qualitativa no bem-estar da sociedade). Por fim, sugere a sustentabilidade ótima, onde é necessário compreender até onde poderemos chegar sem ultrapassar os limites da natureza e promover o bem-estar social.

Já Amartya Sen (1999) sugere a liberdade como o principal elemento do desenvolvimento, ou seja, fator fundamental para a sobrevivência humana com qualidade. Neste contexto, o desenvolvimento será operado pela promoção dos diferentes tipos de liberdade, que estão interrelacionadas e favorecem umas às outras. Para esse autor, a liberdade é para além de um elemento instrumental, um elemento constitutivo do desenvolvimento, ou seja, não é possível desenvolvimento sem liberdades políticas, econômicas, de oportunidades sociais ou de segurança. O autor não ignora o papel do mercado e do crescimento econômico como ferramenta para realizar o desenvolvimento, mas também ressalta que o estado, através do custeio público tem um papel fundamental, fortalecido pelos diferentes agentes sociais em uma atuação conjunta (Sen, p.51-71, 1999).

Dito isso, é necessário dar enfoque à saúde como um problema central do desenvolvimento sustentável, pois ela permeia todas as dimensões relacionadas à melhoria da qualidade de vida das populações. Para alcançar a efetividade na promoção de políticas integrais que reduzam as desigualdades, é fundamental abordar os macrodeterminantes em saúde, que reproduzem efeitos nas condições de trabalho, habitação, acesso a serviços, inclusão social, aspectos ambientais, culturais e na promoção de solidariedade (Buss e Filho, 2007).

Intervenções nos diversos níveis dos determinantes sociais da saúde devem ser concentradas na redução das desigualdades associadas à estratificação social, ou seja, exigem uma abordagem intersetorial coordenada, envolvendo diferentes esferas da administração

pública com políticas transversais mais amplas. Tais medidas devem promover o fortalecimento da coesão social, fortalecer o 'capital social' em comunidades vulneráveis e incentivar a participação social no planejamento e na execução de políticas e programas (Buss e Filho, 2007).

Por outro, a saúde também impulsiona o crescimento econômico, gerando empregos, renda e fortalecendo a economia, por isso, sua promoção não apenas garante direitos básicos e justiça social, mas também se torna um elemento estratégico em projetos de desenvolvimento que integram aspectos econômicos, tecnológicos e territoriais. A saúde é, portanto, essencial para uma visão integrada de progresso nacional (Costa, 2013).

Neste sentido assevera Paes-Sousa, Buss e Barreto, 2021:

“Saúde e desenvolvimento são questões profundamente inter-relacionadas: sem uma população saudável, uma sociedade dificilmente alcançará o desenvolvimento, assim como será um paradoxo incompreensível se uma sociedade não incluir a saúde de sua população entre os principais objetivos de seu desenvolvimento” (tradução da autora) (Paes-Sousa, Buss e Barreto, p. 141, 2021).

Para enfrentar o que Mahoney e Morel (2006) definem como "falhas na saúde", é essencial adotar uma abordagem integrada que reconheça e atue sobre três dimensões principais: falhas científicas, falhas de mercado e falhas nos sistemas de saúde pública. As falhas científicas ocorrem quando não há conhecimento suficiente para criar ferramentas ou mecanismos capazes de solucionar problemas de saúde. Para enfrentá-las, é necessário ampliar o investimento em pesquisa básica e aplicada. As falhas de mercado surgem quando os altos custos de vacinas, medicamentos ou intervenções limitam o acesso das populações mais pobres, exigindo soluções de produção mais eficientes que reduzam os custos e ampliem o alcance das tecnologias em saúde. Por outro lado, as falhas nos sistemas de saúde pública refletem a ausência de governança eficaz, prioridades claras ou capacidade administrativa para implementar políticas e ações mesmo diante de soluções tecnológicas disponíveis (Mahoney e Morel, 2006).

Para os autores, a inovação em saúde desempenha um papel crucial na superação das falhas nos sistemas de saúde, em conjunto com melhorias estruturais e políticas públicas. Os autores propõem um Sistema Global de Inovação em Saúde baseado em seis pilares fundamentais. O primeiro é a ampliação dos sistemas nacionais de saúde, com a criação de mercados privados domésticos para produtos de saúde, fomentando um ambiente propício à inovação local e ao investimento no setor. O segundo é a capacitação em fabricação de produtos de saúde, reduzindo a dependência de importações e fortalecendo a autonomia nacional. O terceiro destaca a importância de um sistema regulatório eficiente para

medicamentos e vacinas, assegurando que os produtos sejam seguros e eficazes. O quarto componente é um sistema de propriedade intelectual equilibrado, que garanta o acesso às inovações por populações vulneráveis, ao mesmo tempo que proteja os direitos de inventores. O quinto pilar trata do fortalecimento da pesquisa e desenvolvimento nos setores público e privado, promovendo a transformação de descobertas científicas em soluções práticas. Por fim, o sexto elemento aborda o estabelecimento de sistemas internacionais de comércio para produtos de saúde, com destaque para fundos globais que ampliem o acesso a medicamentos e vacinas em países de baixa e média renda. Esses pilares interagem para formar um ecossistema global de inovação que não apenas soluciona desafios locais, mas também melhora a capacidade mundial de resposta a epidemias e doenças negligenciadas (Mahoney e Morel, 2006).

A necessidade de promover a intersetorialidade na saúde marca o início da Era das Parcerias, caracterizada por iniciativas que combinam recursos e conhecimentos de diferentes setores para enfrentar desafios globais. Essa abordagem promove a colaboração entre o setor público, a academia, empresas farmacêuticas e instituições sem fins lucrativos, consolidando as chamadas parcerias público-privadas para o desenvolvimento de produtos (PDPs). Nesse contexto, as empresas desempenham um papel central na inovação, já que novas tecnologias têm poucas chances de alcançar o mercado sem o patrocínio ou a parceria do setor privado. Por outro lado, o setor público é indispensável para estabelecer as bases regulatórias, oferecer financiamento de longo prazo e criar incentivos econômicos que viabilizem avanços tecnológicos e assegurem o acesso às inovações (Mahoney e Morel, 2006).

Costa (2013), por sua vez, problematiza a influência da globalização no processo de inovação, segundo a autora “a concentração de mercado no segmento farmacêutico encontra-se adstrito a dez grandes empresas que, no total de suas vendas, somaram quase a metade de todo o mercado farmacêutico mundial em 2010” (Costa, p.56, 2013). Este cenário ilustra como o fluxo global de conhecimento e tecnologias impactam a capacidade dos países em desenvolver a autonomia para inovações locais, particularmente nas áreas de saúde e biotecnologia.

Essa perspectiva contribui para a discussão apontada por um estudo de Braz *et al.* (2021), que conclui a existência de disparidade significativa entre a produção científica nacional e a infraestrutura disponível no país para apoiar essas pesquisas, especialmente em relação à biotecnologia. Apesar de ser um dos líderes mundiais em publicações acadêmicas, o país ocupa a 66ª posição global na produção de reagentes e equipamentos científicos essenciais, o que o torna altamente dependente de importações. Essa dependência

compromete a capacidade de inovação tecnológica e limita o desenvolvimento de soluções locais, como vacinas e tecnologia diagnósticos. A falta de investimentos adequados, agravada pela fragilidade econômica e pela alta taxa de câmbio, dificulta ainda mais o progresso nesse campo. Dessa forma, é urgente um aumento no financiamento interno para estimular o empreendedorismo em biotecnologia, promover a integração entre academia e indústria e criar um ambiente propício para o desenvolvimento de soluções nacionais, fortalecendo tanto a autonomia científica quanto a competitividade econômica do Brasil (Braz *et al.*, 2021).

O Complexo Econômico-Industrial da Saúde (CEIS), que inclui a produção de biofármacos, vacinas, equipamentos médicos e reagentes diagnósticos, desempenha um papel estratégico, não apenas na garantia da saúde como direito social, mas também na geração de emprego, renda e na inserção competitiva do país no mercado internacional. A dependência externa de insumos de alta complexidade tecnológica, a baixa capacidade inovativa da indústria nacional e a concentração do mercado farmacêutico em grandes corporações globais gera a vulnerabilidade do Sistema Único de Saúde (SUS) (Costa, 2013).

Por isso, o fortalecimento de sistemas territoriais de inovação é essencial para superar as limitações estruturais e ampliar a capacidade produtiva em áreas estratégicas. A compreensão do território como um espaço dinâmico e integrado permite considerar as especificidades regionais, otimizando os recursos disponíveis para promover soluções inovadoras que atendam às necessidades locais. Iniciativas como o fortalecimento de laboratórios públicos, a exemplo da Fiocruz e do Instituto Butantan, são exemplos de como a territorialidade pode ser articulada para desenvolver insumos estratégicos e gerar impactos positivos tanto na saúde pública quanto na economia local (Costa, 2013).

A articulação entre setores público, privado e acadêmico no âmbito regional potencializa a transformação dos sistemas de saúde, ao mesmo tempo em que fortalece a soberania nacional no enfrentamento das desigualdades sociais e econômicas. Portanto, o investimento em inovação local representa não apenas uma estratégia para o desenvolvimento sustentável, mas também um passo essencial para garantir a autonomia do sistema nacional de saúde e a melhoria das condições de vida das populações locais (Costa, 2013).

2.5 O vírus dengue

A Dengue é transmitida por mosquitos, ou seja, é um Arbovírus (grupo taxonômico que têm artrópodes como vetores), denominado DENV, um vírus pertencente à família

Flaviviridae, especificamente ao gênero *Flavivírus*, que se destaca por sua importância epidemiológica, já que além do DENV, integram o gênero os vírus: ZIKV (Zika vírus), WNV (vírus do Nilo Ocidental), YFV (vírus da febre amarela) (Harapan *et al.*, 2020). Atualmente, apresenta quatro importantes tipos antigênicos distintos, que possuem uma homologia de 60-75% em suas sequências nucleotídicas, quais sejam: DENV1, DENV2, DENV3 e DENV4 (Fahimi *et al.*, 2018).

A transmissão dos vírus DENVs ocorre por fêmeas infectadas do mosquito do gênero *Aedes*, em sua maioria *Aedes aegypti*, mas *Aedes albopictus* e *Aedes polynesiensis* também podem atuar como vetores. Ao picarem o hospedeiro, os mosquitos introduzem o vírus na corrente sanguínea, que irá usar do maquinário do hospedeiro para sua replicação (Nanaware *et al.*, 2021). A forma madura do vírus é uma partícula esférica envelopada, que tem aproximadamente 50 nanômetros, constituída por três proteínas estruturais (Figura 1): Envelope (E), membrana (M) e capsídeo (C) (Lindenbach e Rice, 2003; Harapan *et al.*, 2020).

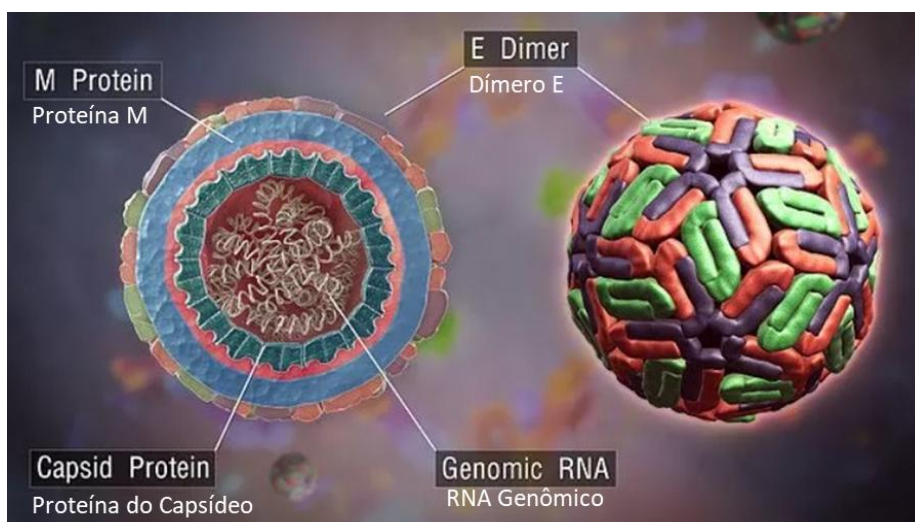


Figura 1: ANIMAÇÃO MÉDICA 3D DE UM VÍRUS DA DENGUE. A animação representa a estrutura tridimensional do vírus da dengue, na imagem do lado esquerdo temos a visão externa da estrutura, do lado direito uma seção transversal, mostrando sua composição interna e elementos estruturais.

Fonte: Girish Khera, Scientific Animations, 2016. Tradução da autora.

A glicoproteína de envelope (E), que reveste o vírus, é essencial para a replicação viral, pois ela é responsável pela ligação e fusão com a membrana celular, sendo dividida em três domínios (I, II e III). O principal é o EDIII, pois é o responsável pela função descrita, fazendo dele o principal alvo de anticorpos neutralizantes (Modis *et al.*, 2004; Guzman *et al.*, 2016; Neufeldt *et al.*, 2017; Harapan *et al.*, 2020). Ao ligar-se a receptores específicos na

membrana da célula hospedeira, o vírus sofre o processo de endocitose intermediada por clatrina, sendo transportado pelo citoplasma através dos endossomos, onde ocorre acidificação progressiva e a redução do pH, que induz mudanças conformacionais na proteína E. Essas alterações estruturais promovem a fusão entre a membrana viral e a do endossomo, permitindo que o nucleocapsídeo contendo o RNA seja liberado no citoplasma. O RNA viral então, é atraído ao maquinário celular, onde, no retículo endoplasmático, a tradução do genoma produz proteínas que levam à sua replicação e a montagem de novas partículas virais (Lindenbach e Rice, 2003; Cruz-Oliveira *et al.*, 2015; Screaton *et al.*, 2015; Roy e Bhattacharjee, 2021).

O genoma da dengue é formado por um RNA fita simples de sentido positivo, ou seja, serve como mRNA para a tradução direta de proteínas virais. Ele contém 11 kilobases(kb) de tamanho aproximadamente e codificada dez proteínas, as três estruturais citadas anteriormente (Envelope (E), membrana (M) e capsídeo (C)) e outras sete não estruturais (em inglês nonstructural protein (NS) NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5 (Lindenbach e Rice, 2003; Guzman *et al.*, 2016).

O RNA do DENV contém uma única fase aberta de leitura (*open reading frame* - ORF) flanqueada por regiões não codificantes (*non-coding regions* - NCRs) nas extremidades 5' e 3'. Durante a tradução, o genoma codifica uma poliproteína que, por meio de clivagens realizadas por peptidases e proteases tanto da célula hospedeira quanto do próprio vírus, é processada nas dez proteínas funcionais mencionadas (Lindenbach e Rice, 2003). Essas proteínas desempenham múltiplas funções essenciais, já que o tamanho limitado do genoma viral exige a maximização da capacidade de codificação dos genes (Clyde *et al.*, 2006). A tradução do genoma é feita da seguinte forma: 5'NCR-C-prM-E-NS1-NS2A-NS2B-NS3-NS4A-NS4B-NS5-3'NCR (Figura 2).

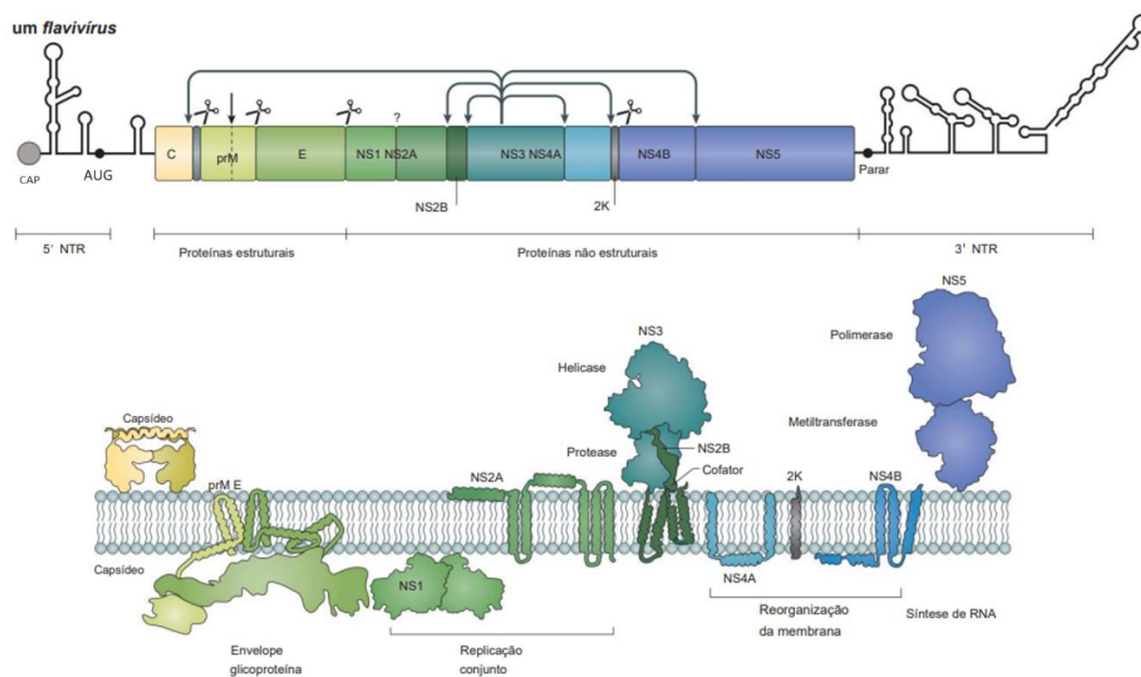


Figura 2: DESENHO ESQUEMÁTICO DA TRADUÇÃO DO GENOMA A representação esquemática demonstra como funciona a tradução dos *flavivírus*, gênero de vírus ao qual pertence o DENV. Acima está sequência das regiões não codificantes e codificantes, abaixo, os pontos de clivagem e formação das proteínas estruturais e não estruturais. Fonte: NEUFELDT et al., 2018. Tradução da autora.

A clivagem da poliproteína ocorre em duas etapas principais, mediadas por proteases virais e celulares. A peptidase de sinal da célula hospedeira realiza clivagens no retículo endoplasmático nas junções entre as proteínas estruturais (C-prM, prM-E) e em algumas proteínas não estruturais (E-NS1 e NS4A-NS4B). Já a protease viral NS2B-NS3, uma serina protease, é responsável pelas clivagens entre as proteínas não estruturais (NS2A-NS2B, NS2B-NS3, NS3-NS4A, NS4A-NS4B e NS4B-NS5). Essas clivagens liberam proteínas essenciais para a replicação do RNA viral, a montagem do vírion e a evasão da resposta imunológica do hospedeiro (Lindenbach e Rice, 2003).

Depois de clivadas, as proteínas não estruturais formam um complexo de replicação do RNA, que gera uma fita de polaridade oposta (negativa) e serve como matriz para a produção de novas fitas de polaridade positiva. A formação do nucleocapsídeo é composta por múltiplas cópias da proteína C associadas ao RNA genômico, que é então envelopado por porções da membrana do retículo endoplasmático contendo as proteínas prM e E, resultando na formação de novos vírions (Nanaware et al., 2021). A maturação dessas partículas ocorre ao longo da via secretora e envolve a clivagem da proteína prM pela furina (que gera a proteína M), bem como causa alterações conformacionais na proteína do envelope (induzidas por mudanças no pH enquanto as partículas são transportadas pelo complexo de Golgi).

Finalmente, os vírions são secretados para o espaço extracelular por meio da exocitose, permitindo a infecção de novas células. Durante o período de viremia, o vírus DENV pode ser transmitido a um mosquito não infectado quando esta pica o hospedeiro, completando, assim, seu ciclo de vida (Lindenbach e Rice, 2003; Harapan et al., 2020; Roy & Bhattacharjee, 2021).

Importa ressaltar que a proteína NS2A atua na replicação do RNA viral, coordenando a mudança entre empacotamento e replicação. Ao passo que a proteína NS2B age como cofator para a proteína NS3, associando-se a ela para formar o complexo de protease DENV, sendo um importante cofator na ativação estrutural da serina protease DENV de NS3 (Guzman *et al.*, 2016; Harapan *et al.*, 2020). A NS3 é uma proteína multifuncional com domínios catalíticos e atividade enzimática, envolvida na clivagem da poliproteína DENV e na replicação do RNA. (Neufeldt *et al.*, 2017; Norazharuddin e Lai, 2018; Guzman *et al.*, 2016). As proteínas NS4A e NS4B têm diferentes funções, a primeira é importante para a formação das vesículas de replicação, enquanto a última está relacionada com a supressão da sinalização de IFN β e IFN γ (Norazharuddin e Lai, 2018; Guzman et al., 2016). Por fim, a proteína NS5 é fundamental para a síntese de RNA e atua bloqueando o sistema IFN (El Sahili e Lescar, 2017; Guzman *et al.*, 2016).

Dentre as proteínas produzidas pelo vírus, a EDIII se destaca para a aplicação em imunoensaios, já que estudos demonstram que esta proteína tem uma alta especificidade e estabilidade estrutural. Diferentemente dos domínios I e II, que apresentam alta reatividade cruzada com outros flavivírus, o EDIII contém epítomos conformacionais altamente específicos para cada sorotipo da dengue, reduzindo significativamente o risco de resultados falso-positivos em áreas endêmicas para múltiplos flavivírus (Zahao *et al.*, 2014; Fahimi *et al.*, 2018). Além disso, sua estrutura imunoglobulina-like permite o correto dobramento quando produzido de forma recombinante, garantindo a preservação dos epítomos imunologicamente relevantes (Kuhn, 2002). Essa especificidade, aliada à facilidade de produção recombinante em sistemas bacterianos como *Escherichia coli*, torna o EDIII um candidato promissor para o desenvolvimento de testes sorológicos mais precisos.

3 .METODOLOGIA

Dada a importância imunológica da proteína E, especialmente de seu último domínio (EDIII), que é o principal alvo de anticorpos neutralizantes (Modis et al., 2004; Guzman et al., 2016; Neufeldt et al., 2017; Harapan et al., 2020), o presente estudo teve como objetivo

estabelecer e aprimorar um protocolo de produção e purificação de uma proteína quimérica da dengue, a EDIII-Tetravalente, um insumo crucial para o diagnóstico, controle e prevenção da doença.

3.1 Plasmídeo de expressão

O vetor de expressão utilizado para expressar a proteína EDIII-Tetravalente foi o pET-28a (Novagen), que além de expressá-la em *E. coli*, fusiona a proteína com a cauda His tag na porção N-terminal. Neste sistema, o gene de interesse é clonado através de um promotor reconhecido pela RNA polimerase do bacteriófago T7, permitindo rápida expressão e grande quantidade da proteína de interesse. Desta maneira, para que ocorra a expressão proteica, é necessário que a bactéria usada como hospedeira produza a RNA polimerase do fago T7. Neste caso, a enzima está inserida na linhagem *E.coli* BL21 (λ DE3), que codifica para a RNA polimerase T7 sob o controle transcricional de um promotor lac. Desse modo, o sistema poderá ser induzido na presença de IPTG, após a indução ocorre a transcrição e a tradução da RNA polimerase do fago T7 que uma vez produzida passará a reconhecer promotores T7, e em sequência apenas os genes clonados serão transcritos.

3.2 Preparo de células quimiocompetentes e transformação bacteriana

As células de *E. coli* BL21 (λ DE3) foram previamente cultivadas em placas de Petri com meio LA, e as colônias mais isoladas foram selecionadas para pré-inoculação em 5 mL de meio LB. O pré-inóculo foi incubado por aproximadamente 16 horas a 37°C (overnight) sob agitação. Após o período de incubação, o pré-inóculo foi transferido para um frasco Erlenmeyer de 1L contendo 100 mL de meio LB e incubado a 37°C até atingir uma densidade óptica adequada. Em seguida, a cultura foi transferida para tubos Falcon, que foram mantidos sobre o gelo por 30 minutos. A solução foi centrifugada por 10 minutos a 2.000 g e 4°C. Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado e o pellet de células foi ressuspensão em 15 mL de solução estéril e gelada de CaCl₂ 0,1 M. O material foi mantido sobre o gelo por 30 minutos e, em seguida, submetido a uma nova centrifugação por 10 minutos, a 2.000 g e 4°C. O sobrenadante foi descartado e o precipitado foi ressuspensão em 2 mL de solução gelada de CaCl₂ 0,1 M contendo 15% de glicerol (v/v). O material foi então separado em alíquotas de 200 μ L e armazenado em freezer a -80°C.

Com as células prontas e armazenadas, a transformação foi realizada. Para isso, uma alíquota de 200 μ L de células foi retirada do freezer a -80°C e mantida sobre o gelo por 30

minutos. Após esse período, foram adicionados 5 μ L do DNA plasmidial que expressa a proteína EDIII-Tetravalente, mantendo o material sobre o gelo por mais 30 minutos. Em seguida, foi realizado o choque térmico, colocando a mistura em banho-maria a 42°C por 2 minutos. Após o choque térmico, as células foram imediatamente ressuspensas em 1 mL de meio LB. A suspensão foi incubada por 40 minutos a 37°C para recuperação celular. Por fim, o material foi plaqueado em meio LA contendo o antibiótico canamicina (Km) a 100 μ g/mL para o crescimento das células transformadas.

3.3 Expressão, purificação e redobramento da proteína EDIII-Tetravalente

Para a expressão da proteína EDIII-Tetravalente, foram selecionadas três colônias de *E. coli* contendo o vetor de expressão de interesse. Essas colônias foram pré-inoculadas em 10 mL de meio LB com canamicina (50 μ g/mL) e incubadas por 16 horas a 37°C sob agitação. Após esse período, o pré-inóculo foi transferido para o cultivo em larga escala, realizado em um frasco Erlenmeyer autoclavado contendo 300 mL de LB com antibiótico. A cultura foi incubada a 37°C sob agitação até que a densidade óptica a 600 nm (D.O.600) atingisse o valor ideal. Em seguida, foi adicionado o indutor IPTG, a uma concentração final de 0,3 mM, e a cultura foi mantida por 4 horas a 37°C, sob agitação. Após esse período, o cultivo celular foi centrifugado a 5.000 rpm, e o sobrenadante foi descartado. As células foram imediatamente armazenadas a -20°C até o momento da purificação. Para verificar a expressão proteica, uma alíquota foi retirada e submetida à eletroforese em gel de poliacrilamida sob condições desnaturantes (SDS-PAGE).

Para a purificação da proteína alvo, o extrato celular correspondente a 300 mL de cultivo foi ressuspensionado em tampão de sonicação, colocado em banho de gelo e submetido à lise celular no sonicador ECO-SONICS. Após a sonicação, o extrato foi centrifugado, e o sobrenadante foi removido. O pellet contendo a proteína de interesse foi ressuspensionado em tampão de lavagem. Após remoção do sobrenadante, o pellet foi ressuspensionado em tampão de solubilização e homogeneizado no homogeneizador gangorra, seguido de nova centrifugação. A fração solúvel, livre de células, foi carregada em uma coluna Hi-Trap Chelating Ni²⁺ de 5 mL. A proteína EDIII-Tetravalente foi eluída da coluna com imidazol. Por fim, uma alíquota de cada fração foi submetida à análise por eletroforese (SDS-PAGE).

As frações com maiores concentrações de proteína foram agrupadas e submetidas ao procedimento de redobramento progressivo, utilizando diálise em uma membrana de celulose imersa em solução tampão

3.4 Dosagem de proteína

A quantificação das proteínas purificadas foi feita pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976), em microplacas de poliestireno com 96 poços (OLEN), onde foram adicionados, em cada poço, 10µL de amostra e 150µL do Reagente de Bradford (Sigma), em sistema de duplicada, com água pura usada para controle branco. Foi construída uma curva padrão com albumina bovina (BSA) em concentrações conhecidas de 0,625 a 10 µg/mL. As leituras de absorbância foram realizadas em um leitor de placas TECAN, com largura de banda de 9 nm e 25 flashes, a uma frequência de excitação de 600 nm.

3.5 Eletroforese em gel de poliacrilamida sob condição desnaturante (sds-page)

As análises eletroforéticas de proteínas em gel de poliacrilamida sob condição desnaturante foram realizadas conforme descrito por LAEMMLI (1970). O sistema utilizado foi da marca BioRad, com a seguinte composição do tampão (30 g/L Tris-base; 140 g/L glicina; 10 g/L SDS). Antes de serem analisadas por SDS-PAGE, as amostras foram misturadas com tampão de amostra contendo (2% SDS (m/v); 10% glicerol (v/v); 0,01% azul de bromofenol (v/v); 0,0625 M Tris-HCl pH 6,8), na hora do uso, adicionou-se 5% de β-mercaptoetanol (v/v) às amostras, que foram então aquecidas a 95 °C por 5 minutos. As eletroforeses foram conduzidas a 180-200V em tampão de corrida 1X, por aproximadamente 40-50 minutos. Em seguida, o gel foi corado com solução de azul de Coomassie e posteriormente descorado com uma solução descorante. A concentração de acrilamida/bis-acrilamida no gel de separação variou de acordo com o tamanho da massa molecular das proteínas que estavam sendo analisadas. As eletroforeses foram realizadas em sistema vertical, seguindo recomendação do fabricante (Biorad).

4 .RESULTADOS

Proteína produzidas por células eucarióticas, como é o caso da proteína de envelope do vírus da dengue realizada nos hospedeiros, nem sempre podem ser fielmente reproduzidas em células procarióticas, tendo em vista a simplicidade desses organismos se comparados aos primeiros. Estudos anteriores revelaram que a proteína EDIII, dos diferentes sorotipos da dengue, eram expressos por *E. coli* BL21 (λDE3) em forma de corpos de inclusão, ou seja, em conformação diferente e insolúveis. (SIMONELLI et al., 2013; TRIPATHI et al., 2008). Portanto, as poliproteínas quiméricas seguem essa mesma premissa, já que mantém as

características genéticas dos quatro sorotipos da dengue combinados para sua formação. (COMBE et al., 2017).

Conforme os métodos descritos no presente trabalho, foram realizados onze ensaios utilizando o plasmídeo sintético recombinante contendo sequência de DNA dos quatro sorotipos da dengue e uma calda His6, fusionados por meio do vetor pET28a, para expressão em células *E. coli* BL21 (λ DE3) da proteína EDIII-Tetravalente, sob indução do IPTG.

Como esperado, nos onze ensaios realizados, a proteína foi expressa em forma de corpos de inclusão da mesma forma como descrito para os antígenos individuais. Por isso foi aplicado a estratégia de promover a desnaturação e renaturação da proteína visando seu emprego nos testes ELISA, já que sua conformação estrutural nativa é crucial para promover a interação antigênica e solubilidade.

A desnaturação foi realizada por um agente caotrópico, usado em alta concentração nos tampões desnaturantes das primeiras etapas. Já o redobramento foi realizado por ciclos sucessivos de diálise, com a presença de um agente oxidante nos primeiros ciclos, o que promoveu a restauração da ponte dissulfeto nos resíduos de cisteínas estruturalmente importantes.

As análises das purificações em SDS-PAGE (FIGURA 3) foram cruciais para confirmar as características esperadas para a proteína sintetizada, como o tamanho aproximado, sua insolubilidade inicial (Sobrenadante 2), sua solubilização após a desnaturação (Pellet e Sobrenadante 3), bem como a concentração de imidazol necessária para sua eluição.

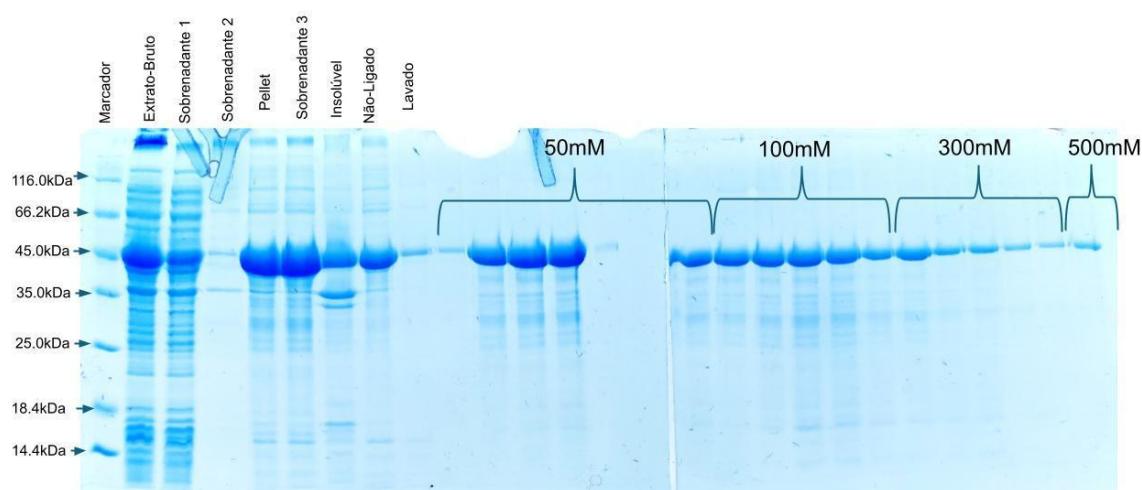


Figura 3: GEL DO PERFIL ELETROFORÉTICO. A figura traz o exemplo de um dos ensaios realizados para purificação da proteína EDIII-Tetravalente, demonstrando o perfil eletroforético obtido por meio de eletroforese desnaturante do tipo SDS-PAGE, realizada em um gel 15%. Os dados horizontais são os tamanhos em

kilodaltons expressados pelo marcador de proteínas (MW) aplicado na primeira coluna vertical. Horizontalmente temos as alíquotas separadas em cada etapa do protocolo e os gradientes de eluição da coluna (de 50mM, 100mM, 300mM e 500mM de imidazol). Fonte: Autora.

Com as análises também foi possível perceber a presença de uma grande quantidade de proteína na porção não-ligada à coluna, o que possivelmente indica uma saturação da Hi-Trap-Chelating-Ni² de 5mL. Além disso, se verifica a presença de possíveis contaminantes, já que as bandas foram marcadas com arraste, porém deduções mais precisas para gerar uma hipótese sobre este fenômeno ainda precisam ser elaboradas, mas este não foi um fator negativo para o desempenho das proteínas na aplicação em testes ELISA realizados por outros pesquisadores do grupo de pesquisa.

A otimização do rendimento foi bem-sucedida, pois, com algumas alterações no protocolo, foi possível aumentar o rendimento de aproximadamente 7-8 mg de proteína por litro de cultura para um valor máximo de 15,5 mg por litro de cultura. Além disso, houve uma significativa redução nos custos, uma vez que, atualmente, o custo médio de 1 mg da proteína recombinante EDIII-DENV3 no mercado é de \$1.500 , enquanto a produção em *E. coli*, além de ser de fácil manipulação, tem um custo de insumos estimado de R\$49,00 por miligrama.

Por fim, a proteína sintetizada EDIII-Tetravalente mostrou-se extremamente promissora. Ao contrário das proteínas EDIII-DENV1 e EDIII-DENV2, que precipitaram no processo de diálise (dados não mostrados), a EDIII-Tetravalente permaneceu estável. Quando utilizada em testes sorológicos experimentais, apresentou uma excelente capacidade de discriminação entre soro de pacientes negativos e casos positivos de dengue.

5 .CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo demonstrou a efetividade da implementação de um protocolo otimizado para a purificação da proteína quimérica EDIII-Tetravalente, desenvolvida pelo Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Paraná, Setor Litoral, no contexto do diagnóstico da dengue. A melhoria no rendimento da proteína e a significativa redução nos custos de produção não apenas contribuem para a autonomia tecnológica do Brasil, mas também estabelecem um marco na busca por soluções mais acessíveis e sustentáveis para o diagnóstico de doenças negligenciadas.

Os dados deste trabalho permitiram estabelecer um protocolo de purificação da proteína EDIII tetravalente a um custo estimado de insumo de R\$49,00 por mg e um rendimento de aproximadamente 15mg por litro de cultura. Se considerarmos que o custo

médio desta proteína no mercado internacional é de \$ 1.500 dólares americanos, este trabalho abre oportunidade para produção de kits de diagnóstico para dengue nacionais muito mais acessíveis. Além disso, dados produzidos por outros pesquisadores de nosso grupo indicam que a proteína produzida teve melhor performance que proteínas comerciais adquiridas de empresas estrangeiras .

A pesquisa promoveu uma inovação que tem potencial de transformar o panorama do diagnóstico da dengue, especialmente em regiões com recursos limitados. A estabilidade da proteína EDIII-Tetravalente, evidenciada nos testes sorológicos experimentais, reforça a sua viabilidade como ferramenta diagnóstica eficaz, capaz de discriminar de maneira precisa entre soro de pacientes negativos e casos positivos de dengue.

Além disso, a pesquisa culminou na transferência de inovação para uma empresa privada sem fins lucrativos, especializada em pesquisa de alta tecnologia voltada ao atendimento do SUS. Esse avanço fortalece o complexo econômico-industrial em saúde do Brasil, promovendo não apenas o desenvolvimento de soluções locais, mas também a geração de royalties para a universidade, contribuindo para a sustentabilidade financeira e a expansão da autonomia tecnológica do país. Essa transferência de tecnologia reflete uma visão territorial que almeja uma autonomia descentralizada, capaz de proporcionar soluções adaptadas às necessidades específicas das regiões afetadas pela dengue e outras doenças negligenciadas.

Por fim, ao alinhar inovação em saúde com a redução da dependência de insumos externos, esta pesquisa se insere como uma resposta urgente ao combate à dengue, uma doença de grande impacto no Brasil. As diretrizes geradas por esse protocolo não apenas enfrentam as desigualdades em saúde no país, mas também fortalecem a capacidade nacional em lidar com desafios sanitários, promovendo maior equidade no acesso a diagnósticos e tratamentos, e contribuindo para a construção de um sistema de saúde mais resiliente e autossustentável.

Desta forma, a otimização da produção da proteína recombinante EDIII-Tetravalente está alinhada com as diretrizes legais e políticas públicas realizadas pelo Brasil para promoção da de direitos consolidados na Constituição Federal, e o atendimento aos objetivos da Política Nacional de Ciência, Tecnologia e Inovação em Saúde. Além disso, põe em prática as Estratégia Nacional para o Desenvolvimento do Complexo Econômico-Industrial da Saúde, lançada pelo governo, que visa fortalecer a infraestrutura e a inovação na saúde, promovendo a produção de medicamentos e vacinas de forma sustentável e acessível. Internacionalmente está em sintonia com os compromissos globais da Agenda 2030 da ONU, especialmente o

Objetivo de Desenvolvimento Sustentável 3 (ODS 3), que busca garantir uma vida saudável e promover o bem-estar para todos.

6 .MEMORIAL DE INTERAÇÕES CULTURAIS HUMANÍSTICAS E PROJETO DE APRENDIZAGEM

As Interações Culturais e Humanísticas (ICHs) representam um eixo curricular essencial, que transcende os moldes tradicionais da formação universitária ao integrar conhecimentos técnicos e vivências subjetivas. As ICHs promovem experiências que estimulam a construção coletiva do saber, a interprofissionalidade e o resgate das dimensões afetivo-emocionais do aprendizado. Durante minha trajetória acadêmica, tive a oportunidade de participar de diversas ICHs, que contribuíram significativamente para minha formação humanística, técnica e pessoal.

Os ICHs cursados foram: Yoga e Meditação, que possibilitou a compreensão do corpo e da mente como uma unidade integrada, com práticas de respiração, relaxamento e atenção plena, que ensinaram a gestão emocional e o autocuidado; Fotografia, onde o desenvolvimento de habilidades técnicas e criativas para capturar imagens, para além de aprimorar o olhar para detalhes e composições, mostrou-se uma ferramenta importante para comunicação e documentação, especialmente em contextos de pesquisa e educação ambiental; Zoologia, que despertou um olhar mais sensível e detalhado sobre a biodiversidade, essencial para ampliar o entendimento sobre estruturas dos diversos grupos zoológicos; Emergências Climáticas, onde foi possível a reflexão crítica sobre as consequências das atividades humanas no aquecimento global, conectando conhecimentos teóricos à realidade ambiental e compreendendo os desafios globais e locais; Botânica, que ampliou meu entendimento sobre a diversidade vegetal e a identificação de espécies, crucial para consolidar minha formação em ciências ambientais; Taxonomia e Sistemática, onde desenvolvi uma compreensão mais aprofundada sobre a classificação e organização da biodiversidade, explorando métodos de identificação e nomenclatura de espécies; Ateliê de Cerâmica: Pedagogias da Terra Moldada, foi uma imersão criativa e cultural, explorando técnicas tradicionais de modelagem do barro e proporcionando o contato direto com os materiais e as práticas artesanais, evidenciando a importância da arte como expressão humana e ferramenta de autoconhecimento; Malabares, que exigiu coordenação, paciência e perseverança, essa ICH, além de trazer descontração, demonstrou como atividades lúdicas podem ser aliadas no desenvolvimento de habilidades motoras e na redução do estresse.

O Projeto de Aprendizagem (PA) representa uma oportunidade única para o estudante exercer autonomia na educação, permitindo-lhe construir sua trajetória de forma integrada. Nesse processo, os alunos são capacitados com técnicas científicas e metodológicas e desafiados a propor pesquisas que contribuam efetivamente para a sociedade.

Minha trajetória nesse processo foi bastante desafiadora no início, pois tive dificuldade em me identificar com os projetos que propus. Um exemplo foi o levantamento de crimes ambientais registrados em unidades de conservação do litoral do Paraná, que, apesar de relevante, não refletia minhas aspirações acadêmicas. Foi somente durante a etapa de orientação com o Prof. Dr. Luciano F. Huergo que encontrei o projeto que se tornou o foco do presente estudo.

Com este trabalho, busquei romper as fronteiras entre dois campos aparentemente distintos da pesquisa científica: integrar as ciências bioquímicas, exemplificadas pela produção de proteínas recombinantes, com abordagens de caráter mais humanístico, como a análise de injustiças ambientais e os princípios do desenvolvimento sustentável. Essa perspectiva, que une aspectos técnicos e sociais, revela-se fundamental para fomentar práticas transdisciplinares que promovam uma visão de mundo mais sustentável e integrada, onde ciência e sociedade caminhem juntas na resolução de desafios globais

Portanto, concluo que minhas experiências com as ICHs e os PAs foram fundamentais para desenvolver habilidades diversas e me preparar para os desafios acadêmicos e profissionais que pretendo enfrentar. Essas vivências reforçaram minha capacidade de unir conhecimentos técnicos e reflexões humanísticas em prol de um futuro mais equilibrado e sustentável.

REFERÊNCIAS

ABRAHÃO, C. M. S. Passo a passo em descompasso: Acerca da agenda para o desenvolvimento sustentável na perspectiva histórica e multiescalar. Litoral do Paraná: Território e perspectivas - Diálogos sobre os objetivos de desenvolvimento sustentável (ODS), V.6, Cap.1, p.14-49, Editora Ilustração Cruz Alta – Brasil, 2023.

ACSELRAD, H.; MELLO C.C.A.; BEZERRA G. N. O que é justiça ambiental. Garamond. Rio de Janeiro, 2009.

AGÊNCIA BRASIL. Brasil é país com mais casos de dengue no mundo, alerta OMS. 2024. Acesso em 05 de dezembro de 2024. Disponível em: <https://agenciabrasil.ebc.com.br/saude/noticia/2023-12/brasil-e-pais-com-mais-casos-de-dengue-no-mundo-mostra-dados-da-oms>

ARAÚJO, I. S.; MOREIRA, A. L.; AGUIAR, R. Doenças negligenciadas, comunicação negligenciada. Apontamentos para uma pauta política e de pesquisa. Revista Eletrônica de Comunicação, Informação & Inovação em Saúde, Rio de Janeiro, v. 6, n. 4, fev. 2013.

BBC NEWS BRASIL. Dengue: aumento de casos é atribuído a mudanças climáticas e urbanização desordenada. Disponível em: <https://www.bbc.com/portuguese/internacional-60304415>. Acesso em: 10 dez. 2024.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical biochemistry, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

BRASIL. Ministério da Saúde. Informes de Casos de Arboviroses. Dengue. 2024. Disponível em <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/a/aedes-aegypti/monitoramento-das-arboviroses>.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. SAÚDE BRASIL 2017. Uma análise da situação de saúde e os desafios para o alcance dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável. Brasília, DF, 2018

BUSS, P. M. e FILHO, A. P. A Saúde e seus Determinantes Sociais. PHYSIS: Rev. Saúde Coletiva, Rio de Janeiro, 17(1):77-93, 2007.

CÉSARE, A. Discurso sobre o colonialismo. Prefácio de Mário Andrade. Livraria Sá da Costa Editora. 1ª Edição. Lisboa, 1978.

CLYDE K.; KYLE, J.L., HARRIS E. Recent advances in deciphering viral and host determinants of dengue virus replication and pathogenesis. J Virol. 2006 Dec;80(23):11418-31. doi: 10.1128/JVI.01257-06. Epub 2006 Aug 23. PMID: 16928749; PMCID: PMC1642597.

Cruz-Oliveira C.; Freire, J. M., Conceição, T. M., HIGA, L. M., CASTANHO, M. A, DA POIAN, A.T. Receptors and routes of dengue virus entry into the host cells. FEMS Microbiol Rev. 2015 Mar;39(2):155-70. doi: 10.1093/femsre/fuu004. Epub 2014 Dec 22. PMID: 25725010.

EL SAHILI, A; LESCAR, J. Dengue virus non-structural protein 5. Viruses, v. 9, n. 4, p. 91, 2017.

FAHIMI, H.; MAOHAMMADIPOUR, M.; KASHANI, H. H.; PARVINI, F.; SADEGHIZADEH, M. Dengue viruses and promising envelope protein domain III-based vaccines. Applied Microbiology and Biotechnology 2018 102:7, v. 102, n. 7, p. 2977–2996, 22 fev. 2018.

FEDERAÇÃO DAS INDÚSTRIAS DO ESTADO DE MINAS GERAIS (FIEMG). Impactos Econômicos das Arboviroses. Gerência de Economia e Finanças Empresariais. Fevereiro, 2024.

FERREIRA, L. L. G.; ANDRICOPULO, A. D. Drugs and vaccines in the 21st century for neglected diseases. *The Lancet Infectious Diseases*. Volume 19, Issue 2, 2019, Pages 125-127.

GUZMAN, M. G; GUBLER, D. J.; IZQUIERDO, A.; MARTINEZ, E.; HALSTEAD, S. B. Dengue infection. *Nature Reviews Disease Primers*, v. 2, p. 1–26, 2016. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrdp201655>.

HARAPAN, H.; MICHIE, A.; SASMONO, R. T.; IMRIE, A. Dengue: A Minireview. *Viruses*. 2020 Jul 30;12(8):829. doi: 10.3390/v12080829. PMID: 32751561; PMCID: PMC7472303.

HOTEZ, P. J.; BOTTAZZI, M. E.; FRANCO-PAREDES, C.; AULT, S.K.; PERIAGO, M. R. The Neglected Tropical Diseases of Latin America and the Caribbean: A Review of Disease Burden and Distribution and a Roadmap for Control and Elimination. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, V. 2, Issue 9, e300, (2008).

HOTEZ, P. J.; FUJIWARA, R. T. Brazil's neglected tropical diseases: an overview and a report card. *Institut Pasteur, Elsevier, Microbes and Infection*, V.16, p. 601 a 606, 2014.

INSTITUTO DE PESQUISA ECONÔMICA APLICADA (IPEA). Ministério do Planejamento, Desenvolvimento e Gestão. A nova plataforma da vulnerabilidade social: primeiros resultados do índice de vulnerabilidade social para a série histórica da Pnad (2011-2015) e desagregações por sexo, cor e situação de domicílios. Relatório Institucional, Rio de Janeiro, 2018.

KEATING, C. Ken Warren and the Rockefeller Foundation's great neglected diseases network, 1978-1988: the transformation of tropical and global medicine. *PubMed Central (PMC)*, National Library of Medicine, *Mol Med*, 2014 doi: 10.2119/molmed.2014.00221.

KHERA, G., Scientific Animations, SAG Dengue-Virus, 2016. Disponível em: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:SAG_Dengue-Virus_160413_01.jpg#/media/File:SAG_Dengue-Virus_160413_01.jpg

KUHN R. J.; ZHANG W.; ROSSMANN M. G.; PLETNEV, S. V.; CORVER J.; LENCHES E.; JONES C. T.; MUKHOPADHYAY S.; CHIPMAN P. R.; STRAUSS E. G.; BAKER, T. S.; STRAUSS, J. H. Structure of dengue virus: implications for flavivirus organization, maturation, and fusion. *Cell*. 2002 Mar 8;108(5):717-25. doi: 10.1016/s0092-8674(02)00660-8. PMID: 11893341; PMCID: PMC4152842.

LAEMMLI, U, K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *nature*, v. 227, n. 5259, p. 680-685, 1970

LINDENBACH B.D.; RICE C.M. Molecular biology of flaviviruses. *Adv Virus Res*. 2003;59:23-61. doi: 10.1016/s0065-3527(03)59002-9. PMID: 14696326.

MAHONEY, R. T.; MOREL, C. M. A global health innovation system (GHIS). *Innovation Strategy Today, eJornal*, Volume 2, nº1, p.1-12, 2006.

METRÓPOLES. Dengue causou prejuízos de R\$ 28 bilhões ao Brasil somente este ano. Disponível em: <https://www.metropoles.com/brasil/dengue-causou-prejuizos-de-r-28-bilhoes-ao-brasil-somente-este-ano>. Acesso em: 10 dez. 2024.

MOREL, C. M. Inovação em saúde e doenças negligenciadas. Cadernos de Saúde Pública, Rio de Janeiro, v. 22, n. 8, p. 1522, ago. 2006.

MOREL, C. M. Promotoras da pobreza. Valor econômico, São Paulo, fev. 2011. p. 1-2. disponível em www.valor.com.br/arquivo/870307/promotoras-da-pobreza

MIRANDA, W. D.; SILVEIRA, F.; PAES-SOUSA, R. Epidemiologia, população e determinantes sociais e ambientais da saúde. Textos para Discussão nº 47. Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, 2020.

MODIS, Y.; OGATA, S.; CLEMENTS, D.; HARRISON, C. Structure of the dengue virus envelope protein after membrane fusion. Nature, v. 427, n. 6972, p. 313-319, 2004. DOI: [10.1038/nature02165](https://doi.org/10.1038/nature02165)

NANAWARE, N; BANERJEE, A.; BAGCHI, S. M.; MUKHERJEE, A. Dengue virus infection: a tale of viral exploitations and host responses. Viruses, v. 13, n. 10, p. 1967, 2021.

NEUFELDT, C. J.; CORTESE, M.; ACOSTA, E. G.; BARTENSCHLAGER, R. Rewiring cellular networks by members of the Flaviviridae family. Nature Reviews Microbiology, v. 16, n. 3, p. 125-142, 2018.

NORAZHARUDDIN, H.; LAI, N. S. Roles and prospects of dengue virus non-structural proteins as antiviral targets: an easy digest. The Malaysian journal of medical sciences: MJMS, v. 25, n. 5, p. 6, 2018.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS. Transformando Nosso Mundo: A Agenda 2030 para o Desenvolvimento Sustentável, 2015.

ORGANIZAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS - ONU NEWS - Perspectiva Global Reportagens Humanas. Brasil concentra 83% dos casos de dengue nas Américas. Acessado em 05 de dezembro de 2024. disponível em: <https://news.un.org/pt/story/2024/04/1829896#:~:text=Casos%20se%20espalhando%20de%20forma,casos%20e%2087%25%20das%20mortes>.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). Módulos de Princípios de Epidemiologia para o Controle de Enfermidades. Módulo 4: vigilância em saúde pública / Organização Pan-Americana da Saúde. Brasília : Organização Pan-Americana da Saúde ; Ministério da Saúde, 2010. 52 p.: il. 7 volumes.

PAES-SOUSA, R.; BUSS, P.M.; BARRETO, M.L. Reducing health inequalities in developing countries. In DETELS, R. et al (eds). Oxford Textbook of Global Public Health. 7th Edition. Oxford: Oxford University Press. (forthcoming in 2021).

PORTO, M.F.; PACHECO, T.; LEROY, J.P.. Injustiça ambiental e saúde no Brasil: o Mapa de Conflitos [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2013, 306 p. ISBN 978-85-7541-576-4. <https://doi.org/10.7476/9788575415764>

RIBEIRO, D. As Américas e a civilização. Estudos de antropologia da civilização. Editora civilização brasileira S.A, Rio de Janeiro, 1970.

ROSALES-RAMIREZ, R.; LUDERT, J. E. The dengue virus nonstructural protein 1 (NS1) is secreted from mosquito cells in association with the intracellular cholesterol transporter chaperone caveolin complex. *Journal of Virology*, v. 93, n. 4, p. 10.1128/jvi. 01985-18, 2019.

ROY, S. K; BHATTACHARJEE, S. Dengue virus: epidemiology, biology, and disease aetiology. *Canadian journal of microbiology*, v. 67, n. 10, p. 687-702, 2021.

SCREATON, G.; MONGKOLSAPAYA, J.; YACOUN, S.; ROBERTS, C. New insights into the immunopathology and control of dengue virus infection. *Nature Reviews Immunology*, v. 15, n. 12, p. 745-759, 2015.

TROUILLER, P.; OLLIARO, P.; TORREELE, E.; ORBINSKI, J.; LAING, R.; FORD, N. Drug development for neglected diseases: a deficient market and a public-health policy failure. *THE LANCET*, Vol 359, p . 2188 - 2194, 2002.

WORLD BANK GROUP. Gini index - Chad. DataBank. Disponível em https://datos.bancomundial.org/indicador/SI.POV.GINI?locations=TD&most_recent_value_d_esc=true&view=map.

WORLD BANK GROUP. Fact Sheet: An Adjustment to Global Poverty Lines. Disponível em <https://www.worldbank.org/en/news/factsheet/2022/05/02/fact-sheet-an-adjustment-to-global-poverty-lines#1>

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Dengue: Guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control by the World Health Organization (WHO). Dengue: Guidelines for Diagnosis, Treatment, Prevention and Control: New Edition, p. 23–55, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2022: Dengue and severe dengue. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue> . Acesso em: 06 de setembro de 2024.

ZHAO, H.; JIANG, T.; ZHOU, X. Z.; DENG, Y. Q.; LI, X. F.; CHEN, S. P.; ZHU, S. Y.; ZHOU, X.; QUIN, E. D.; QUIN, C. F.; Induction of Neutralizing Antibodies against Four Serotypes of Dengue Viruses by MixBiEDIII, a Tetravalent Dengue Vaccine. *PLOS ONE*, Published: January 21, 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086573>

ZICKER, F.; ALBUQUERQUE, P. C.; FONSECA, B. P. F. Doenças tropicais negligenciadas: uma agenda inacabada. Fundação Oswaldo Cruz, Textos para Discussão; nº 35, Rio de Janeiro, 2019.