

A EVOLUÇÃO DO VÍRUS CHIKUNGUNYA: DIVERSIDADE GENÔMICA E ESTRUTURA FILOGENÉTICA REVELAM ASSINATURAS ESPECÍFICAS ENTRE GENÓTIPOS

Vinicius Henrique Dias Postingel, Alex Martins Machado.

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, campus Três Lagoas, Mato Grosso do Sul – Brasil.

RESUMO

O vírus Chikungunya (família *Togaviridae*) é um arbovírus emergente cuja expansão global tem sido impulsionada por adaptações genéticas e pela ampla distribuição de seus vetores, principalmente *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. A elevada capacidade de dispersão, aliada às mudanças ambientais e ao aumento da mobilidade humana, favoreceu a introdução e o estabelecimento de diferentes genótipos do vírus em diversas regiões do mundo, incluindo o Brasil. Neste estudo, foram analisados 1.082 genomas completos de CHIKV obtidos no *NCBI*, com o objetivo de caracterizar a diversidade genética global do vírus e compreender as relações evolutivas entre os principais genótipos. As sequências foram alinhadas utilizando a árvore filogenética foi construída por meio do método de Máxima Verossimilhança, com posterior visualização. Complementarmente, foram elaborados mapas de dispersão geográfica, redes de haplótipos com o método *Median-Joining* e matrizes de homologia para avaliação da similaridade entre linhagens. Os resultados revelaram a presença dos genótipos West African, Asiático, Asian-American, ECSA1, ECSA2 e IOL, evidenciando diferentes níveis de diversidade interna e padrões distintos de dispersão. O genótipo ECSA2, predominante no Brasil desde 2014, demonstrou baixa variabilidade e forte adaptação ao vetor *A. aegypti*, explicando seu sucesso epidemiológico no país. Por outro lado, o genótipo IOL apresentou maior diversidade e sinais de rápida expansão associados a mutações adaptativas ao *A. albopictus*. A análise integrada dos dados filogenéticos, filogeográficos e de homologia reforça a origem africana do CHIKV e evidencia a influência de pressões ambientais e vetoriais na evolução viral. Esses achados destacam a importância da vigilância genômica contínua para compreender a dinâmica de dispersão do CHIKV e subsidiar estratégias de monitoramento e prevenção de surtos.

Palavras-chave: Chikungunya; Filogenia; Bioinformática; Vigilância genômica.

ABSTRACT

Chikungunya virus (family *Togaviridae*) is an emerging arbovirus whose global expansion has been driven by genetic adaptations and the wide distribution of its vectors, mainly *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. Its high dispersal capacity, coupled with environmental changes and increased human mobility, has favored the introduction and establishment of different virus genotypes in various regions of the world, including Brazil. In this study, 1,082 complete CHIKV genomes obtained from *NCBI* were analyzed to characterize the global genetic diversity of the virus and understand the evolutionary relationships between the main genotypes. The sequences were aligned using a phylogenetic tree constructed using the Maximum Likelihood method, followed by visualization. Additionally, geographic

dispersion maps, haplotype networks using the Median-Joining method, and homology matrices were created to assess lineage similarity. The results revealed the presence of the West African, Asian, Asian-American, ECSA1, ECSA2, and IOL genotypes, evidencing different levels of internal diversity and distinct dispersal patterns. The ECSA2 genotype, predominant in Brazil since 2014, demonstrated low variability and strong adaptation to the *A. aegypti* vector, explaining its epidemiological success in the country. On the other hand, the IOL genotype showed greater diversity and signs of rapid expansion associated with adaptive mutations to *A. albopictus*. The integrated analysis of phylogenetic, phylogeographic, and homology data reinforces the African origin of CHIKV and highlights the influence of environmental and vectorial pressures on viral evolution. These findings underscore the importance of continuous genomic surveillance to understand the dynamics of CHIKV dispersal and to support strategies for monitoring and preventing outbreaks.

Keywords: Chikungunya; Phylogeny; Bioinformatics; Genomic surveillance.

1.INTRODUÇÃO

As arboviroses são um grande problema para a saúde pública no mundo, com notório aumento impulsionado por fatores como variações genéticas, alteração na dinâmica populacional de hospedeiros e vetores e elementos ambientais de origem humana. Trata-se de vírus extremamente adaptados, permitindo o surgimento e estabelecimento em novas áreas geográficas (**Krambrich et al., 2024**).

Estes vírus são transmitidos principalmente por artrópodes, em sua maioria mosquitos hematófagos dos gêneros *Culex* e *Aedes* os quais encontram-se abundantemente adaptados a ambientes urbanos e periurbanos. A disseminação e o estabelecimento das espécies de mosquitos *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* foi causada por uma interação de muitos fatores como deslocamento populacional, mudanças climáticas, urbanização desordenada e problemas com a infraestrutura e saneamento básico (**Donalisio, Freitas & Von Zuben 2017**). Embora o *A. aegypti* seja um vetor urbano altamente adaptado ao ambiente antropomorfizado o *A. albopictus*, é mais adaptado a regiões temperadas, o que lhe dá a capacidade de introduzir em novos nichos ecológicos principalmente em áreas com preservação de mata (**Petersen & Powers 2016**).

A crescente introdução e adaptação de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em ambientes antropizados ao redor do mundo, especialmente em zonas urbanas densamente povoadas, tem facilitado profundamente a disseminação global de arboviroses. Esses mosquitos, que prosperam em ambientes humanos como depósitos de água, calhas, pneus e recipientes pequenos, encontraram nichos ideais para se estabelecer e proliferar, o que tem

contribuído para epidemias mais frequentes e extensas. Como resultado, arboviroses como a dengue, a Zika e a chikungunya têm se espalhado por um número cada vez maior de países (WHO, 2024, WHO, 2023). A dengue, por exemplo, já é transmitida em aproximadamente 99 países ou territórios, com mais de 10,9 milhões de casos e mais de 6.500 óbitos reportados globalmente até meados de 2024 (WHO 2024). Já a febre por chikungunya, associada a infecção pelo vírus do mesmo nome, já foi identificada por transmissão autóctone em 119 países, e de janeiro a setembro de 2025 foram relatados mais de 250 mil casos suspeitos, com 181 mil casos confirmados e 155 mortes em todo o mundo (WHO 2025). Neste cenário das arboviroses, a febre por chikungunya se destaca por sua rápida expansão, desde sua reintrodução em diversas regiões após 2004, associada principalmente a adaptações virais que favorecem a transmissão pelos vírus do gênero *Aedes*. Dessa forma têm sido observados surtos intensos, com alta morbidade manifestada por quadros febris agudos, artralgia principalmente em mãos, pés, punhos e joelhos, bem como, estando associada a complicações cardiovasculares, neurológicas (meningoencefalites) e reumatológicas (artrites), com permanência dos sintomas artrálgicos por longos períodos (Freppel *et al.*, 2017; de Lima *et al.*, 2017).

O vírus chikungunya (CHIKV), um Alphavirus pertencente à família *Togaviridae* foi isolado inicialmente na Tanzânia em 1952, durante um surto na área de Newala, entretanto evidências moleculares mostraram que o CHIKV possivelmente evoluiu no continente africano há pelo menos 300 a 500 anos, com registros históricos de epidemias entre 1779 e 1785 em países como Egito e Índia, e também surtos como o de “*Kidenga pepo*” em Zanzibar no ano de 1823 (Ramphal *et al.*, 2023; Freppel *et al.*, 2017; Khongwichit *et al.*, 2021). Anos depois do primeiro surto o CHIKV espalhou-se dentro do continente africano e para alguns países asiáticos, com pequenos surtos ocorridos na Índia em 1954 e a primeira confirmação laboratorial na Tailândia em 1958, mantendo-se em surtos esporádicos e concentrados principalmente na África e Ásia (Khongwichit *et al.*, 2021). Este cenário mudou drasticamente a partir da virada do milênio, quando o CHIKV ressurgiu de maneira considerável espalhando-se para todo o mundo e tornando-se um problema de saúde pública mundial (Freppel *et al.*, 2017; Khongwichit *et al.*, 2021).

Surtos iniciais ocorridos no Quênia logo espalharam-se por outros países africanos e ao arquipélago do Oceano Índico em 2005-2006. O vírus rapidamente adaptou-se a nova região, permitindo o surgimento de novas linhagens com uma mutação adaptativa que

aumentou consideravelmente sua aptidão para o mosquito *A. albopictus* que facilitou grandes epidemias rurais e suburbanas no Oceano Índico, Índia, Sudeste Asiático e Europa onde o vetor é abundantemente encontrado. Posteriormente, novas adaptações surgiram em vírus circulantes na Índia em 2009-2010, aumentando a afinidade e adaptação mais eficaz na disseminação pelo mosquito *A. aegypti*, o que provocou surtos em massa na própria Índia e no Paquistão, antes de espalhar-se para Bangladesh, Tailândia e Mianmar. Essa capacidade de adaptação, aliada ao aumento da mobilidade humana e às mudanças climáticas que ampliam a área de distribuição geográfica dos mosquitos do gênero *Aedes*, propiciou aumento dos riscos e futuras epidemias, em todo o mundo, colocando cerca de 75% da população mundial em risco de contrair o vírus (**Ramphal et al., 2023; Freppel et al., 2017; Khongwicht et al., 2021**).

No Brasil, duas linhagens do CHIKV foram introduzidas quase simultaneamente, a partir do ano de 2014 sendo uma delas detectada inicialmente em Oiapoque no Amapá e outra em Feira de Santana, na Bahia (**Barreto Resck et al., 2022; de Lima et al., 2017**). Desde a introdução no país a região Nordeste foi o principal centro de dispersão do vírus para o país, com picos de casos ocorridos entre 2016 e 2017, onde destaca-se o estado de Ceará, onde no ano de 2017 foram registrados mais de 200 óbitos, o maior número já registrado de óbitos por essa doença nas américas (**Naveca et al., 2023; Barreto Resck et al., 2022**). A rápida dispersão não só para o país, mas para outras regiões da América, do Sul e Central, bem como para outras regiões do mundo, com adaptações a diferentes espécies de vetores, principalmente do gênero *Aedes*, propiciou uma elevada diversidade viral, agrupando os CHIKVs em pelo menos 3 genótipos diferentes, com importantes clados filogeograficamente caracterizados.

Estudos filogenéticos virais são hoje em dia uma ferramenta fundamental para a compreensão da evolução viral dos arbovírus, como o chikungunya, pois permite a identificação das linhagens ancestrais do vírus, bem como a determinação e a compreensão dos seus mecanismos evolutivos, e filogeografia. Além disso, este tipo de abordagem é crucial para o monitoramento de mutações relevantes, apoiando diretamente a monitoração da adaptação a vetores, visto que mutações podem aprimorar a infectividade e transmissão em *A. aegypti*. A análise filogeográfica também é vital para identificar rotas de dispersão global, como a introdução de uma sublinhagem em diferentes áreas do globo, mapeando importantes centros de transmissão inter-regional. Ademais, esses dados genômicos fornecem a base

teórica para a vigilância epidemiológica e para prever o risco epidemiológico ao permitir o monitoramento contínuo das variações genômicas, o que é especialmente importante dado que a expansão geográfica de vetores (Ning *et al.*, 2023; Krambrich *et al.*, 2024).

O avanço constante de ferramentas de bioinformática tem permitido analisar grandes conjuntos de dados genômicos e aprofundando a compreensão da diversidade viral. Softwares amplamente utilizados na área, têm se mostrado essenciais garantindo alta precisão em análises com grande volume de dados, reconstruções filogenéticas, cálculo de distâncias genéticas e abordagens baseadas em redes de haplótipos permitem visualizar a microevolução viral e compreender rotas de dispersão recentes oferecendo recursos robustos para caracterizar relações evolutivas entre genótipos virais (Tamura *et al.*, 2021; Katoh *et al.*, 2019; Bandelt *et al.*, 1999).

Dessa forma, e diante da ampla diversidade genética do CHIKV aliado a rápida expansão de suas linhagens em diferentes regiões do mundo, tornou-se fundamental compreender como esses genótipos se organizam, evoluem e se dispersam globalmente. A análise integrada de genomas completos, aliada a métodos de bioinformática permite revelar padrões evolutivos que não são perceptíveis apenas por análises epidemiológicas tradicionais. Portanto, o presente estudo busca caracterizar os principais clados do CHIKV, identificar suas relações genéticas, reconhecer sublinhagens que desempenham papéis importantes em surtos recentes e interpretar a forma como essas linhagens se diferenciam e se adaptam a diferentes vetores e ambientes. Essa abordagem possibilita compreender de maneira mais ampla a dinâmica evolutiva do vírus e oferece subsídios para aprimorar a vigilância genômica e a interpretação epidemiológica em cenários de emergência viral.

2. METODOLOGIA

2.1 Preparação das sequências

Foram inicialmente selecionadas 1.287 sequências nucleotídicas de genoma completo do CHIKV a partir do banco de dados NCBI (*National Center for Biotechnology Information*). As sequências foram alinhadas no software MEGA X, utilizando o algoritmo MUSCLE, escolhido por sua alta precisão e desempenho em alinhamentos de grandes conjuntos de dados. Para garantir maior robustez e fidedignidade às análises, sequências

incompletas, duplicadas ou com gaps extensos foram excluídas, resultando em 1.082 sequências completas para a etapa seguinte. Por fim, as regiões não codificantes 5' e 3' foram removidas com o intuito de padronizar o tamanho de todas as sequências, fazendo com que todas iniciassem no primeiro nucleotídeo codificante da poliproteína não estrutural.

2.2 Análise e árvore filogenética

As sequências previamente alinhadas foram utilizadas para a construção da árvore filogenética no software MEGA X (**Kumar *et al.*, 2018**), empregando o método de *Maximum Likelihood* (ML) com o modelo de substituição Tamura-Nei (**Tamura & Nei 1993**). A árvore inicial foi obtida automaticamente pela aplicação dos algoritmos *Neighbor-Joining* (NJ) e *BioNJ* a uma matriz de distâncias pareadas estimadas por *Maximum Composite Likelihood* (MCL), sendo posteriormente selecionada a topologia com o maior valor de verossimilhança logarítmica. A árvore resultante foi então ajustada visualmente, modificando-se cores e disposição dos ramos para destacar genótipos e clados.

2.3 Mapa

Para a representação cartográfica da dispersão global do CHIKV e a delimitação das áreas geográficas por genótipo, utilizou-se o *software* QGIS (*Quantum Geographic Information System*), na Versão 3.44.4. A base para a criação do mapa político mundial foi um arquivo vetorial georreferenciado (*shapefile*) de domínio público, obtido em um repositório público *online*, o qual foi essencial para o processamento e a correta categorização das áreas. No QGIS, o mapa foi personalizado por meio da coloração dos países de acordo com a distribuição dos genótipos identificados nas análises evolutivas. Esta ferramenta foi empregada para a montagem da figura composta, permitindo a inserção de setas para ilustrar as rotas de dispersão do CHIKV e a integração do gráfico.

2.4 Rede de Haplótipos

A reconstrução das relações microevolutivas e a visualização da diversidade de sequências dentro dos genótipos do CHIKV foram realizadas por meio de redes de haplótipos utilizando o algoritmo *Median-Joining* (MJ). Esse tipo de abordagem é particularmente útil para vírus de rápida evolução, pois permite identificar conexões mutacionais diretas, possíveis ancestrais intermediários e padrões de dispersão genética que nem sempre são

evidentes em árvores filogenéticas tradicionais. Para a geração e representação inicial das redes, empregou-se o software PopArt DNA, versão 1.7 (Leigh & Bryant, 2015).

2.5 Análise de Homologia

Além da inferência filogenética baseada em Máxima Verossimilhança (ML), foi realizada uma análise complementar das homologias médias entre os principais genótipos e subgenótipos do CHIKV. Essa abordagem quantitativa permite avaliar o grau de similaridade genômica média entre os grupos definidos na árvore filogenética, funcionando como um parâmetro independente de suporte às relações evolutivas inferidas. Enquanto a filogenia ML representa a história evolutiva baseada em padrões de substituições nucleotídicas, a matriz de homologia média resume a distância genética global entre genótipos, possibilitando visualizar a coesão interna de cada grupo e a proximidade relativa entre linhagens distintas. A comparação entre ambas as abordagens fornece, portanto, uma visão mais integrada da estrutura genética e da trajetória evolutiva do CHIKV, permitindo verificar se as relações observadas na filogenia são consistentes com a similaridade genômica geral entre os genótipos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Filogenia e Diversidade dos Genótipos do CHIKV

A árvore filogenética construída a partir do método máxima verossimilhança revelou a presença dos principais clados e genótipos circulantes. Ao analisar os cálculos com base na geolocalização e literatura, evidenciou a presença de três genótipos: *West African* (WA), *Asian* e ECSA (*East, Central and South African*) (**Figura 1**). Castro Moreira (2019) estima que o genótipo ECSA é o mais diverso da árvore, apresentando três clados bem definidas: ECSA1, ECSA2 e a *Indian Ocean Lineage* (IOL). A ECSA 1 é o clado mais basal, sua distribuição se concentra na África Oriental e Austral e evidenciadas pelas sequências AF490259, ON009843, HM045811, HM045811, HM045795 e HM045809 datadas entre 1953-1976 (**Figura 1**) o que confirma a distribuição e o período dos surtos originais de

CHIKV (1960-2000) no continente africano. Atualmente, este genótipo não representa uma preocupação em termos de epidemias recentes e seu estudo é importante para o entendimento da filogenia viral (**Krambrich *et al.*, 2024; Ramphal *et al.*, 2023; Petersen & Powers 2016**)

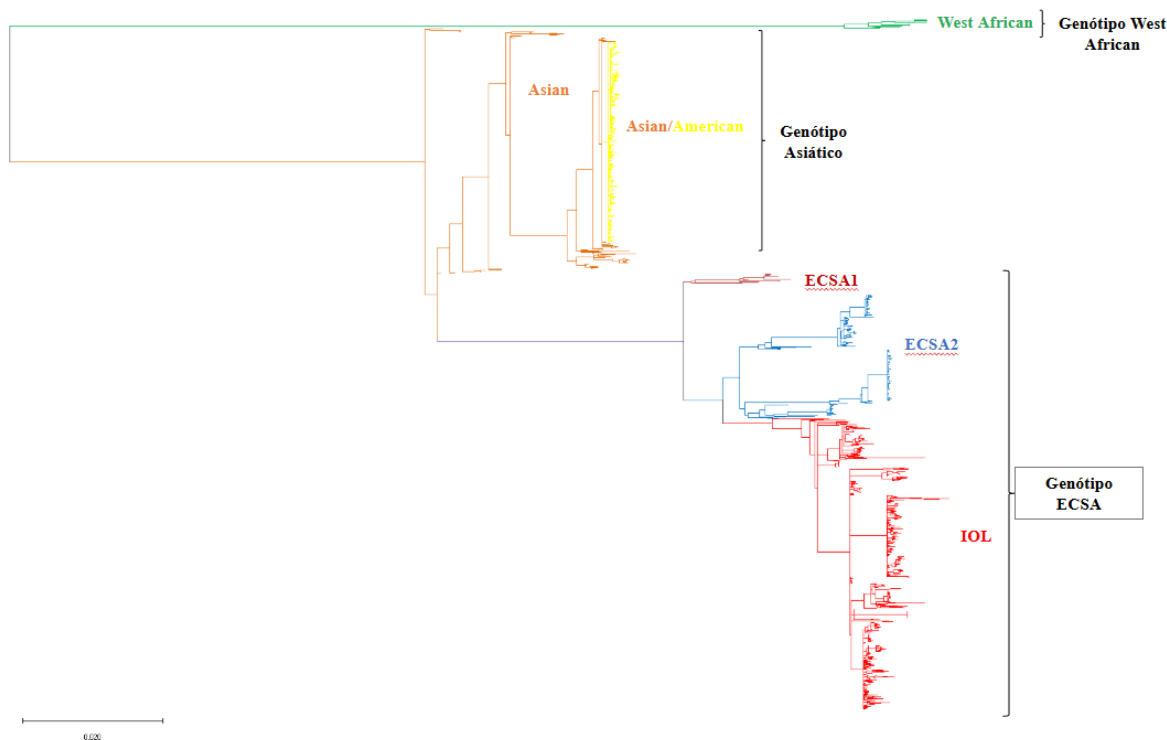


Figura 1. Análise filogenética molecular pelo método de máxima verossimilhança. A história evolutiva foi inferida utilizando o método de máxima verossimilhança baseado no modelo de Tamura-Nei. A árvore com a maior verossimilhança logarítmica (-279841,34) é mostrada. As árvores iniciais para a busca heurística foram obtidas automaticamente aplicando os algoritmos *Neighbor-Join* e *BioNJ* a uma matriz de distâncias pareadas estimadas utilizando a abordagem de Máxima Verossimilhança Composta (MCL), e então selecionando a topologia com o maior valor de verossimilhança logarítmica. A análise envolveu 1082 sequências de nucleotídeos. Havia um total de 11241 posições no conjunto de dados final. As análises evolutivas foram conduzidas no MEGA X. Para facilitar a visualização o genótipo *West African* foi representado pela cor verde, o genótipo Asian em Laranja, com o clado Asian/American em Amarelo e o genótipo ECSA com seus clados ECSA1 em Bordô, ECSA2, em Azul e IOL em Vermelho. A árvore completa, mostrando todas as sequências analisadas (1082) estão disponíveis como material suplementar (**Figura Suplementar 1**)

Com uma distribuição concentrada na África central, o clado ECSA2 estabelece uma linhagem intermediária entre os clados ECSA1 e IOL. Segundo a literatura, apresenta duas principais mutações E1:A226V e E2:I211T o que torna o vírus mais apto ao *A. albopictus*. No entanto, sua epidemiologia ficou restrita pelo seu padrão de circulação regional. Em nossa reconstrução filogenética, a ECSA2 apresentou dois clados mais representativos (**Figura 1**). Um desses grupos é fortemente associado ao Brasil, enquanto o outro é composto, em sua maioria, por sequências obtidas nas Ilhas Reunião. Vírus pertencentes a este genótipo foram responsáveis pela primeira entrada de CHIKV no Brasil (Amapá) e países da América do Sul

e Central, entretanto limitando-se a um período mais limitado de circulação (**Barreto Resck et al., 2022; Ramphal et al., 2023**)

O clado IOL de origem da África Oriental (**Figura 1**), possivelmente Quênia, expandiu-se por volta do início dos anos 2000, com divergência estimada em estudos filogenéticos entre 2002 e 2005 dispersando-se para o subcontinente indiano, Sudeste Asiático e Europa, tornando-se uma linhagem epidêmica devido a mutações que alavancaram sua infecção e transmissão por vetores (**Khongwichit et al., 2021**). Entre elas, temos a mutação E1-A226V, aliada à E2-L210Q, que permitiram um aumento significativo na capacidade de infecção e transmissão pelo vetor *A. albopictus*. Posteriormente, a emergência da combinação epistática E1-K211E/E2-V264A sinalizou um deslocamento adaptativo para o *A. aegypti*. (**Kalyanasundram et al., 2022; Phadungsombat et al., 2020; Tsetsarkin & Weaver 2011**). A alta incidência de linhagens no clado IOL em nossa árvore (**Figura 1**) reflete sua ampla dispersão e alta capacidade adaptativa. A seleção de variantes mais eficientes, com alta infectividade em novos vetores, indica que a IOL possui um potencial sustentado de reemergência. Esse clado se tornou muito importante para saúde pública global e para a filogenia, apresentando uma divergência equiparável aos genótipos clássicos, o que motiva a sua consideração como um potencial quarto genótipo (**Barreto Resck et al., 2022; Freppel et al., 2017**).

O genótipo WA (**Figura 1**), o mais ancestral, com sequências provenientes de Senegal, Nigéria e Costa do Marfim, coletadas de surtos ocorridos entre 1964-1993. Sua primeira descrição foi realizada a partir de uma amostra proveniente de mosquitos capturados na Nigéria (**Ramphal et al., 2023**). Não possui detecção recente, nem novos surtos e seu ciclo possivelmente se manteve em transmissão envolvendo primatas não humanos e mosquitos florestais sem causar grandes surtos (**Ramphal et al., 2023**) indicando sua limitação a região do seu surgimento. A taxa evolutiva de 2.84×10^{-4} substituições/nt/ano no Genótipo WA é a mais baixa entre todos os clados, sugerindo que não há uma preocupação em relação a futuras epidemias já que ele não apresenta adaptação a vetores urbanos nem possuiu uma taxa evolutiva elevada, mas vale ressaltar sua importância para o rastreamento da evolução do vírus, oferecendo *insights* sobre a ancestralidade do CHIKV.

Ainda, em nossa análise filogenética (**Figura 1**), observa-se que o Genótipo Asiático (AUL) forma um clado totalmente separado do Genótipo ECSA, indicando que a divergência destas linhagens remontasse a origens ancestrais diferentes (**Figura 1**). É possível identificar

um grande grupo (clado) que possivelmente representa a linhagem Asiática Americana que contém as linhagens ou cepas causadoras de surtos nas Américas, sendo estas mantidas em circulação e as que atualmente mantêm ciclos de infecção em humanos, em países centro e sul americanos. O AUL é encontrado no sudeste asiático e chegou para as américas em 2013, e formou um novo clado conhecido como *Asian/American* (**Phadungsombat *et al.*, 2020**). Sua dispersão para as américas pode ser compreendida pela sua arquitetura da região 3' não codificante (3'UTR), que o diferencia das linhagens africanas por apresentarem duas cópias do elemento SL-Y além de evidenciar uma duplicação parcial de elementos estruturais adicionais (UR e SL-b) (**Bernardi Schneider *et al.*, 2023**).

3.2 Rotas de Dispersão do Vírus Chikungunya

Com o intuito de entender a distribuição geográfica global (filogeografia) dos genótipos do CHIKV, assim como, sua dispersão e história evolutiva um mapa de origem e dispersão dos vírus e seus genótipos foi construído como pode ser observado na **figura 3**. Os principais genótipos estão representados por cores específicas e as setas indicam as principais rotas de dispersão.

A dispersão inicia-se com os genótipos detectados nas décadas de 1950 e 1960. O genótipo WA, isolado em 1964 na Nigéria é principalmente restrito à África Ocidental, sem evidência iniciais de dispersão significativa para outras regiões, até sua inserção na Ásia, principalmente na Índia, Tailândia e Filipinas entre 1960 a 1980, que produziria o início da formação do genótipo Asiático. Este genótipo seria posteriormente inserido nas Américas com circulação mais intensa entre os anos de 2012 a 2018, principalmente no Caribe e América do Sul. Já o genótipo ECSA1, originário da África Oriental e detectado em 1953, se mostra como possível precursor dos clados ECSA2, com circulação dentro do continente africano (África Central entre 2006 a 2019), com posterior migração para as Américas central, do Sul e China. O ECSA1 também se mostra como precursor do clado IOL com distribuição de casos por todo o sudeste Asiático e Índia, com posterior inserção em países Europeus e América do Norte. (**Khongwichit *et al.*, 2021; Ramphal *et al.*, 2023; Krambrich *et al.*, 2024; Henderson Sousa *et al.*, 2024; Bernardi Schneider *et al.*, 2023**).

O estudo das linhagens de maior sucesso global, como a IOL, a ECSA 2 e a Asiática, revela um padrão de dispersão que exige uma explicação detalhada. Como mencionado antes, elas possuem mutações que somam para seu sucesso infeccioso, sendo que a ampla

disseminação da IOL e de outros genótipos epidêmicos do CHIKV não é aleatória, mas sim a consequência direta da convergência de fatores globais, ambientais e biológicos. Assim, a globalização e a intensa mobilidade humana criaram rotas rápidas e contínuas de dispersão, permitindo que viajantes infectados transportasse o vírus de regiões tropicais para áreas temperadas (Abdul-Ghani *et al.*, 2024). Esta migração favoreceu a adaptação de novos vetores para os vírus e isto, aliado a uma população sem imunidade prévia a doença proporciona a possibilidade de grandes surtos e epidemia.

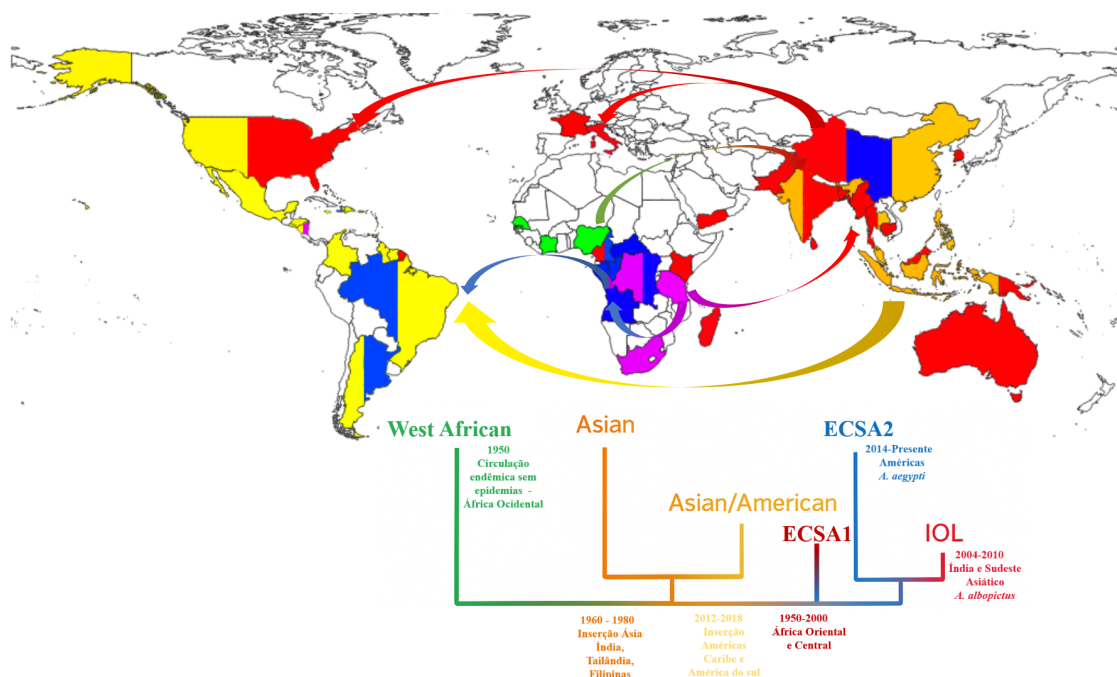


Figura 2. Representação do mapa mundi com a representação dos genótipos e clados nos diferentes países do globo, mostrando a circulação dos genótipos de suas áreas de origem para novas áreas, gerando novos genótipos e clados. Abaixo, evidencia-se um cladograma dos genótipos e clado agrupando-se por suas origens e história dispersiva no mundo.

Interessantemente, quando analisamos os genótipos circulantes nas Américas foi possível identificar um vírus pertencente ao clado ECSA1 detectado na Nicarágua, mostrando como que a dispersão do homem em relação ao espaço auxilia na dispersão viral. Além disso, é sabido que a dispersão viral também está diretamente associada a proliferação e manutenção de seus vetores, assim, a urbanização acelerada, caracterizada por densidade populacional elevada, saneamento precário e proliferação de criadouros artificiais, proporcionou ambientes ideais para a manutenção dos vetores *A. aegypti* e *A. albopictus*, maximizando o contato entre humanos e vetores (Bartlett *et al.*, 2022). Ademais, as

mudanças climáticas intensificaram esse cenário ao expandir o alcance geográfico desses mosquitos, pois temperaturas mais altas aceleram o ciclo de vida do vetor e reduzem o período de incubação viral. Adicionalmente, essas temperaturas permitem a sobrevivência em regiões antes inóspitas, ao passo que padrões irregulares de chuva, secas e inundações resultam na criação de novos *habitats* larvais (Bartlett *et al.*, 2022; Bellone *et al.*, 2023)

Apesar do genótipo Asiático com seu clado Asiático-Americano ter sido o primeiro a ser detectado no Brasil, o mesmo manteve-se circulando por um período curto, de aproximadamente 6 anos (2012 a 2018), sendo que atualmente, a linhagem ECSA 2 é a principal linhagem que circulam no Brasil, devido principalmente a abundante presença e adaptação do vetor *A. aegypti*, o qual possui elevada competência de transmissão. Diferentemente do genótipo Asiático, que foi detectado no país, mas não conseguiu estabelecer ciclos sustentados, o ECSA 2 mostrou maior capacidade de adaptação ao cenário epidemiológico brasileiro, espalhando-se a partir da Bahia para diversas regiões e originando linhagens locais, possivelmente por múltiplas introduções (Castro Moreira *et al.*, 2019). As análises genômicas realizadas confirmam que o ECSA 2 circulante no Brasil não apresenta mutações associadas à maior adaptação ao *Aedes albopictus*, como a clássica E1-A226V, o que reforça que sua manutenção no país está diretamente ligada à predominância do *A. aegypti* (Castro Moreira *et al.*, 2019).

Vale destacar o significativo número de sequências provenientes de um surto ocorrido na Ilha de Reunião em 2025 (Figura S1), evidenciando um surto ligado a linhagem ECSA 2 altamente adaptada ao *A. albopictus*, definida por mutações como E1-A226V, E2-I211T e E2-L210Q. Esse registro evidenciou a eficiência de transmissão que sustentou uma epidemia de grande magnitude, com mais de 50 mil casos confirmados (Frumence *et al.*, 2025). A comparação entre os dois cenários evidencia como a adaptação de vetores, no Brasil vemos um clado que se formou e se mostra mais adaptado ao *A. aegypti*, enquanto na Ilha da Reunião uma predisposição ao *A. albopictus*. Essas diferenças mostram o potencial evolutivo do genótipo ECSA2 e reforçam a necessidade contínua de vigilância genômica. Para facilitar a compreensão dos genótipos/clados e sua origem, localização, inserções ou aparecimentos e mutações significativas, não sumarizamos os dados na **tabela 1**.

Tabela 1. Genótipos e linhagens do CHIKV evidenciando sua origem geográfica, período de destaque e epidemias, regiões afetadas, mutações características e observações filogenéticas e epidemiológicas sumarizadas.

Genótipo / Linhagem	Origem geográfica inicial	Período de destaque / epidemias	Principais regiões afetadas	Mutações características	Observações filogenéticas / epidemiológicas
West African (Verde)	África Ocidental (Nigéria, Senegal)	Endêmico, sem grandes epidemias recentes	África Ocidental	— (conservado)	Linhagem ancestral; mantém ciclo silvestre entre primatas e mosquitos locais; divergência profunda.
Asian (Laranja)	Sudeste Asiático	1950–2013	Sudeste Asiático, Pacífico	E1:K211E (algumas cepas)	Linhagem epidêmica histórica, base do genótipo Asian/American.
Asian/American (Amarelo)	Derivado do Asiático (Micronésia / Caribe)	2013–2018	Caribe, América Central e do Sul (Norte/Nordeste e do Brasil)	E1:A98T, E2:I211T	Primeira introdução nas Américas; baixa diversidade genética; rapidamente substituído pelo ECSA.
ECSA1 (Bordô/Roxo)	Leste e Sul da África	~1950–2000	África Oriental e Central	—	Linhagem africana original; ancestral dos ramos IOL e ECSA2; pouca circulação recente.
ECSA2 (ECSA-BR) (Azul)	África Oriental → Brasil	2014–presente	Brasil, Argentina	E1:A226V, E2:I221T	Linhagem epidêmica dominante nas Américas; introdução única (Angola → Bahia, 2014); adaptação ao <i>Aedes aegypti</i> .
IOL (Indian Ocean Lineage) (Vermelho)	Derivado do ECSA (África Oriental)	2004–2010	Ilhas do Oceano Índico, Índia, Sudeste Asiático	E1:A226V, E2:L210Q, E1:K211E, E2: V264A	Linhagem adaptada ao <i>Aedes albopictus</i> ; causou a grande epidemia de 2005–2006; base das introduções na Ásia.

3.3 Análise da Rede de Haplótipos do Vírus Chikungunya

Para entender as relações microevolutivas e visualizar a diversidade de sequências dentro dos genótipos de CHIKV foram construídas e analisadas as redes de haplótipos dos dois principais genótipos circulantes de CHIKV: o ECSA (ECSA1, ECSA2 e IOL) (**Figura 3**) e o Asiático (Asiático e Asiático/Americano) (**Figura 4**).

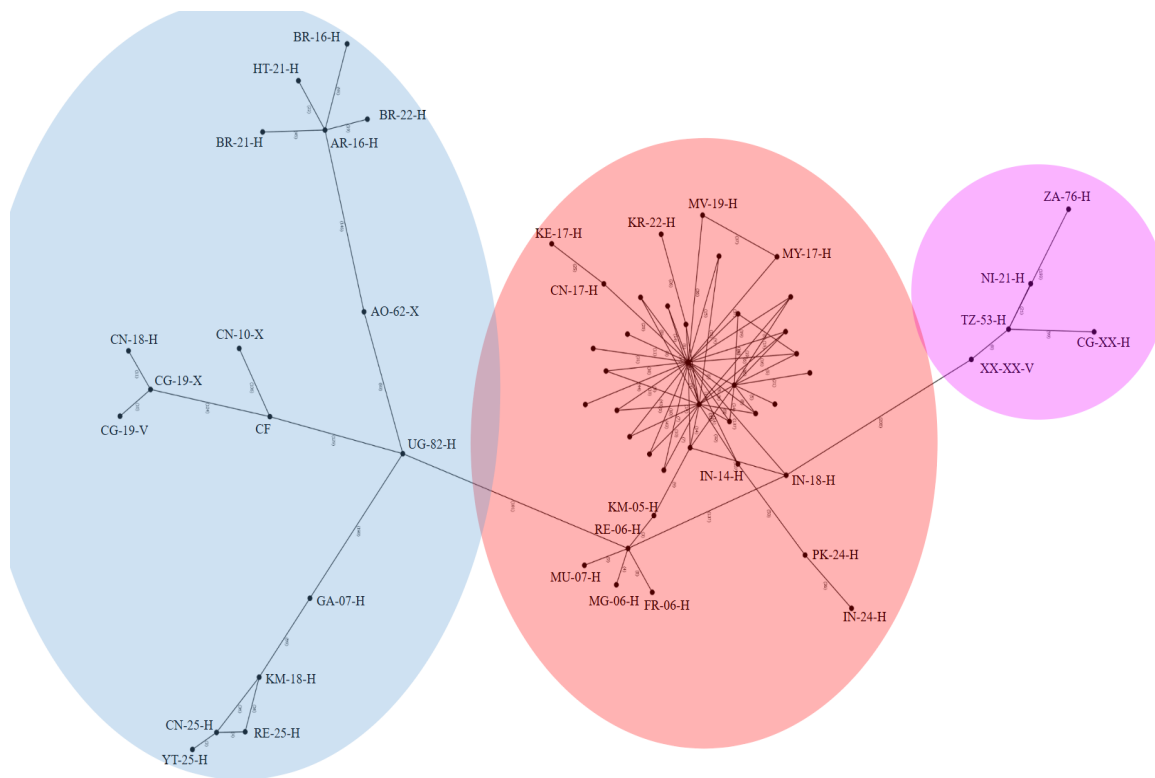


Figura 3. Rede de haplótipos de CHIKV pertencentes ao genótipo ECSA, e seus clados representados como ECSA1 (roxo), ECSA2 (azul) e IOL (vermelho). Os pontos são sequências genômicas virais que se ligam por hastes indicando seu parentesco e proximidade ou ligação. Não foi adicionado o nome de todas as sequências em todos os pontos, com o intuito de diminuir a poluição da imagem, entretanto foi verificada a presença e se a rede era condizente com a distribuição de genótipos e clados dos CHIKVs. Os nomes representam o país de origem da sequência (padrão duas letras internacional), ano de coleta e origem: H: Humano, V: vacinal, X: ignorado. Destaca-se que a sequência XX-XX-V, não oferecia informações de procedência e ano, provavelmente sendo uma cepa vacinal de estudo que utilizou o genótipo ECSA1 (de maior circulação), como modelo vacinal.

O clado ECSA1, demonstra um padrão de evolução e circulação distinto das linhagens epidêmicas. Esta porção da rede exibe baixa diversidade de haplótipos, manifestada pela presença de poucos círculos na amostra, e suas conexões são marcadas por hastes alongadas ou haplótipos intermediários, (como o XX-XX-V). A grande distância mutacional que separa esses haplótipos uns dos outros, bem como o restante da rede, sugere que houve um longo período para o acúmulo de mutações desde seu ancestral comum, o que é consistente com a coleta de suas sequências entre 1953 e 1976 na África Oriental e Austral. Isso evidencia sua o ECSA 1 como grupo ancestral, porém possivelmente posterior a origem de WA.

O clado IOL é definido por um nítido padrão de expansão em estrela, caracterizado pela irradiação de inúmeros haplótipos periféricos a partir de um núcleo de haplótipos centrais e de alta frequência. Este padrão é a assinatura genética de uma expansão

populacional recente e rápida, refletindo o surto explosivo que começou nas Ilhas do Oceano Índico e se dispersou pelo Subcontinente Indiano e Sudeste Asiático. A rede visualiza o sucesso biológico alcançado pela linhagem IOL, cuja rápida disseminação foi impulsionada pela mutação E1-A226V, que aumentou significativamente sua competência vetorial para o mosquito *A. albopictus* (Donalisio, Freitas & Von Zuben 2017)

Já, o clado ECSA 2 exibe uma rede mais ramificada e dispersa, com um ponto de origem que se irradia em pelo menos três subgrupos notáveis, conectados por hastes alongadas. Essa arquitetura evidencia que elas surgiram ou são muito próximas da sequência de Uganda 1982, que gerou o clado das Américas (mais acima), o do centro referente a África e o mais inferior referente aos surtos da Ilha da Reunião. Um dos subgrupos é fortemente associado ao Brasil (BR-16-H, BR-22-H) e outras regiões das Américas (HT-21-H, AR-16-H), refletindo a linhagem responsável pela epidemia iniciada na Bahia em 2014. A persistência desta linhagem no Brasil é atribuída à sua elevada competência de transmissão pelo vetor *A. aegypti* (Castro Moreira *et al.* 2019). Em contraste com o cenário brasileiro, o ECSA 2 também engloba um subgrupo majoritariamente composto por sequências da Ilha da Reunião (como observado pelo agrupamento distinto). Os estudos genômicos dessa região confirmaram um surto impulsionado por uma linhagem ECSA 2 que havia adquirido mutações conferindo-lhe alta adaptação ao *A. albopictus* (Krambrich *et al.*, 2024). A rede de haplótipos comprova que embora os casos que aconteceram no Brasil e Ilha da Reunião sejam do mesmo genótipo, eles têm mutações distintas que os tornaram linhagens adaptadas a vetores diferentes. Essa divergência demonstra o notável potencial evolutivo do genótipo ECSA2 em se adaptar e gerar grandes epidemias em diferentes contextos ecológicos e vetoriais. Assim, a linhagem ECSA2 se estabelece como uma grande preocupação de saúde pública, equiparando-se ao IOL em periculosidade global, mas evidenciando seu risco através de uma evolução versátil e estruturada que pode explorar diferentes nichos geográficos e vetoriais.

O genótipo Asian (**Figura 4**) apresenta uma estrutura predominantemente linear e sequencial, com haplótipos asiáticos mais antigos, como o IN-63-H e TH-88-H, conectados por longas distâncias mutacionais. Esta arquitetura, semelhante ao ECSA1, sugere uma evolução lenta e gradual na Ásia, anterior à grande expansão global. Em contrapartida, o clado Asiático-Americano exibe uma clara expansão em estrela, centralizada em torno de um núcleo de haplótipos de alta frequência. Este padrão de expansão explosiva é a assinatura

genética da rápida introdução e disseminação do vírus nas Américas a partir de 2013, onde o vírus encontrou populações suscetíveis à doença e ao vetor *A. aegypti* (Vega-Rúa *et al.*, 2014). A ligação entre o clado asiático ancestral e o clado Asiático-Americano ocorre por meio de poucos *steps* mutacionais, indicando que a introdução nas Américas foi um evento recente e único a partir da linhagem que circulava na Ásia que provavelmente surgiram na Malásia em 2007.

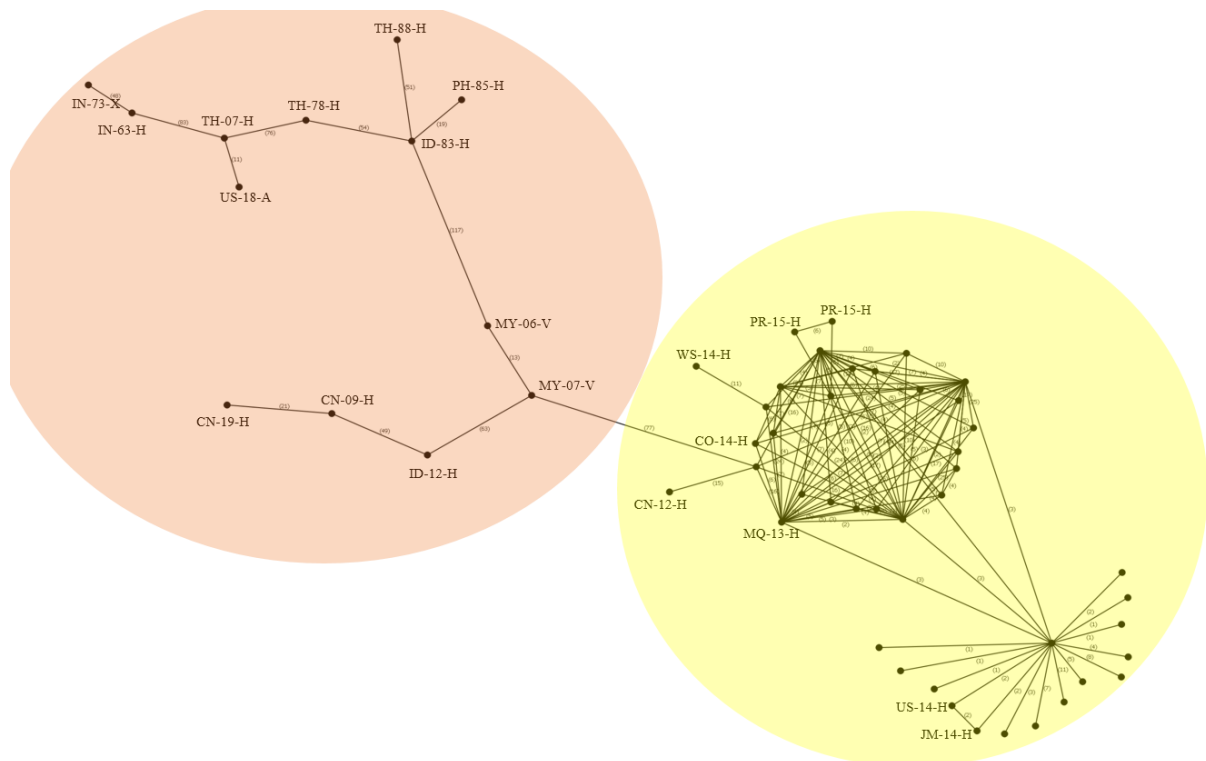


Figura 4. Rede de haplótipos de CHIKV pertencentes ao genótipo ASIAN, e seus clados representados como ASIAN (Laranja) e ASIAN/AMERICAN (Amarelo). Os pontos são sequências genômicas virais que se ligam por hastes indicando seu parentesco e proximidade ou ligação. Não foi adicionado o nome de todas as sequências em todos os pontos, com o intuito de diminuir a poluição da imagem, entretanto foi verificada a presença e se a rede era condizente com a distribuição de genótipos e clados dos CHIKVs. Os nomes representam o país de origem da sequência (padrão duas letras internacional), ano de coleta e origem: H: Humano, V: vacinal, X: ignorado.

3.4 Comparação Genômica e Homologia entre Genótipos do Vírus Chikungunya

A matriz de homologia média (Tabela 2) mostrou um padrão claro de similaridade interna entre os genótipos de CHIKV. Entre os grupos analisados, o genótipo ECSA2 apresentou a maior homologia intragrupo (96,26%), seguido pelos genótipos Asian-American (95,77%) e ECSA1 (95,60%), o que indica que esses três grupos possuem baixa diversidade interna e sequências muito semelhantes entre si. Os genótipos Asian (94,94%) e IOL (95,10%) exibiram maior variabilidade, compatível com o fato de serem linhagens que

circulam há mais tempo em diferentes regiões do mundo e acumularam um maior número de mutações. Ainda a faixa geral de identidade intra-genótipo mostrou variou entre 94,9 a 96,3%, que é típico de genótipos distintos dentro de linhagens virais (em geral >92% de identidade entre genótipos). Vale destacar que todos os genótipos analisados mostram alta homologia interna (>94%) reforçando a estabilidade do genoma de CHIKV e variações moderadas (distâncias entre 0,04-0,05) que é compatível com pressões evolutivas contínuas, porém sem eventos de recombinação maciça, condizente aos achados de **Krambrich *et al.*, 2024**.

Tabela 2. Comparação intra-genótipos de identidade nucleotídica (%) e distância média, com suas interpretações biológicas.

Genótipo / Subgenótipo	Distância média	Média Identidade (%)	Interpretação biológica
ECSA2	0.0374	96.26 %	É o mais homogêneo internamente , indicando linhagem recente ou bem delimitada (pouca diversidade intragrupo).
ECSA1	0.0440	95.60 %	Também muito homogêneo; sugere um subgrupo bem definido dentro de ECSA, possivelmente com origem comum próxima.
Asian-American	0.0423	95.77 %	Homogeneidade alta — condizente com a recente introdução nas Américas (~2013–2014). Poucas mutações desde a disseminação.
West African	0.0453	95.47 %	Genótipo estável, mas com diversidade ligeiramente maior, o que é esperado pois é um dos genótipos ancestrais (circulando há mais tempo).
IOL (Indian Ocean Lineage)	0.0490	95.10 %	Um pouco mais variável internamente — consistente com múltiplas introduções regionais e evolução adaptativa (ex.: mutações E1-A226V).
Asian	0.0506	94.94 %	O mais diverso internamente ; isso reflete sua ampla distribuição geográfica (Ásia continental e Sudeste Asiático) e maior tempo de circulação.

Quando comparados genótipos frente a outro genótipo (inter-genótipos) os maiores valores de identidade foram observados entre os pares ECSA2 × Asian-American (95,94%) e IOL × Asian-American (95,95%), sugerindo que essas linhagens possuem maior proximidade genética em relação às demais (**Tabela 3**). Esses pares exibem as maiores homologias intra-genótipos coerente com a origem das cepas americanas e IOL a partir de linhagens ECSA africanas, como mostrado por Krambrich *et al.*, 2024. Quando observada a relação entre ECSA – Asian, ECSA – IOL, e Asian-American – ECSA1 observamos identidade variando de 95,4 a 95,7%, evidenciando continuidade evolutiva, porém com visível separação temporal e geográfica, condizente com o tempo de aparecimento dos surtos e sua localização. Ainda, observamos que os pares West African x ECSA 1 (95,23%) e IOL x Asian (95,22%),

mostram-se como os mais divergentes, refletindo as origens independentes e longa separação evolutiva, lembrando que o West African é o clado mais basal. Finalmente observamos que as identidades variam de 95,2 a 95,9% mostrando que todos ainda pertencem ‘a mesma espécie viral, mas nitidamente representam linhagens distintas. A maior proximidade entre ECSA2 e Asian-American corrobora o cenário de emergência do genótipo americano a partir do ECSA, possivelmente via introduções da linhagem IOL/ECSA no Caribe e Américas (Krambrich *et al.*, 2024).

Tabela 3. Comparação inter-genótipos de identidade nucleotídica (%) e distância média, com suas interpretações biológicas.

Par de genótipos	Distância média	Homologia média (%)	Interpretação
ECSA2 × Asian-American	0.0406	95.94 %	Relação muito próxima ; reflete a origem do genótipo americano a partir do ECSA.
IOL × Asian-American	0.0405	95.95 %	Também alta; mostra possível proximidade genética entre linhagens derivadas de ECSA.
Asian-American × ECSA1	0.0429	95.71 %	Alta homologia, compatível com ancestral comum africano recente (ECSA).
ECSA2 × West African	0.0426	95.74 %	Boa proximidade, mas menor que dentro de ECSA, sugerindo separação mais antiga.
IOL × ECSA1	0.0436	95.64 %	Relação interna ao complexo ECSA; mostra continuidade evolutiva.
Asian × ECSA2	0.0439	95.60 %	Alta homologia, indicando divergência intermediária entre os clados asiáticos e africanos.
Asian-American × West African	0.0448	95.52 %	Relação moderada, já refletindo maior divergência.
ECSA2 × ECSA1	0.0443	95.57 %	Como esperado, muito próxima , pois ambos são subgrupos do genótipo ECSA.
Asian-American × ECSA1	0.0429	95.71 %	Elevada proximidade — coerente com origem do clado americano em cepas ECSA.
Asian × Asian-American	0.0456	95.44 %	Moderada: mostra que o clado americano não veio diretamente do asiático moderno.
IOL × ECSA2	0.0458	95.42 %	Elevada, confirmando derivação da linhagem IOL do genótipo ECSA.
Asian × ECSA1	0.0456	95.44 %	Intermediária; representa separação histórica entre os clados africanos e asiáticos.
IOL × West African	0.0475	95.25 %	Divergência maior — são genótipos de origens distintas.
IOL × Asian	0.0478	95.22 %	Similar: divergência moderada entre clados asiáticos e IOL.
West African × ECSA1	0.0477	95.23 %	O par mais distante entre os principais genótipos africanos.

O dendrograma (**Figura 5**), construído com base nas distâncias e homologias médias, confirmou esses padrões ao agrupar ECSA2 e West African em um bloco de linhagens africanas, enquanto ECSA1, IOL e Asian-American foram distribuídos em outro bloco de genótipos relacionados. O genótipo Asian surgiu como um ramo mais externo, indicando sua divergência mais antiga em relação aos demais grupos. Assim, a combinação entre a matriz

de homologia e o dendrograma reforça os padrões de similaridade observados na árvore filogenética.

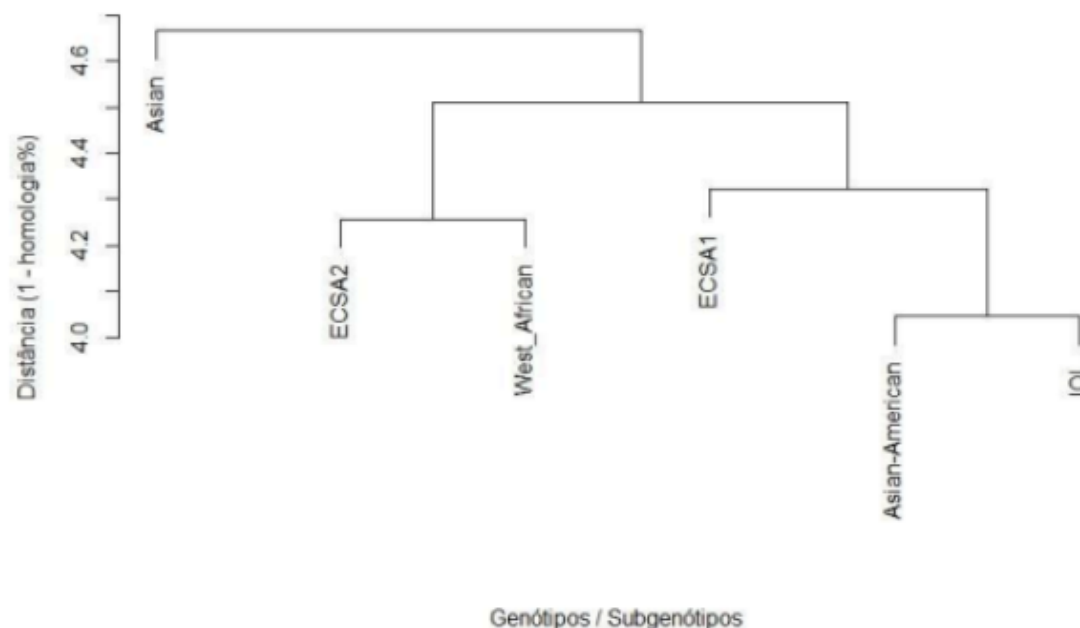


Figura 5. Dendrograma de similaridade entre genótipos de CHIKV.

Os resultados obtidos por meio da matriz de homologia e do dendrograma complementam e reforçam as relações evolutivas observadas na árvore filogenética, ainda que cada método utilize abordagens diferentes. A alta homologia interna identificada nos genótipos ECSA1, ECSA2 e Asian-American indica que essas linhagens apresentam pouca diversidade genética, o que é esperado para grupos que surgiram ou se dispersaram recentemente. Esse padrão coincide com achados epidemiológicos, como a introdução quase simultânea de ECSA2 no Brasil em 2014 e da linhagem Asian-American no Caribe em 2013, eventos que resultaram em rápida expansão regional, mas ainda com tempo limitado para divergência genética significativa. Por outro lado, os menores valores de homologia observados nos genótipos Asian e IOL são compatíveis com sua circulação prolongada em várias regiões, o que favorece o acúmulo de mutações ao longo do tempo. O genótipo Asian, por exemplo, apresenta grande dispersão no Sudeste Asiático, enquanto o IOL protagonizou surtos consecutivos em diferentes continentes, fatores que explicam sua maior diversidade interna. Assim, os valores de identidade média ajudam a entender o ritmo evolutivo de cada linhagem, refletindo tanto sua história quanto seu contexto geográfico. Estes dados

corroboram aos achados de Krambrich *et al.*, 2024, de dispersão e protagonismo do clado IOL no sudeste asiático.

Embora o dendrograma não represente relações de ancestralidade como a árvore filogenética, seu agrupamento confirma tendências gerais esperadas. ECSA2 aparece próximo ao West African porque ambas são linhagens africanas e compartilham características genéticas conservadas. A presença conjunta de ECSA1, IOL e Asian-American em um bloco separado reflete o fato de essas linhagens se originarem de ramificações mais recentes do complexo ECSA e terem passado por dispersões sucessivas que moldaram seus perfis genômicos. Já o posicionamento externo do genótipo Asian indica que essa linhagem divergiu mais cedo, antes da expansão das linhagens associadas ao Oceano Índico e às Américas.

Finalmente, quando analisamos em conjunto a filogenia, a rede de haplótipos, a matriz de homologia e o dendrograma, observa-se uma narrativa evolutiva coerente. Todas as análises apontam para uma origem africana do CHIKV, seguida de múltiplos eventos de dispersão que deram origem às linhagens que hoje circulam na Ásia, no Oceano Índico e nas Américas. As diferentes metodologias se complementam, mostrando tanto a “grande estrutura” da evolução viral quanto os padrões de similaridade genética que ajudam a compreender sua diversificação e adaptação global.

4. CONCLUSÃO

A análise filogenética através de ferramentas de bioinformática realizada neste estudo permitiu compreender de forma ampla a diversidade genética e os padrões evolutivos dos principais genótipos do CHIKV. A partir das 1082 sequências completas, foi possível identificar com clareza os clados ECSA1, ECSA2, IOL, Asiático, Asian-American e West African, revelando suas relações evolutivas e evidenciando diferentes níveis de diversidade interna entre essas linhagens. A árvore filogenética destacou a origem africana do CHIKV e a posterior expansão para a Ásia, Oceano Índico e Américas, enquanto a rede de haplótipos complementou esses achados ao ilustrar padrões de microevolução e rotas recentes de dispersão. As análises de homologia e o dendrograma reforçaram essas relações, confirmando a proximidade genética entre determinados genótipos e destacando diferenças consistentes no grau de diversidade entre eles. Os resultados evidenciaram que o genótipo ECSA2 apresenta

baixa variabilidade e forte capacidade de estabelecimento em regiões urbanas, o que explica sua ampla presença no Brasil desde 2014. A linhagem Asian-American, embora também pouco diversa, mostrou elevado potencial de dispersão nas Américas, enquanto o genótipo Asian permaneceu como o grupo mais divergente, refletindo uma história evolutiva mais antiga e complexa. O IOL, por sua vez, exemplificou o impacto de mutações adaptativas na expansão viral, demonstrando como pequenas alterações genômicas podem modificar a competência vetorial e favorecer a ocorrência de surtos em diferentes regiões do mundo.

Ao combinar diferentes abordagens bioinformáticas, este estudo oferece uma visão integrada da evolução do CHIKV, evidenciando como diversidade genética, adaptação a vetores e dispersão geográfica se conectam para moldar a dinâmica global do vírus. Esses achados ressaltam a importância da vigilância genômica contínua, sobretudo em regiões onde o vírus já está estabelecido, e contribuem para a compreensão dos fatores que influenciam o risco de novos surtos. Assim, este trabalho se soma aos esforços científicos voltados ao monitoramento, prevenção e resposta às arboviroses, oferecendo informações relevantes para pesquisas futuras e estratégias de saúde pública. Recomenda-se que análises como esta sejam mantidas e aprimoradas, especialmente em regiões de circulação ativa como o Brasil

5. REFERÊNCIAS

Abdul-Ghani, R.; Fouque, F.; Mahdy, M. A. K.; Zhong, Q.; Al-Eryani, S. M. A.; Alkwri, A.; Beier, J. C. Multisectoral approach to address chikungunya outbreaks driven by human mobility: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0012603>.

Bandelt, H. J.; Forster, P.; Röhl, A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, v. 16, p. 37–48, 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036>.

Bartlett, M. L.; Miley, K.; Vermund, S. H.; Weaver, S. C. Arthropod-borne disease challenges from planetary warming, urbanization, and migration. *The Lancet Infectious Diseases*, v. 22, p. e263–e272, 2022. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(21\)00559-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(21)00559-4).

Barreto Resck, M. E.; Câmara, D. C. P.; Dos Santos, F. B.; Dos Santos, J. P. C.; Alto, B. W.; Honório, N. A. Spatial–temporal distribution of chikungunya virus in Brazil: a review on the circulating viral genotypes and *Aedes albopictus* as a potential vector. *Parasites & Vectors*, v. 15, p. 1–23, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05442-8>.

Bellone, R. et al. Climate change and vector-borne diseases: a multi-omics approach of temperature-induced changes in the mosquito. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0012220>.

Bernardi Schneider, A. et al. Updated phylogeny of Chikungunya virus suggests lineage-specific RNA architecture. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/2023.04.24.538068>.

Castro Moreira, D. et al. Genetic characterization of Chikungunya virus circulating in individuals from Paraná, Brazil. *Archives of Virology*, v. 164, p. 2541–2546, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00705-019-04373-9>.

De Donalisio, M. R.; Freitas, A. R. R.; Von Zuben, A. P. B. Arboviroses emergentes no Brasil: desafios para a clínica e implicações para a saúde pública. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, v. 26, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.5123/S1679-49742017000400007>.

De Lima, S. T. S. et al. Fatal outcome of Chikungunya virus infection in Brazil. *Clinical Infectious Diseases*, v. 65, p. 2047–2056, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/cid/cix600>.

Frumence, E. et al. Genomic insights into the re-emergence of Chikungunya virus on Reunion Island, France, 2024 to 2025. *Eurosurveillance*, 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2025.00000>.

Freppel, W.; Silva, L. A.; Stapleford, K. A.; Herrero, L. J. Pathogenicity and virulence of Chikungunya virus. *Virulence*, v. 8, p. 1417–1428, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/21505594.2017.1361085>.

Henderson Sousa, F. et al. Evolution and immunopathology of chikungunya virus informs therapeutic development. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1334567>.

Leigh, J. W.; Bryant, D. POPART: full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution*, v. 6, n. 9, p. 1110–1116, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12410>.

Kalyanasundram, J. et al. Emergence of ECSA-IOL E1-K211E/E2-V264A lineage of Chikungunya virus during Malaysian 2021 outbreak. *International Journal of Infectious Diseases*, v. 126, p. 202–210, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2022.11.023>.

Katoh, K.; Rozewicki, J.; Yamada, K. D. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution*, v. 36, p. 305–312, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>.

Khongwicht, S. et al. Chikungunya virus infection: molecular biology, clinical characteristics, and epidemiology in Asian countries. *Pathogens and Global Health*, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/20477724.2021.1904077>.

Krambrich, J. et al. The evolutionary and molecular history of a chikungunya virus outbreak lineage. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 18, n. 7, e0012349, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0012349>.

Kumar, S.; Stecher, G.; Li, M.; Knyaz, C.; Tamura, K. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, v. 35, p. 1547–1549, 2018.

Naveca, F. G. et al. Increased interregional virus exchange and nucleotide diversity outline the expansion of chikungunya virus in Brazil. *Nature Communications*, v. 14, 4445, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41467-023-40099-y>.

Ning, X.; Xia, B.; Wang, J.; Gao, R.; Ren, H. Host-adaptive mutations in Chikungunya virus genome. *Virus Evolution*, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ve/vead013>.

Petersen, L. R.; Powers, A. M. Chikungunya: epidemiology. *F1000Research*, v. 5, p. 82, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.12688/f1000research.7174.1>.

Phadungsombat, J. et al. Spread of a novel Indian Ocean Lineage carrying E1-K211E/E2-V264A of Chikungunya virus across Asia and Africa. *Emerging Infectious Diseases*, v. 26, p. 1397–1400, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3201/eid2607.190902>.

Ramphal, Y. et al. Understanding the transmission dynamics of the Chikungunya virus in Africa. *Virus Evolution*, v. 9, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ve/vead054>.

Ryan, D. J. et al. Reliability and validity of the international physical activity questionnaire... *Journal of Aging and Physical Activity*, v. 29, p. 1–10, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1123/japa.2020-0253>.

Tamura, K.; Stecher, G.; Kumar, S. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, v. 35, p. 1547–1549, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>.

Tamura, K.; Nei, M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, v. 10, p. 512–526, 1993.

Vega-Rúa, A. et al. High level of vector competence of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from ten American countries as a crucial factor in the spread of Chikungunya virus. *Journal of Virology*, v. 88, p. 6294–6306, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/JVI.00370-14>.

WHO. World Health Organization. Chikungunya virus disease – Global situation. 2025. Disponível em: <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2025-DON581>.

WHO. World Health Organization. Dengue – Global situation. 2024. Disponível em: <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2024-DON518>.

WHO. World Health Organization. Geographical expansion of cases of dengue and chikungunya... 2023. Disponível em: <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON448>.