



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CEILÂNDIA
CURSO DE FARMÁCIA**

NATHÁLIA FERREIRA ANDRADE DA SILVA

**AVALIAÇÃO SOROLÓGICA E MOLECULAR DO PARVOVÍRUS B19
(B19V) EM DOADORES DE SANGUE DA FUNDAÇÃO HEMOCENTRO DE
BRASÍLIA, BRASIL: UM FOCO EM MULHERES EM IDADE FÉRTIL.**

BRASÍLIA, 2018

NATHÁLIA FERREIRA ANDRADE DA SILVA

**AVALIAÇÃO SOROLÓGICA E MOLECULAR DO PARVOVÍRUS B19
(B19V) EM DOADORES DE SANGUE DA FUNDAÇÃO HEMOCENTRO DE
BRASÍLIA, BRASIL: UM FOCO EM MULHERES EM IDADE FÉRTIL.**

Monografia de Conclusão de Curso apresentada
como requisito parcial para obtenção do grau de
Farmacêutico, Faculdade de Ceilândia,
Universidade de Brasília.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Haddad

Co-orientador: Dr. Svetoslav Nanev Slavov

BRASÍLIA, 2018

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

S586a Silva, Nathália Ferreira
Avaliação sorológica e molecular do parvovírus B19 (B19V) em doadores de sangue da Fundação Hemocentro de Brasília, Brasil: um foco em mulheres em idade fértil. / Nathália Ferreira Silva; orientador Rodrigo Haddad; co-orientador Svetoslav Slavov. -- Brasília, 2018.
35 p.

Monografia (Graduação - Farmácia) -- Universidade de Brasília, 2018.

1. Erythrovirus. 2. Parvovírus B19 Humano. 3. Prevalência. 4. Estudos Soroepidemiológicos. I. Haddad, Rodrigo, orient. II. Slavov, Svetoslav, co-orient. III. Título.

NATHÁLIA FERREIRA ANDRADE DA SILVA

**AVALIAÇÃO SOROLÓGICA E MOLECULAR DO PARVOVÍRUS B19
(B19V) EM DOADORES DE SANGUE DA FUNDAÇÃO HEMOCENTRO DE
BRASÍLIA, BRASIL: UM FOCO EM MULHERES EM IDADE FÉRTIL.**

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Haddad

(Universidade de Brasília – Faculdade de Ceilândia – UnB/FCE)

Co-Orientador: Dr. Svetoslav Nanev Slavov

(Universidade de São Paulo – USP)

Prof. Dra. Thaís Alves da Costa Lamounier

(Universidade de Brasília – Faculdade de Ceilândia – UnB/FCE)

Prof. Dr. Eduardo Antonio Ferreira

(Universidade de Brasília – Faculdade de Ceilândia – UnB/FCE)

BRASÍLIA, 2018

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus pela minha vida, minha saúde e por renovar em mim a dedicação e persistência para que eu pudesse concluir este trabalho.

Aos meus pais pelo apoio incondicional, por estarem do meu lado em todas as horas, pela dedicação em sempre cuidar de mim e me proporcionar o melhor, e por todo amor e carinho.

Ao meu marido Rone por todo apoio, carinho, amor e incentivo durante essa jornada.

À toda a minha família por estarem sempre presentes em minha vida, por terem me incentivado e acreditado em mim.

Ao meu orientador Prof. Dr. Rodrigo Haddad por todos os ensinamentos, pela oportunidade, apoio e incentivo durante a elaboração deste trabalho e em boa parte da minha vida acadêmica.

Ao meu co-orientador Dr. Svetoslav Nanev Slavov pelas orientações e empenho dedicado à elaboração deste trabalho.

Aos meus amigos por sempre estarem presentes, por dividirem comigo momentos de alegria e por me apoiarem nos momentos de dificuldade. Sem vocês teria sido muito mais difícil chegar até aqui.

E à todos que de alguma forma contribuíram na minha vida acadêmica, o meu muito obrigado.

RESUMO

O parvovirus B19 (B19V) é um vírus pequeno, icosaédrico, possui DNA de fita simples e pertence à família *Parvoviridae*. Suas formas de transmissão incluem transmissão por via respiratória, por meio de transplante de órgãos, transfusão sanguínea e transmissão vertical da mãe para o feto. Em indivíduos imunocompetentes, os sintomas são brandos e inespecíficos. Já em indivíduos imunocomprometidos, a infecção pode representar risco de morte. Por ser um vírus pequeno, o B19V é muito resistente aos métodos de inativação viral, podendo causar infecção de hemoderivados para a transfusão sanguínea. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a presença do DNA do B19V em 89 amostras de soro de doadoras de sangue em idade fértil da Fundação Hemocentro de Brasília. Para tanto, foi realizada a extração e quantificação do DNA dessas amostras e, em seguida, a detecção molecular do B19V por meio de uma PCR em tempo real, a qual não demonstrou positividade para o vírus pesquisado. Ainda assim, este estudo fornece informações importantes a respeito da circulação do B19V na região Centro-Oeste do Brasil.

Palavras-chave: *Erythrovirus*; Parvovirus B19 Humano; Prevalência; Estudos soropidemiológicos.

ABSTRACT

Parvovirus B19 (B19V) is a small, icosahedral virus, possesses single-stranded DNA and belongs to the Parvoviridae family. The transmission routes include the respiratory route, through organ transplantation, blood transfusion and vertical transmission from mother to fetus. In immunocompetent individuals, the symptoms are mild and nonspecific. In immunocompromised individuals, the infection may be life-threatening. Because it is a small virus, B19V is very resistant to viral inactivation methods, and can cause infection of blood products for blood transfusion. Thus, the objective of this study was to evaluate the presence of B19V DNA in 89 serum samples from blood donors in childbearing age at the Blood Center of Brasília. So, DNA extraction and quantification of these samples were carried out, followed by the molecular detection of B19V by real-time PCR, which did not show positivity for the virus. Nevertheless, this study provides important information about the circulation of B19V in the Center-West region of Brazil.

Keywords: Parvovirus B19 Human; *Erythrovirus*; Prevalence; Seroepidemiologic Studies.

LISTA DE SIGLAS

°C – Graus Celsius

B19V – Parvovirus B19

DNA – *Deoxyribonucleic acid*, Ácido desoxirribonucleico

ELISA – *Enzyme-linked immunosorbent assay*, Ensaio imunoenzimático

IgM – Imunoglobulina M

IgG – Imunoglobulina G

nm – Nanômetro

nM – Nanomolar

NS1 – Proteína não-estrutural

NAT – Teste de ácido nucleico

P – Antígeno de superfície

PCR – Reação em cadeia polimerase

RNA – *Ribonucleic acid*, Ácido ribonucleico

VP1 – Proteína 1 de superfície do vírus

VP2 – Proteína 2 de superfície do vírus

VP1F – Primer forward

VP1R – Primer reverse

VP1P – Sonda

µl – Microlitro

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Comparação de prevalências de IgG anti-B19V e de DNA B19V nos estudos realizados no Brasil (Página 13).

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	1
OBJETIVOS	4
Objetivo Geral	4
Objetivos específicos	4
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	5
ARTIGO – COMUNICAÇÃO BREVE	8
Título	8
Título em inglês	8
Autores	8
Abstract	8
Resumo	8
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	14
ANEXO I	16
NORMAS DO PERIÓDICO	16
ANEXO II	21
Aprovação do comitê de ética	21

INTRODUÇÃO

O parvovírus B19 (B19V), descoberto em 1975 no soro de doadores de sangue (Cossart et al., 1975), é um vírus não-envelopado, icosaédrico, com DNA de fita simples e pertence à família *Parvoviridae* (Zadsar et al., 2017). O diâmetro do vírus varia de 19 a 25 nm, e o capsídeo viral é constituído por duas proteínas estruturais de superfície (VP1 e VP2) e uma proteína não-estrutural (NS1) que é responsável pela replicação viral e morte da célula hospedeira (Juhl; Hennig, 2018).

A infecção pelo B19V tem seu início quando o capsídeo se liga ao antígeno P, um glicoesfingolípido presente na superfície das células da linhagem eritróide, responsável pelo tropismo viral (Garcia et al., 2009). Embora o vírus adentre em todas as células que contenham o antígeno P, uma infecção produtiva com replicação viral e formação de progênie acontece apenas nas células eritróides, causando a lise da célula infectada (Juhl; Hennig, 2018).

As formas de transmissão do B19V incluem a transmissão vertical da mãe para o feto, através da transfusão sanguínea, transplante de medula óssea, transplante de órgãos sólidos e através da via respiratória (Carkirca et al., 2015), sendo que esta última representa a principal forma de transmissão do vírus (Molenaar-de Backer et al., 2016).

A replicação viral, que leva à viremia em aproximadamente 6 dias, aparenta ser importante na maioria das manifestações clínicas. Em indivíduos saudáveis, a infecção é assintomática ou apresenta um quadro clínico leve (Valencia Pacheco et al., 2017). Em indivíduos imunossuprimidos ou portadores de algum tipo de doença hematológica, as manifestações clínicas se tornam mais evidentes. A sintomatologia da doença está relacionada a seus efeitos nas células eritróides (lise e apoptose) durante a infecção na medula óssea (Slavov et al., 2012).

Em crianças, a manifestação clínica mais comum causada pelo B19V é o eritema infeccioso ou quinta doença, que acomete em sua maioria, crianças de 4 a 10 anos de idade (Garcia et al., 2009). Os sintomas incluem febre baixa, cefaleia, mialgia e eritema facial intenso, que progride para o tronco e membros após alguns dias (Freitas, 2008).

Indivíduos com hemoglobinopatias são mais susceptíveis à infecção pelo B19V devido a uma eritropoese insuficiente. Nesses pacientes, o vírus pode levar à crise aplástica transitória, que é caracterizada por uma interrupção na produção de eritrócitos, desaparecimento de reticulócitos do sangue periférico e queda dos níveis de hemoglobina, o que pode representar risco de morte ao paciente (Slavov et al., 2012).

A primeira associação entre infecção por B19V e complicações na gravidez foi descrita por Brown (1984), quando foram encontrados anticorpos anti-B19V IgM no tecido fetal (Garcia et al., 2009). Apesar de não representar nenhum perigo para a gestante saudável, a infecção pelo B19V na gravidez pode refletir um grande risco ao feto devido à sua habilidade de atravessar a barreira placentária. A infecção intrauterina pode resultar em anemia profunda, hidropsia fetal e morte (Bonvicini et al., 2017).

Como a presença de anti-B19V IgG pode ser considerada um fator de imunidade à infecção, mulheres grávidas, soronegativas e que são expostas à infecção primária têm chances de transmitir verticalmente o vírus para o feto. Houve relatos de transmissão intrauterina, com taxas que variavam de 24% a 39%. As taxas de transmissão são mais elevadas quando a infecção ocorre durante o primeiro trimestre de gravidez (Bonvicini et al., 2017). Dados referentes à soroprevalência de mulheres susceptíveis à infecção pelo B19V no início da gravidez relatam valores que vão de 26% a 43,5% em países da Europa e no Japão (Mossong et al., 2008; Watt et al., 2013; Barlin et al., 2014; Jensen et al., 2000).

Por ser um vírus muito pequeno, o B19V é resistente a muitos procedimentos de inativação viral e métodos de filtragem utilizados na produção de derivados do plasma. Apesar de não representar perigo para indivíduos imunocompetentes, os desfechos clínicos da infecção são frequentemente graves em imunossuprimidos e grávidas. Assim, o B19V atraiu muita atenção por representar uma ameaça à segurança transfusional (Han et al., 2015).

Como a infecção aguda é frequentemente assintomática, especialmente em adultos, os doadores de sangue afetados não demonstram estar aparentemente doentes e, portanto, podem doar sangue. Dessa forma, doações de sangue com alta

carga viral podem ser feitas e o DNA do B19V pode ser detectado no plasma por meio de testes de ácido nucleico (Juhl; Hennig, 2018).

A detecção do DNA do B19V em doações de sangue não é um evento raro. Segundo estudos realizados na década de 1990, houve relatos da detecção molecular do B19V em 0,03 – 0,6% das doações de sangue (McOmish et al., 1993; Yoto et al., 1995; Jordan et al., 1998). Estudos mais recentes realizados no Brasil demonstraram soroprevalência de anti-B19V IgG de 60% do B19V em um número de 100 amostras de doadores de sangue saudáveis que foram investigados (Slavov et al., 2012).

O diagnóstico preciso de infecção recente ou passada depende do uso de imunoenaios enzimáticos para detectar a presença de anti-B19V IgM e IgG no soro. Para confirmar se há infecção aguda, anticorpos IgM devem ser encontrados no plasma ou soro. Esses anticorpos são produzidos aproximadamente de 7 a 10 dias depois do período de alta viremia e são direcionados contra epítopos lineares e conformacionais das proteínas estruturais VP1 e VP2. A diminuição do anticorpo anti-B19V IgM é acompanhada pelo aumento de anti-B19V IgG, que possui função de proteção ao longo da vida do indivíduo, mas que desaparece rapidamente quando direcionado a epítopos lineares da proteína VP2 (Slavov et al., 2011).

A infecção pelo B19V não prejudica a contagem de células sanguíneas de doadores de sangue saudáveis, mas após a infecção aguda, concentrações extremamente elevadas de DNA do B19V podem ser detectadas. Passada a infecção aguda, partículas de DNA do vírus podem persistir no plasma a níveis baixos durante vários anos. Desta forma, muitas doações de sangue consecutivas que contém o DNA do B19V podem ser feitas através de um único doador, causando contaminação de hemoderivados (Juhl et al., 2018). Isso pode representar grande ameaça tanto à vida de indivíduos imunocomprometidos, quanto de mulheres grávidas que necessitam de transfusão sanguínea. Visto a importância da segurança transfusional, este estudo trará aspectos relevantes sobre a prevalência do B19V na população de doadores da Fundação Hemocentro de Brasília, principalmente em mulheres, doadoras e em idade fértil.

OBJETIVOS

Objetivo Geral

O objetivo geral deste trabalho é identificar a presença da viremia do B19V nas amostras de soro colhida de doadores de sangue da Fundação Hemocentro de Brasília, mulheres e em idade fértil.

Objetivos específicos

- Realizar a extração de DNA de 89 amostras de soro de doadores de sangue, mulheres em idade fértil;
- Realizar a triagem para a presença de DNA viral no soro;
- Determinar a prevalência de doadores de sangue que carregam o vírus;

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARLINN, R.; VAINIO, K.; SAMDAL, H.H.; NORDBØ, S.A.; NØKLEBY, H.; DUDMAN, S.G. Susceptibility to cytomegalovirus, parvovirus B19 and age-dependent differences in levels of rubella antibodies among pregnant women. **J Med Virol.** v. 86, p. 820-826, 2014.

BONVICINI, F.; BUA, G.; GALLINELLA, G. Parvovirus B19 infection in pregnancy — awareness and opportunities. **Curr Opin Virol.** v. 27, p. 8-14, 2017.

CAKIRCAA, M.; KARATOPRAK, C.; UGURLUB, S.; ZORLUA, M.; KISKAC, M.; ÇETIN, G. Parvovirus B19 infection as a cause of acute myositis in an adult. **Rev Bras Reumatol.** v. 55; n. 2; p 185-188, 2015.

COSSART, Y.E.; FIELD, A.M.; CANT, B.; WIDDOWS, D. Parvovirus-like particles in human sera. **Lancet.** v. 1; n. 11 p. 3-72, 1975.

FREITAS, R. B. **Caracterização molecular de eritrovírus humano B19 isolados na região amazônica.** Tese, USP. São Paulo, 2008.

GARCIA, S. O.; PEREIRA, J.; GODOY, C. R. T.; SANABANI, S.; NETO, W. K.; SABINO, E. C. Doenças hematológicas associadas ao eritrovírus. **Revista Brasileira de hematologia e hemoterapia.** v. 31, n. 4, p. 285-290, 2009.

HAN T, LI C, ZHANG Y, et al. The prevalence of hepatitis A virus and parvovirus B19 in source-plasma donors and whole blood donors in China. **Transfus Med.** 2015 Dec; 25 (6): 406-10.

JENSEN, I.P.; THORSEN, P.; JEUNE, B.; MOLLER, B.R.; VESTERGAARD, B.F. An epidemic of parvovirus B19 in a population of 3,596 pregnant women: a study of sociodemographic and medical risk factors. **BJOG.** v. 107, p. 637-643. 2000.

JUHL, D.; HENNIG, H. Parvovirus B19: What Is the Relevance in Transfusion Medicine? **Front Med (Lausanne).** v. 5; n. 4; p. 1-10, 2018.

MCOMISH, F.; YAP, P.L.; JORDAN, A.; HART, H.; COHEN, B.J.; SIMMONDS, P. Detection of parvovirus B19 in donated blood: a model system for screening by polymerase chain reaction. **J Clin Microbiol.** v. 31, n. 2, p. 323–8, 1993.

MOLENAAR-DE BACKER, M.W.; RUSSCHER, A.; KROES, A.C.; KOPPELMAN, M.H.; LANFERMEIJER, M.; ZAAIJER, H.L. Detection of parvovirus B19 DNA in blood: Viruses or DNA remnants? **J Clin Virol.** v. 84; p. 19-23, 2016.

MOSSONG, J.; HENS, N.; FRIEDERICHS, V.; DAVIDKIN, I.; BROMAN, M.; LITWINSKA, B.; SIENNICKA, J.; TRZCINSKA, A.; VAN DAMME, P.; BEUTELS, P.; et al. Parvovirus B19 infection in five European countries: seroepidemiology, force of infection and maternal risk of infection. **Epidemiol Infect.** v.136, p. 1059-1068, 2008.

SLAVOV, S. N.; KASHIMA, S.; PINTO, A. C. S.; COVAS, D. T. Human parvovirus: genetic considerations and impact on patients with sickle-cell disease and thalassemia and on blood transfusions. **FEMS Immunology & Medical Microbiology.** v. 62, n. 3, p. 247-262, 2011.

SLAVOV, S. N.; HADDAD, S. K.; SILVA-PINTO, A. C.; AMARILLA, A. A.; ALFONSO, H. L.; AQUINO, V. H.; COVAS, D. T. Molecular and phylogenetic analyses of human parvovirus B19 isolated from Brazilian patients with sickle cell disease and β -thalassemia major and healthy blood donors. **Journal of Medical Virology.** v. 84, n. 10, p. 1652-1665, 2012.

VALENCIA PACHECO, G.; NAKAZAWA UEJI, Y.E.; RODRÍGUEZ DZUL, E.A.; ANGULO RAMÍREZ, A.V.; LÓPEZ VILLANUEVA, R.F.; QUINTAL ORTIZ, I.G.; ROSADO PAREDES, E.P. Serological and molecular analysis of parvovirus B19 infection in Mayan women with systemic lupus erythematosus in Mexico. **Colomb Med (Cali).** v. 48; n. 3; p. 105-113, 2017.

ZADSAR, M.; AGHAKHANI, A.; BANIFAZL, M.; et al. Seroprevalence, molecular epidemiology and quantitation of parvovirus B19 DNA levels in Iranian blood donors. **J Med Virol.** v. 16; p. 1-5, 2018.

WATT, A.P.; BROWN, M.; PATHIRAJA, M.; ANBAZHAGAN, A.; COYLE, P.V. The lack of routine surveillance of Parvovirus B19 infection in pregnancy prevents an accurate understanding of this regular cause of fetal loss and the risks posed by occupational exposure. **J Med Microbiol.** v. 62, p. 86-92, 2013.

YOTO, Y.; KUDOH, T.; HASEYAMA, K.; SUZUKI, N.; ODA, T.; KATOH, T., et al.
Incidence of human parvovirus B19 DNA detection in blood donors. **Br J Haematol.** v.
91, n. 4, p. 1017–8, 1995.

ARTIGO – COMUNICAÇÃO BREVE

Título: Avaliação sorológica e molecular do Parvovírus B19 (B19V) em doadores de sangue da Fundação Hemocentro de Brasília, Brasil: um foco em mulheres em idade fértil.

Título em inglês: Sorological and molecular evaluation of Parvovirus B19 (B19V) in blood donors from Blood Center of Brasília, Brazil: a focus in woman of childbearing age.

Autores: Nathália Ferreira Andrade da Silva¹, Daiani Cristina Cilião Alves², Allan Mendes de Carvalho¹, Bárbara Maciel Sidou Pimentel³, Filipe Almeida Carvalho Gonzaga^{1,4}, Wildo Navegantes de Araújo^{1,4}, Simone Kashima⁵, Svetoslav Nanev Slavov⁵, Rodrigo Haddad¹

1- Universidade de Brasília - Faculdade de Ceilândia - UnB/FCE

2- Centro Universitário UNIEURO

3- Fundação Hemocentro de Brasília

4- Universidade de Brasília - Núcleo de Medicina Tropical – UnB/NMT

5- Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto

Abstract: Parvovirus B19 (B19V) can be transmitted by respiratory route, vertically and via blood transfusion and organ transplantation. The infection by transfusion of blood or hemocomponents occurs due to resistance of B19V to viral inactivation methods. Our study evaluated the presence of B19V DNA and the prevalence of anti-IgG B19V in women of childbearing age, blood donors of Federal District, Brazil. Our results demonstrated no presence of B19V DNA in these blood donors. However, we found the seroprevalence for anti-B19V IgG to be 60.7% in this population. This study gives important data of B19V circulation in the Midwest of Brazil.

Resumo: O parvovírus B19 (B19V) pode ser transmitido por via respiratória, verticalmente e via transfusão de sangue e transplante de órgãos. A infecção por transfusão de sangue ou hemoderivados ocorre devido à resistência do B19V aos

métodos de inativação viral. Nosso estudo avaliou a presença do DNA e a prevalência de IgG anti-B19V em mulheres em idade fértil, doadoras de sangue do Distrito Federal. Foi demonstrada a ausência de DNA de B19V nesses doadores. No entanto, foi observada a soroprevalência de IgG antiB19V em 60,7% nessa população. Este estudo fornece dados importantes da circulação do B19V no Centro-Oeste do Brasil.

O parvovírus B19 (B19V) pertence à família *Parvoviridae*, (gênero *Erythrovirus*); é um vírus pequeno (19-25 nm), não envelopado, icosaédrico e com genoma DNA de fita simples¹. O capsídeo viral é constituído por duas proteínas estruturais: VP1 e VP2. O genoma viral também codifica uma proteína não-estrutural NS1, que participa na replicação viral e a apoptose da célula hospedeira².

Na maioria dos casos, o B19V causa uma infecção benigna pediátrica conhecida como Eritema Infeccioso ou quinta doença. No entanto, o vírus pode causar uma série de sintomas, incluindo risco de morte. Os sintomas relacionados à infecção pelo B19V dependem da idade, condição imunológica e principalmente da condição hematológica do indivíduo infectado³. Quando a infecção é adquirida na idade adulta a apresentação clínica é compatível com artrite ou artralgia, principalmente nas grandes articulações, e que podem persistir por anos. Em indivíduos com alta taxa de renovação eritróide (por exemplo, em indivíduos com hemoglobinopatias) a infecção aguda pelo B19V pode levar a crise aplástica transitória⁴. Na gravidez, o B19V representa um grande perigo para o feto ao atravessar a barreira placentária e infectar células progenitoras eritróides na medula óssea e no fígado, o que pode levar ao bloqueio da eritropoese, anemia severa, hidropsia fetal e morte⁵.

O B19V apresenta múltiplos mecanismos de transmissão, incluindo a transmissão pela via respiratória, a transmissão vertical da mãe para o feto, e o transplante de medula óssea e de órgãos sólidos⁶. Devido as altas taxas de persistência do vírus no sangue, a resistência aos processos de inativação de patógenos e pelo fato de poder causar uma infecção assintomática, há possibilidade da transmissão ocorrer também via transfusão de sangue e hemocomponentes, principalmente com o uso terapêutico de fatores de coagulação derivados de plasma humano⁷.

Visto a possibilidade de transmissão transfusional do B19V, este estudo visou avaliar a presença do DNA circulante do B19V em plasma obtido de um grupo de doadores de sangue da Fundação Hemocentro de Brasília (Distrito Federal, Brasil), mais especificamente em mulheres em idade fértil. Ainda, há poucas informações acerca da circulação do B19V no Centro-Oeste do Brasil, e nenhuma informação acerca do Distrito Federal. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em pesquisa em seres humanos (CAAE: 62718016.0.0000.5553). Foram obtidas aleatoriamente 89 amostras de soro de mulheres com idade entre 20 a 38 anos (média de 28,5 anos), previamente armazenadas em soroteca a -80 °C em dezembro de 2015. O DNA viral foi extraído de 200 µl de soro utilizando o kit de extração PureLink™ Viral RNA/DNA Mini Kit (Invitrogen - ThermoFisher Scientific, São Paulo, Brasil) seguindo as recomendações do fabricante. Após extração do DNA viral, foi realizada a detecção molecular do B19V pela metodologia de PCR em tempo real (tecnologia TaqMan®) de acordo com o descrito na literatura⁸. Além do reagente 1X TaqMan Real-time PCR MasterMix (ThermoFisher Scientific, São Paulo, Brasil), foram utilizados os seguintes primers na concentração de 300nM: VP1F (5'-GGCCATTTTCAAGGAAGTT-3') e VP1R (5'-GAAGCCAGCACTGGTGCA-3'). Ainda, foi utilizada a sonda VP1P (5'-FAM-TACAACGCCTCAGAAA-3'-MGB) na concentração de 150nM. Os primers e sondas foram construídos para uma porção altamente conservada do gene VP1, garantindo a detecção de todos os genótipos. O volume final da reação foi de 25 µl. Todas as reações foram feitas em termociclador ABI 7500 seguindo protocolo padrão de amplificação (50°C por 5min, desnaturação de 95°C por 5min, e 40 ciclos de 95°C por 15s e 60°C a 1min). A sensibilidade dessa reação foi de 10 cópias/reação, avaliada pela utilização de um plasmídeo⁸ contendo a sequência de interesse (fragmento do gene VP1 do B19V) em diluição seriada de magnitude 10⁸⁻¹ cópia/reação.

O nosso estudo não demonstrou positividade molecular para o DNA do B19V no grupo estudado (Tabela 1). No entanto, a prevalência do DNA do B19V pode variar significativamente dependendo da região e do grupo alvo avaliados. Nesse aspecto, no Brasil, outros estudos demonstraram a presença do DNA do B19V em 0 a 1,0% de doadores de sangue na região Sudeste^{8,9,10}, sendo que um dos estudos conta com número de doadores semelhante ao nosso (91 indivíduos). No entanto, o estudo realizado na região Sudeste inclui doadores masculinos e femininos, enquanto o nosso estudo conta com um grupo relativamente homogêneo, ou seja, mulheres de

idade fértil. Além disso, a diferença da localização geográfica entre os estudos também é um fator importante e que deve ser considerado. Todos os estudos anteriores foram realizados no estado de São Paulo, uma região mais populosa quando comparada ao Distrito Federal. Além disso, apesar dos diferentes genótipos (1, 2 e 3) circularem conjuntamente, notadamente há diferença em suas frequências relativas¹¹. Assim, pode haver diferenças entre os genótipos do B19V que circulam em cada região, influenciando na diferença de prevalência entre os estudos.

No contexto mundial, a prevalência do DNA do B19V em doadores de sangue varia entre 0,006% a 0,88%². Outra possibilidade em relação a ausência de detecção do DNA do B19V pode ser relacionada a ausência da persistência viral nos doadores de sangue avaliados. Por outro lado, mesmo que o DNA viral fosse detectado não seria possível afirmar que haveria, necessariamente, o risco de transmissão transfusional. A persistência do B19V tem sido demonstrada em diferentes tecidos, como pele, fígado, coração, entre outros. Após a infecção aguda, genomas ou fragmentos de DNA viral também podem ser liberadas no plasma a partir destes tecidos, e assim a presença do DNA do B19V no plasma não necessariamente estaria relacionada à presença da partícula viral infecciosa¹². Ainda, é possível que nos estudos anteriores as taxas de infecção persistente em doadores de sangue (carga muito baixa do DNA detectável) sejam mais altos comparados com o nosso grupo de doadores. Nesse aspecto, a ausência de DNA viral nos doadores de sangue avaliados em nosso estudo não nos permite afirmar que o risco de transmissão do B19V através da transfusão sanguínea no hemocentro avaliado inexistente. Assim, para a avaliação da prevalência verdadeira do DNA do B19V nesse hemocentro, é necessária uma inclusão de um número muito superior de amostras similarmente a todos os estudos realizados no Brasil e por grupos internacionais.

Posteriormente, foi avaliada a soroprevalência de anti-B19V IgG nas mesmas amostras. A importância dessa avaliação em mulheres em idade fértil se justifica pelo fato de que uma vez não imunizadas (anti-B19V IgG negativas) estas mulheres são susceptíveis à infecção. Caso a infecção ocorra durante a gravidez, especialmente no primeiro trimestre, pode ocorrer anemia fetal, hidropsia, morte fetal e aborto espontâneo¹³. Parte do soro coletado foi testado pela técnica de Elisa, utilizando-se do kit Biotrin Parvovirus B19 IgG (DiaSorin, Saluggia, VC, Italy) de acordo com as

recomendações do fabricante. Nossos resultados demonstraram soroprevalência de anti-B19V IgG de 60,7% no grupo estudado. A soroprevalência de anti-B19V IgG em doadores de sangue saudáveis em diferentes partes do mundo pode variar entre 9,78% e 79,1% dependendo da região geográfica e o teste utilizado para o diagnóstico². No Brasil a soroprevalência em doadores varia entre 50% a 60%^{8,9,14}, aproximando-se dos resultados obtidos pelo nosso estudo (Tabela 1). Isso demonstra que apesar da detecção do DNA viral em diferentes partes do Brasil variar, as soroprevalências de anti-B19V IgG são relativamente próximas, e consideradas altas. Por outro lado, um outro estudo realizado com 101 mulheres em idade fértil (25 a 34 anos) observou uma positividade de anti-B19V IgG em 8,9% dos indivíduos testados na cidade de Goiânia, Estado de Goiás (GO) (região Centro-Oeste do Brasil)¹⁵. Apesar do número semelhante de indivíduos testados no estudo de Goiânia e neste estudo, houve grande diferença nas soroprevalências de anti-B19V IgG. Essa diferença pode ocorrer por diversas causas, tais como diferentes kits utilizados para a detecção do IgG (ELISA Ridascreen Parvovirus B19 IgG de Lab R-Biopharm e ELISA Parvovirus B19 IgG da Biotrin respectivamente) e períodos em que os estudos foram realizados (1998 a 1999 e 2015 respectivamente).

Em conclusão, os nossos resultados não apresentaram a presença de DNA viral nas amostras avaliadas. No entanto, foi observada uma alta prevalência de anti-B19V IgG em mulheres em idade fértil, doadoras de sangue da Fundação Hemocentro de Brasília. Estes resultados demonstram que apesar do aparente baixo risco de transmissão do vírus, este fato não pode ser totalmente descartado devido aos altos níveis de soroprevalência de IgG, mostrando que há a circulação do B19V nesse grupo. Assim, o estudo com maior número de amostras é necessário para a avaliação do real risco transfusional do B19V nessa região do Brasil. De qualquer forma, o estabelecimento de estratégias que garantam a oferta de sangue e hemoderivados de forma segura deve ser considerada, como por exemplo a implementação do NAT (Acid Nucleic Testing) para todos os genótipos do B19V. Também foi observado que aproximadamente 40% das mulheres em idade fértil não são imunes ao B19V (anti-B19V IgG negativas) e podem ser infectadas durante a gravidez, principalmente durante períodos epidêmicos¹³. Por fim, este é o primeiro estudo que avalia a prevalência do B19V no Distrito Federal e traz importantes dados sobre a circulação do B19V e sua soroprevalência (IgG) na região Centro-Oeste do Brasil.

Tabela 1: Comparação de prevalências de IgG anti-B19V e de DNA B19V nos estudos realizados no Brasil

Estudo	Região (Estado)	População	Número de indivíduos	IgG anti-B19V	B19V (DNA)
<i>Slavov et al., 2012-1</i>	São Paulo	Doadores de sangue (ambos os sexos)	100	60	1%
<i>Slavov et al., 2012-2</i>	São Paulo	Doadores de sangue (ambos os sexos)	47	57,4	0%
<i>Slavov et al., 2014</i>	São Paulo	Doadores de sangue (ambos os sexos)	40	50%	0%
<i>Slavov et al., 2016</i>	São Paulo	Doadores de sangue (ambos os sexos)	91	-	1%
<i>Rios et al., 2016</i>	Goiás	Mulheres em idade fértil	101	8,9%	-
<i>Silva et al., 2018</i>	Distrito Federal	Doadores, mulheres em idade fértil	89	60,7%	0%

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cotmore SF, Agbandje-McKenna M, Chiorini JA, et al. The family Parvoviridae. *Arch Virol*. 2014 May; 159: 1239-47. PubMed PMID: 24212889.
2. Juhl D, Hennig H. Parvovirus B19: What Is the Relevance in Transfusion Medicine? *Front Med (Lausanne)*. 2018; 5: 4. PubMed PMID: 29450198.
3. Lindblom A, Isa A, Norbeck O, Wolf S, Johansson B, Broliden K, Tolfvenstam T (2005): Slow clearance of human parvovirus B19 viremia following acute infection. *Clin. Infect. Dis.* 41, 1201–1203. PubMed PMID: 16163641.
4. Qiu J, Söderlund-Venermo M, Young NS. Human Parvoviruses. *Clin Microbiol Rev*. 2017 Jan;30(1):43-113. Review. PubMed PMID: 27806994.
5. Bonvicini F, Bua G, Gallinella G. Parvovirus B19 infection in pregnancy — awareness and opportunities. *Curr Opin Virol*. 2017 Dec; 27: 8-14. PubMed PMID: 29096233.
6. Rogo LD, Mokhtari-Azad T, Kabir MH, Rezaei F. Human parvovirus B19: a review. *Acta Virol*. 2014 Dec; 58(3):199-213. PubMed PMID: 25283854.
7. Han T, Li C, Zhang Y, et al. The prevalence of hepatitis A virus and parvovirus B19 in source-plasma donors and whole blood donors in China. *Transfus Med*. 2015 Dec; 25 (6): 406-10. PubMed PMID: 26564017.
8. Slavov SN, Haddad SK, Silva-Pinto AC, et al. Molecular and phylogenetic analyses of human Parvovirus B19 isolated from Brazilian patients with sickle cell disease and β -thalassemia major and healthy blood donors. *J Med Virol*. 2012 Oct; 84 (10): 1652-65. PubMed PMID: 22930515.
9. Slavov SN, Kashima S, Silva-Pinto AC, Covas DT. Genotyping of Human parvovirus B19 among Brazilian patients with hemoglobinopathies. *Can J Microbiol*. 2012 Feb; 58 (2): 200-5. PubMed PMID: 22280886.
10. Slavov SN, Otaguiri KK, Covas DT, Kashima S. Prevalence and Viral Load of Human Parvovirus B19 (B19V) Among Blood Donors in South-East Brazil. *Indian J Hematol Blood Transfus*. 2016 Jun; 32 (Suppl 1): 323-5. PubMed PMID: 27408426.

11. Gallinella, G. Parvovirus B19 Achievements and Challenges. *ISRN Virology*. 2013 Mar; 2013:1-33.
12. Molenaar-de Backer MW, Russcher A, Kroes AC, Koppelman MH, Lanfermeijer M, Zaaijer HL. Detection of parvovirus B19 DNA in blood: Viruses or DNA remnants? *J Clin Virol*. 2016 Nov; 84: 19-23. PubMed PMID: 27664778.
13. Gilarranz R, Chamizo F, Hernández-Febles M, Valle L, Pena-Lopez MJ. Parvovirus B19 congenital infection. *Infect Dis (Lond)*. 2016 Jul;48(7):566-8. PubMed PMID: 27218697.
14. Slavov SN, Kashima S, Rocha-Junior MC, et al. Frequent human parvovirus B19 DNA occurrence and high seroprevalence in haemophilic patients from a non-metropolitan blood centre, Brazil. *Transfus Med*. 2014 Apr;24(2):130-2. PubMed PMID:24684574.
15. Rios WLF, Moraes CL, Melo NC, Cardoso DDP, Castro AM, Avelino MM. Prevalência da infecção pelo parvovírus B19 em mulheres com idade fértil no município de Goiânia. *Rev Patol Trop* Vol. 45 (1): 1-11. jan.-mar. 2016.

ANEXO I

NORMAS DO PERIÓDICO

O Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial (JBPML), continuação do Jornal Brasileiro de Patologia, de periodicidade bimestral (fevereiro, abril, junho, agosto, outubro e dezembro), é o órgão oficial da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML), da Sociedade Brasileira de Patologia (SBP) e da Sociedade Brasileira de Citopatologia (SBC). É indexado no Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS), no Periodica e no Chemical Abstracts e é integrante da base de dados Scientific Electronic Library Online (SciELO). Destina-se à publicação de trabalhos científicos que contribuam para o desenvolvimento da área de Medicina Laboratorial e aceita as seguintes categorias: artigos originais, de revisão, de atualização, experimentais, relatos de caso, comunicações breves e cartas aos editores. Os trabalhos podem ser submetidos nos idiomas português, inglês ou espanhol, mas o texto completo será publicado apenas em inglês, com resumo em português ou espanhol.

ESTRUTURA DO TEXTO

Artigos originais

São contribuições destinadas a divulgar resultados de pesquisa original que possam ser replicados. Os artigos podem conter até 4 mil palavras. A sua estrutura formal deve seguir o esquema de apresentação do texto para esse tipo de artigo: Introdução, Objetivos, Material e Método, Resultados, Discussão, Conclusões e Referências Bibliográficas.

O uso de subtítulos é recomendado, particularmente na Discussão. Implicações clínicas e limitações do estudo devem ser claramente apontadas. Sugere-se o detalhamento do tópico Material e Método. Para esses artigos, exige-se a apresentação de resumos estruturados em português e inglês, com cabeçalhos obedecendo à apresentação formal do artigo: Introdução, Objetivos, Material e Método, Resultados, Discussão, Conclusões e Referências. O Abstract (resumo em

inglês) deve ser precedido pelo título em inglês. As referências bibliográficas devem aparecer no final do texto, obedecendo às normas especificadas a seguir

Comunicações breves

São relatos curtos que devem apresentar: 1) dados de estudos preliminares com achados sugestivos que garantam uma investigação mais definitiva; 2) estudos de replicação; e 3) estudos negativos de tópicos importantes. Esses artigos devem ter até 1.500 palavras, incluir resumo não estruturado e, no máximo, uma tabela ou figura, além das referências bibliográficas.

Artigos de revisão

Serão aceitos apenas mediante convite.

Avaliações críticas sistematizadas da literatura sobre determinado assunto, devem incluir conclusões e ter até 5 mil palavras. A organização do texto, com exceção de Introdução, Discussão e Conclusão, fica a critério do autor. Para esses artigos, exige-se um resumo estruturado no idioma do texto e outro em inglês. Uma lista extensa de referências bibliográficas deve aparecer no final do texto.

Relatos de caso

São trabalhos de observações clinicolaboratoriais originais, acompanhados de análise e discussão. Devem conter até 1.500 palavras. A estrutura deve apresentar, no mínimo, os seguintes tópicos: Introdução, Relato(s) dos(s) caso(s) e Discussão. Incluir um resumo não estruturado no idioma do texto e outro em inglês.

Cartas aos editores

Inclui cartas que visam a discutir artigos recentes publicados na revista ou a relatar pesquisas originais ou achados científicos significativos. Cartas breves, com no máximo 500 palavras (incluindo referências, sem tabelas ou figuras), serão consideradas se estiver explícita a frase “para publicação”.

Referências

As referências bibliográficas devem aparecer no final do artigo, e ser numeradas sucessivamente pela ordem em que são mencionadas pela primeira vez

no texto. Devem seguir as normas do Estilo Vancouver. Os títulos dos periódicos deverão ser referidos na forma abreviada de acordo com o Index Medicus (List of Journals Indexed in Index Medicus). Se a lista de referências não seguir a norma adotada, os trabalhos serão imediatamente rejeitados, sem revisão de conteúdo.

Os autores devem certificar-se de que as referências citadas no texto constam da lista de referências com datas exatas e nomes de autores corretamente grafados. A exatidão das referências bibliográficas é de responsabilidade dos autores. Comunicações pessoais, trabalhos inéditos ou em andamento poderão ser citados, quando absolutamente necessários, mas não devem ser incluídos na lista de referências bibliográficas; apenas mencionados no texto ou em nota de rodapé. A lista de referências deve seguir o estilo dos exemplos abaixo.

Exemplos:

• **Artigos de periódicos (um só autor)**

Fry PH. O significado da anemia falciforme no contexto da 'política racial' do governo brasileiro 1995-2004. *Hist Cienc Saude Manguinhos*. 2005; 12: 347-70. PubMed PMID: 16353330.

• **Artigos de periódicos (até seis autores)**

Barbosa AJA, Queiroz DM, Mendes EN, Rocha GA, Lima GF Jr, Oliveira CA. Immunocytochemical identification of *Campylobacter pylori* in gastritis and correlation with culture. *Arch Pathol Lab Med*. 1988 May; 112(5): 523-5. PubMed PMID: 3282485.

• **Artigos de periódicos (mais de seis autores)**

Rocha GA, Queiroz DM, Mendes EN, et al. Indirect immunofluorescence determination of the frequency of anti-H. pylori antibodies in Brazilian blood donors. *Braz J Med Biol Res*. 1992; 25(7): 683-9. PubMed PMID: 1342599.

• **Artigo de periódico on-line**

Polgreen PM, Diekema DJ, Vandenberg J, et al. Risk factors for groin wound infection after femoral artery catheterization: a case-control study. *Infect Control Hosp Epidemiol* [Internet]. 2006 Jan; 27(1): 34-7. Disponível em:

<http://www.journals.uchicago.edu/ICHE/journal/issues/v27n1/2004069/2004069.web.pdf>.

• **Livros no todo (dois autores)**

Eyre HJ, Lange DP. Informed decisions: the complete book of cancer diagnosis, treatment, and recovery. 2nd ed. Atlanta: American Cancer Society; 2002.

• **Capítulos ou parte de livro editado por outro autor**

Mendeenhall WM. Treatment of head and neck cancer. In: DeVita VT Jr, Lawrence TS, Rosenberg SA, editors. Cancer: principles and practice of oncology. 9th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2011. p. 729-80.

• **Parte de livro em meio eletrônico**

São Paulo (Estado). Secretaria do Meio Ambiente. Tratados e organizações ambientais em matéria de meio ambiente. In: São Paulo (Estado). Entendendo o meio ambiente. São Paulo; 1999. v. 1. Disponível em: <http://www.bdt.org/sma/entendendo/atual/htm>.

• **Evento em meio eletrônico**

Christensen S, Oppacher F. An analysis of Koza's computational effort statistic for genetic programming. In: Foster JA, Lutton E, Miller J, Ryan C, Tettamanzi AG, editores. Genetic programming. EuroGP 2002: Proceedings of the 5th European Conference on Genetic Programming; 2002 Apr 3-5; Kinsdale, Ireland. Berlin: Springer; 2002. p. 182-91.

• **Tese ou dissertação**

Silva MAL. Estudo da identificação de haplótipos e a relação com as manifestações clínicas em pacientes com doença falciforme. 2008. [dissertação]. Programa de pós-graduação em Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2008.

• **Citações no texto**

Devem ser identificadas por algarismos arábicos (números-índice). Podem também ser acrescentados o nome do autor e o ano. As referências com mais de um autor

devem conter o sobrenome do autor seguido da expressão et al., como, por exemplo, Higashi et al.

Tabelas e figuras

As tabelas deverão ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos e encabeçadas por seu título, recomendando-se a não repetição dos mesmos dados em gráficos. Na montagem das tabelas, seguir as normas de apresentação tabular estabelecidas pelo Conselho Nacional de Estatística e publicadas pela Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 1993).

As ilustrações (gráficos, fotografias, desenhos etc.) deverão ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos e citadas como figuras. Devem ser suficientemente claras para permitir sua produção. Os gráficos deverão vir preparados em programa processador de gráficos. Deverão ser indicados os locais aproximados no texto onde as ilustrações serão intercaladas como figuras.

O SGP aceita a importação de tabelas, imagens e gráficos em arquivo eletrônico nos seguintes formatos: jpg, gif, psd, tif e png, e com resolução de no mínimo 300 dpi.

O direito à privacidade do paciente não deve ser infringido. Imagens que eventualmente permitam a identificação pessoal somente poderão ser utilizadas com consentimento por escrito do paciente ou responsável, quando da submissão do manuscrito.

Abreviações e nomes de medicamentos

As abreviações devem ser indicadas no texto no momento de sua primeira utilização. Empregar o nome genérico de medicamentos e indicar a fonte de componentes não disponíveis para prescrição.

As unidades de medida, inclusive suas abreviaturas, devem ser expressas no sistema métrico decimal e, quando o autor assim o desejar, também no Sistema Internacional (SI) entre parênteses.

ANEXO II
Aprovação do comitê de ética

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: TRIAGEM MOLECULAR DE VÍRUS EMERGENTES (DENGUE, CHICUNGUNYA, ZIKA VIRUS, MAYARO, HEPATITE E, PARVOVÍRUS B19 E PARVOVÍRUS 4) EM DOADORES DA FUNDAÇÃO HEMOCENTRO DE BRASÍLIA.

Pesquisador: Barbara Maciel Sidou Pimentel

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 62718016.0.0000.5553

Instituição Proponente: FUNDAÇÃO HEMOCENTRO DE BRASÍLIA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.896.770

Apresentação do Projeto:

No Brasil, o parvovírus B19 (B19V) encontra-se distribuído por todo o território, enquanto o Parvovírus 4 (PARV4) não possui sua distribuição bem definida. Além disso, encontram-se endêmicos em diferentes regiões do país o alfavírus Mayaro (MAYV), os recém-introduzidos vírus da febre Chikungunya (CHIKV) e Zika vírus (ZIKV) (gênero Alfavírus), o vírus da Dengue (DENV) (Flavivírus) e o vírus da hepatite

E (HEV) (Hepevírus). Estas infecções, na grande maioria, são transmitidas por vetores mosquitos dos gêneros *Aedes* spp., *Culex* spp. e *Haemagogus* spp., com a exceção do HEV que é transmitido por via fecal-oral, do B19V que é transmitido por secreção oral e verticalmente, e o PARV4 que possuem transmissão parenteral e vertical. Todos estes vírus têm grande importância para a saúde pública, devido seu potencial epidêmico, características hemorrágicas da infecção, neurovirulência, tropismo hepático, e tropismo por precursores eritrocitários. Por outro lado, uma parte significativa dos indivíduos infectados por estes vírus permanecem assintomáticos ou subclínicos, mantendo, ao mesmo tempo, altos títulos virais. Como consequência, estes indivíduos podem representar uma significativa ameaça à hemoterapia, uma vez que o vírus pode contaminar seus hemoderivados e ser transmitido para os receptores destes produtos sanguíneos. No Brasil existem poucos estudos que avaliem o risco e o impacto dos alfa-, flavi-, parvo- e hepevírus na rotina hemoterapêutica.

Objetivo da Pesquisa:

Geral:

- Investigar a presença dos arbovírus mais relevantes dos gêneros Flavivirus (Dengue 1-4 e ZIKV), Togavirus (vírus Mayaro, vírus da Febre Chikungunya), Parvovirus (B19V e PARV4) e Hepevirus (vírus da hepatite E, HEV) em doadores de sangue da Fundação Hemocentro de Brasília.

Específicos:

- Testar 2.000 amostras de plasma de doadores de sangue retroativas estocadas no Hemocentro de Brasília do ano de 2014 e 2015 para a presença de RNA viral de DENV 1-4, MAYV, CHIKV, ZIKV e HEV, e de DNA viral de PARV4, B19V

- Identificar a origem, classificação e as relações filogenéticas dos vírus detectados por meio da genotipagem e análise filogenética.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os sujeitos foram adequadamente identificados. Quanto aos riscos, os resultados obtidos no decorrer da pesquisa, não representam riscos de danos à dimensão física, psíquica, moral, intelectual, social, cultural ou espiritual dos indivíduos a serem estudados, uma vez que mesmo que sejam detectados agentes virais nas amostras dos doadores de sangue envolvidos no estudo, esses indivíduos apresentam infecções assintomáticas e autolimitadas (vírus são eliminados do organismo pelo próprio sistema imune). Como benefícios apresentados, os resultados obtidos neste estudo irão auxiliar no entendimento da patogênese da infecção assintomática destes vírus emergentes, bem como a prevalência na população estudada. Os antecedentes científicos que justificam a pesquisa foram apresentados.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

As amostras da pesquisa serão de triagem retroativa dos vírus DENV 1-4, MAYV, CHIKV, ZIKV, HEV, PARV4 e B19V e obtidas de aproximadamente 2000 doadores da Fundação Hemocentro de Brasília (armazenagem de soro ou plasma de doadores por pelo menos 6 meses). Serão incluídos amostras de doadores de sangue maiores de idade, sadios e com sorologias negativas para os vírus HTLV-1/2, HIV-1/2, HCV, HBcAg, Sífilis e tripanossomíase americana. Serão excluídos doadores com sorologia positiva para os patógenos acima referidos; não serão utilizadas amostras de doadores de sangue menores de 18 anos.

As amostras serão enviadas ao Hemocentro de Ribeirão Preto – HCFMRP/USP, Laboratório de Biologia Molecular, para as análises moleculares. Será preparado pool de amostras a partir da mistura de 50 amostras, extração de material genético DNA e RNA viral. Para a análise molecular dos vírus de RNA, será sintetizado o DNA complementar a partir do material genético total extraído e quantificado, reação de transcrição reversa e o DNA complementar estocado. Posteriormente, a identificação dos membros de cada gênero e análise filogenética.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Folha de rosto: Apresentado. Documento assinado pelo Diretor Executivo da Fundação Hemocentro de Brasília/DF.

Termo de Anuência de Coparticipação/Concordância: Apresentado. Documento assinado pelo Diretor e Chefe do Laboratório de Biologia Molecular da Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto/SP. Curriculum Vitae do(s) pesquisador(es): Apresentados. Cronograma da Pesquisa: Apresentado.

Planilha de orçamento: Apresentada.

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
----------------	---------	----------	-------	----------

Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_820280.pdf	25/11/2016 11:38:02		Aceito
Folha de Rosto	folha_de_rosto_nova.pdf	25/11/2016 11:36:43	Rodrigo Haddad	Aceito
Outros	coparticipante_nova.pdf	25/11/2016 11:36:07	Rodrigo Haddad	Aceito
Outros	concordancia_novo.pdf	25/11/2016 11:35:41	Rodrigo Haddad	Aceito
Outros	Curriculo_Svetoslav.pdf	08/11/2016 12:21:13	Rodrigo Haddad	Aceito
Outros	Curriculo_Simone.pdf	08/11/2016 12:20:58	Rodrigo Haddad	Aceito
Outros	Curriculo_Rodrigo.pdf	08/11/2016 12:20:43	Rodrigo Haddad	Aceito
Outros	Curriculo_Katia.pdf	08/11/2016	Rodrigo Haddad	Aceito

		12:20:24		
Outros	Curriculo_Evandra.pdf	08/11/2016 12:20:12	Rodrigo Haddad	Aceito
Outros	Curriculo_Dimas.pdf	08/11/2016 12:19:53	Rodrigo Haddad	Aceito
Outros	Curriculo_Barbara.pdf	08/11/2016 12:19:35	Rodrigo Haddad	Aceito
Outros	CURRICULUM_VITAE_Barbara.pdf	08/11/2016 12:18:27	Rodrigo Haddad	Aceito
Outros	parecerCEP_hemocentroBSB.pdf	08/11/2016 12:17:44	Rodrigo Haddad	Aceito
Outros	FUNDACAO_HEMOCENTRO_DE_BRASILIA_termo_de_consentimento.pdf	08/11/2016 12:15:45	Rodrigo Haddad	Aceito
Orçamento	Planilhadeorcamento.pdf	08/11/2016 12:08:59	Rodrigo Haddad	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	dispensa_TCLE_zika.pdf	08/11/2016 12:08:43	Rodrigo Haddad	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_detalhado_com_Zika.docx	08/11/2016 12:07:09	Rodrigo Haddad	Aceito

Dispensa TCLE: Apresentado.

Critérios de Inclusão e Exclusão: Definidos

Recomendações:

O pesquisador assume o compromisso de garantir o sigilo que assegure o anonimato e a privacidade dos sujeitos da pesquisa e a confidencialidade dos dados coletados. Os dados obtidos na pesquisa deverão ser utilizados exclusivamente para a finalidade prevista no seu protocolo, que só poderá iniciar após aprovação pelo CEP/FEPECS/SES/DF.

O pesquisador deverá encaminhar relatório parcial e final de acordo com o desenvolvimento do projeto da pesquisa.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

- Projeto Aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:**Situação do Parecer:**

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BRASILIA, 23 de Janeiro de 2017

Assinado por:

**Helio Bergo
(Coordenador)**