



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

**ANA MICAELLE DA SILVA MENDES**

**AVALIAÇÃO DA SOROPREVALÊNCIA DE CHIKUNGUNYA EM DOADORES DE  
SANGUE DO DISTRITO FEDERAL**

**BRASÍLIA, 2020**

ANA MICAELLE DA SILVA MENDES

**AVALIAÇÃO DA SOROPREVALÊNCIA DE CHIKUNGUNYA EM DOADORES  
DE SANGUE DO DISTRITO FEDERAL**

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

BRASÍLIA, 2020

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

Mendes, Ana Micaelle da Silva

Avaliação da soroprevalência de Chikungunya em doadores  
de sangue do Distrito Federal / Ana Micaelle da Silva  
Mendes; orientador Rodrigo Haddad. -- Brasília, 2020.

44 p.

Monografia (Graduação - Farmácia) -- Universidade de  
Brasília, 2020.

1. Doadores de sangue. 2. Chikungunya. 3.  
Soroprevalência. I. Haddad, Rodrigo, orient. II. Título.

BRASÍLIA, 2020  
ANA MICAELLE DA SILVA MENDES

**AVALIAÇÃO DA SOROPREVALÊNCIA DE CHIKUNGUNYA EM DOADORES  
DE SANGUE DO DISTRITO FEDERAL**

BANCA EXAMINADORA

---

Orientador(a): Prof. Dr. Rodrigo Haddad  
(Universidade de Brasília – Faculdade de Ceilândia – UnB/FCE)

---

Prof. Dr. Eduardo Antônio Ferreira  
(Universidade de Brasília – Faculdade de Ceilândia – UnB/FCE)

---

Prof(a). Dr. Daiani Cristina Cilião Alves Haddad  
(UNIEURO - Centro Universitário Euroamericano)

BRASÍLIA, 2020

## RESUMO

A Chikungunya é uma arbovirose que tem como principais vetores os mosquitos *Aedes aegypti* e o *Aedes Albopictus*. A doença pode apresentar um quadro clínico assintomático em cerca de 3 a 28% dos acometidos. Assim, estes doadores podem transmitir o vírus Chikungunya pela transfusão podendo causar sérios riscos ao paciente transfundido, principalmente em indivíduos imunocomprometidos. Foram analisadas 450 amostras de doadores de sangue da Fundação Hemocentro de Brasília em um período caracterizado pelo início de um pico de infecções por arboviroses (Dengue, Zika e Chikungunya) no Distrito Federal, de acordo com o Informativo Epidemiológico de Dengue do DF, fornecido pela Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal. O teste realizado para pesquisa sorológica de IgM e IgG anti Chikungunya foi o ensaio imunoenzimático ELISA. A pesquisa de anticorpos IgM e IgG anti-Chikungunya obteve como resultado uma prevalência real de 1,111% (5/450) e 0,889% (4/450) respectivamente. Apesar da baixa prevalência, é importante a introdução de protocolos de triagens dos doadores em épocas de surto evitando o risco de infecção para paciente transfundido.

**Palavras-chave:** Doadores de sangue, Chikungunya, soroprevalência

## **ABSTRACT**

Chikungunya is an arbovirus that has as main vectors the mosquitoes *Aedes aegypti* and *Aedes Albopictus*. The disease can present an asymptomatic clinical picture in about 3 to 28% of the affected ones and these can be candidates for blood donation. Then, the infected donors could transmit the Chikungunya virus through the transfusion, leading to serious risks to the recipient, mainly in immunocompromised individuals. Here, we evaluated 450 blood donors from the Hemocentro de Brasília Foundation in a period launched by the beginning of a peak of infections by arboviruses (Dengue, Zika and Chikungunya) in the Federal District, according to the Dengue Epidemiological Bulletin, from Secretariat of Health of the Federal District. The test performed for the serological investigation of IgM and IgG anti Chikungunya was the immunoenzymatic test ELISA. The search for IgM and IgG anti-Chikungunya obtained as a result a real prevalence of 1.111% (5/450) and 0.889% (4/450) respectively. Despite the low prevalence, it is important to introduce donor screening protocols in times of outbreak, avoiding the risk of infection for the transfused patient.

**Keywords:** Blood donors, Chikungunya, seroprevalence

## **LISTA DE SIGLAS**

AINES – anti-inflamatórios não esteroides

CHIKV – vírus Chikungunya

DENV – vírus da Dengue

ELISA – Ensaio de imunoabsorção enzimática

IFN - interferon do tipo I

IC – Intervalo de confiança

Ig – Imunoglobulina

IgM – Imunoglobulina M

IgG – Imunoglobulina G

PCR – reação da cadeia polimerase

ORF – Janela de leitura aberta

PRNT – teste de neutralização por redução de placas

RNA – Ácido ribonucleico

SINAN – Sistema de Informação de Agravos de Notificação

SFV – vírus da Floresta Semliki

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1.** Dados demográficos e prevalência IgG e IgM anti-Chikungunya (página 29)

## 1 SUMÁRIO

INTRODUÇÃO .....	10
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	12
O vírus .....	12
Vetores e transmissão .....	13
Aspectos clínicos .....	14
Diagnóstico .....	15
Aspectos epidemiológicos.....	16
Tratamento.....	17
Segurança Transfusional .....	17
OBJETIVOS .....	18
Objetivo geral.....	18
Objetivos específicos .....	18
JUSTIFICATIVA .....	18
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	19
ARTIGO.....	21
INTRODUÇÃO .....	22
METODOLOGIA.....	24
RESULTADOS .....	26
DISCUSSÃO .....	30
CONCLUSÃO.....	32
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	32
ANEXO I.....	34
NORMAS DO PERIÓDICO .....	34
ANEXO II.....	40
APROVAÇÃO NO CÔMITE DE ÉTICA.....	40

## INTRODUÇÃO

A Chikungunya tem como agente etiológico o vírus Chikungunya (CHIKV). Foi isolado pela primeira vez em uma cidade chamada Newala na Tanzânia, em 1953, de um paciente com um quadro sintomático de febre e artralgia. O vírus é pertencente ao gênero Alphavirus da família Togaviridae. O nome Chikungunya advém de uma palavra em Makonde, que significa “aqueles que se dobram”, remetendo a postura encurvada dos pacientes devido a intensa artralgia. Estudos de análise filogenéticas possibilitaram a identificação de quatro genótipos de CHIKV: Ásia/Caribe (CA), África Ocidental (WA), Leste/Central/Sul-africana (ECSA) e Linhagem do Oceano Índico (IOL) (MOIZÉIS et al., 2018).

O vírus Chikungunya (CHIKV) é um vírus RNA de fita simples positiva. Possui envelope viral com uma composição semelhante a bicamada lipídica da membrana da célula do hospedeiro onde ficam ancoradas as glicoproteínas virais E1 e E2. Seu genoma contém duas janelas de leitura aberta (ORFs) separadas por junção não codificante (SILVA; DERMODY, 2017). O vírus CHIKV possui cinco proteínas estruturais: E1, E2, E3, C (proteína do capsídeo), 6K e quatro proteínas não estruturais: 1 (nsP1), 2 (nsP2), 3 (nsP3) e 4 (nsP4) (MASCARENHAS et al., 2018).

Os vetores responsáveis pela transmissão da Chikungunya são o *Aedes aegypti* e o *Aedes Albopictus* que estão distribuídos pelas Américas viabilizando a disseminação do vírus. Após o mosquito adquirir o vírus, ocorre um período de incubação com duração média de dez dias tornando possível a transmissão para um hospedeiro susceptível. O indivíduo picado pelo mosquito infectado começa a apresentar sintomas após um período de incubação de três a sete dias. No entanto, foi demonstrado através de análises sorológicas que um percentual de 3% a 28% dos pacientes infectados não desenvolve sintomatologia (BRASIL, 2014).

Os sintomas mais comuns da Chikungunya incluem febre alta, dores articulares e musculares fortes, dor de cabeça e fotofobia. Sintomas graves envolvendo órgãos vitais podem se desenvolver durante a infecção por CHIKV (HARAPAN et al., 2019). Em relação a resposta imune, as células endoteliais e epiteliais, fibroblastos primários e macrófagos derivados de monócitos estão mais susceptíveis a infecção e replicação viral. Quando ocorre a infecção, o vírus CHIKV

induz a resposta inicial estimulando de maneira indireta a produção de interferon do tipo I (IFN) através da ativação de células não hematopoiéticas, dentre elas, principalmente os fibroblastos, numa tentativa de remover o vírus do hospedeiro (GANESAN; DUAN; REID, 2017). Após o início da doença, os anticorpos IgM anti-Chikungunya podem ser detectados em poucos dias, até a segunda semana da doença, coincidindo com um aumento de IgG anti-Chikungunya durante a fase tardia da infecção aguda e permanecendo na fase crônica (FOX; DIAMOND, 2017).

Para fins de diagnóstico de Chikungunya são realizados os testes laboratoriais: isolamento do vírus, reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) e sorologia. O ensaio sorológico que é feito, é o *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA), onde se busca a avaliar se há presença de imunoglobulina M (IgM) e imunoglobulina G (IgG). A utilização de métodos que detectem IgM anti-Chikungunya é muito vantajosa visto que sua produção ocorre dias após o início dos sintomas. O aparecimento de IgG é mais tardio durante a infecção, menos específico que IgM e se mantém detectável por bastante tempo depois do desaparecimento de IgM da amostra de sangue do paciente (BRASIL, 2014).

No processo de transfusão sanguínea é passível de ocorrer transmissão de agentes infectocontagiosos para o receptor. Para garantir que haja segurança dos produtos sanguíneos, é imprescindível que sejam seguidos protocolos que desenvolvam qualidade nas transfusões de sangue. Testes de triagem laboratorial minimizam a chance de ocorrência de transmissão de doenças via transfusão devendo possuir alta sensibilidade e, se possível, alta especificidade oferecendo segurança para a triagem (CARRAZZONE, 2004). Os pacientes portadores de CHIKV assintomáticos representam um risco para a garantia da segurança em doações de sangue, visto que não são realizados testes de triagem que avaliem o perfil sorológico de Chikungunya em doadores, diante disso, é objetivo desta pesquisa realizar a análise de amostras do soro de doadores da Fundação Hemocentro de Brasília avaliando a presença de IgM e IgG anti-Chikungunya buscando demonstrar a relevância de se implementar protocolos que incluam esse tipo de avaliação sorológica de Chikungunya em bancos de sangue promovendo uma maior segurança transfusional para o receptor.

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### O vírus

Existem quatro genótipos conhecidos do vírus CHIKV: Ásia/Caribe (CA), África Ocidental (WA), Leste/Central/Sul-africana (ECSA) e Linhagem do Oceano Índico (IOL) (MOIZÉIS et al., 2018).

O arbovírus CHIKV é o agente etiológico da Chikungunya e pertence ao gênero Alphavirus da família Togaviridae. É um vírus RNA de fita simples positiva. CHIKV é pequeno, com um diâmetro de aproximadamente 70 nm. Seu genoma tem aproximadamente 11.800 nucleotídeos, contendo duas janelas de leitura aberta (ORFs) separadas por junção não codificante e regiões 5' e 3' não traduzidas. A DNA replicase é constituída por quatro proteínas não estruturais: 1 (nsP1), 2 (nsP2), 3 (nsP3) e 4 (nsP4). O vírion CHIKV é constituído por um envelope de bicamada lipídica associado ao nucleocapsídeo que recobre o DNA genômico. Possui duas proteínas estruturais, E1 e E2, que ficam ancoradas no envelope viral. A ligação mediada por E2 permite que as partículas ligadas ao receptor sejam internalizadas via endocitose. Ocorre uma acidificação do endossoma promovendo alterações conformacionais nas glicoproteínas virais levando a exposição do peptídeo de fusão de E1, permitindo a fusão do envelope com a membrana do endossoma, liberando o nucleocapsídeo no citoplasma da célula do hospedeiro. O RNA viral de CHIKV é traduzido diretamente em uma poliproteína precursora que irá sofrer clivagens por proteases virais dando origem a quatro proteínas não estruturais que irão permitir a transcrição do RNA viral em uma fita de RNA de polaridade negativa servindo de molde de replicação para a síntese do RNA genômico e subgenômico, dando origem as proteínas estruturais. (SILVA; DERMODY, 2017).

Após a inoculação do vírus no hospedeiro pela picada do mosquito, o CHIKV geralmente atinge o tecido subcutâneo sendo fagocitado por células dendríticas que migram para os linfonodos, onde apresentam o antígeno viral para o sistema imune. A resposta imune inata é majoritariamente baseada em interferon limitando a disseminação do vírus e constituindo a primeira barreira de defesa contra a infecção por CHIKV. O vírus se replica em monócitos e macrófagos e interage com leucócitos sanguíneos também, induzindo a produção de interferon alfa e outras citocinas. As

células imunes infectadas entram na corrente sanguínea levando o vírus até os órgãos-alvo como fígado, músculos, articulações e o cérebro. A migração dos monócitos e macrófagos para os tecidos sinoviais contribuem para a inflamação das articulações e isso pode ser a explicação da persistência de artrite mesmo sem viremia. A artropatia crônica pode estar relacionada também com quantidades elevadas de citocinas séricas Th1. A resposta inflamatória desregulada na fase aguda ou coalescente pode ser o motivo do desenvolvimento da forma crônica da Chikungunya sendo que os mecanismos regulatórios que inibem uma resposta inflamatória articular mais exacerbada podem prevenir a doença (FIGUEIREDO; FIGUEIREDO, 2014).

### **Vetores e transmissão**

Os mosquitos *Aedes aegypti* e o *Aedes Albopictus* são os principais vetores da febre Chikungunya e estão distribuídos amplamente tornando todas as regiões possíveis locais propagação do vírus (BRASIL, 2014). A transmissão da Chikungunya ocorre através da picada de fêmeas dos mosquitos vetores infectados com CHIKV. Podem ocorrer casos de transmissão vertical, principalmente, no período de intraparto em gestantes contaminadas levando a casos de infecção neonatal grave. Embora seja raro, é passível de acontecer transmissão via transfusão sanguínea (AZEVEDO; ALVES, 2017). O principal reservatório do CHIKV são os humanos durante períodos epidêmicos e nos interepidêmicos, vertebrados são potenciais reservatórios, como primatas não humanos, roedores, pássaros e outros pequenos mamíferos. Após o mosquito contrair o vírus, ocorre um período de incubação extrínseco de aproximadamente dez dias, onde o mosquito irá adquirir a capacidade de transmissão para hospedeiros susceptíveis. Geralmente, após o hospedeiro humano ser picado pelo mosquito infectado, os sintomas começam a emergir depois de um período de incubação intrínseco aproximado de 3 a 7 dias, podendo variar de 1 a 12 dias (BRASIL, 2014).

## Aspectos clínicos

A Chikungunya pode se manifestar de forma aguda, subaguda ou crônica.

A fase aguda geralmente tem uma duração de 3 a 10 dias, tem o seu início abrupto com sintomas como febre alta e dor articular intensa. Além disso, sintomas inespecíficos como cefaleia, mialgia, conjuntivite, sintomas gastrointestinais, erupções cutâneas, dor nas costas podem estar presentes nessa fase também. A artralgia é o sintoma mais associado a infecção por CHIKV incapacitando o paciente de realizar atividades simples devido a presença de dor intensa (AZEVEDO; ALVES, 2017).

Na fase subaguda há uma piora ou manutenção do quadro de artralgia intensa e a febre desaparece, essa fase tem uma duração de até três meses. São relatados sintomas depressivos e desenvolvimento da síndrome de Raynaud, um distúrbio vascular periférico, na fase subaguda. A fase crônica da doença é caracterizada pela continuidade da artralgia após três meses podendo durar até três anos e tem maior acometimento em indivíduos com mais de 45 anos que tiveram lesões graves na fase aguda ou problemas articulares preexistentes. Alguns pacientes tendem a desenvolver artropatia aparentando artrite reumatóide ou psoriática (AZEVEDO; ALVES, 2017).

Em alguns casos, podem existir manifestações atípicas da Chikungunya causadas por ação direta do vírus, resposta imune intrínseca de cada indivíduo ou pela toxicidade de medicamentos, sendo mais presentes em grupos específicos, como a meningoencefalite e dermatose vesículo-bolhosa em crianças e bebês (BRASIL, 2014).

A infecção por vírus CHIKV pode ocorrer sem a presença de sintomas. Aproximadamente 3% a 28% dos pacientes infectados pelo vírus Chikungunya apresentarão a forma assintomática da doença (BRASIL, 2014). Um estudo prospectivo realizado nas Filipinas em 2015, relatou 82% de infecções assintomáticas enquanto outro estudo de coorte feito em Manágua, Nicarágua em 2016, obteve como resultado 58,3% dos pacientes com a forma assintomática da doença (CUNHA; TRINTA, 2017).

## Diagnóstico

A associação de febre aguda e artralgia em locais endêmicos é altamente preditivo no diagnóstico clínico de Chikungunya, no entanto, os sintomas da fase aguda da doença podem ocorrer em outras enfermidades necessitando da realização de um diagnóstico diferencial, principalmente com a Dengue (DENV). Devido a coexistência do vírus ZIKV em períodos endêmicos de arboviroses, a Chikungunya deve ser diferenciada de Zika também. Outras doenças como Malária, Leptospirose e algumas doenças reumáticas crônicas podem apresentar sintomatologia semelhante a febre Chikungunya em sua fase inicial entrando no diagnóstico diferencial. Outros arbovírus além do DENV também possuem o potencial de causar um quadro sintomático similar com a infecção por CHIKV na fase aguda, como o Ross River, Barmah Forest, O'nyong – nyong, grupo Sindbis e Mayaro, mas, apenas o Mayaro (MAYV) é encontrado no Brasil, o agente etiológico da febre do Mayaro que tem ocorrência predominante em áreas silvestres (MARQUES et al., 2017).

Diversos testes laboratoriais estão disponíveis para o diagnóstico de Chikungunya utilizando o soro ou o plasma para detectar o vírus, o ácido nucléico viral ou imunoglobulinas específicas contra o vírus e anticorpos neutralizantes (VAIRO et al., 2019). Os principais testes realizados são o isolamento do vírus, reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) e sorologia. As amostras que são coletadas na primeira semana de infecção devem ser testadas pelo método virológico e sorológico (BRASIL, 2014). Devido à alta carga viral durante a infecção, o RNA viral do CHIKV pode ser detectado durante os primeiros 5 a 8 dias da doença usando testes comerciais com alta sensibilidade e especificidade. Os anticorpos IgM geralmente são desenvolvidos no final da primeira semana da doença e para ter certeza do resultado negativo no diagnóstico, as amostras na fase convalescente devem ser coletadas em pacientes que tiveram suas amostras negativadas na fase aguda. O diagnóstico sorológico de CHIKV é feito através da detecção de IgM específica para CHIKV em amostras de soro por um período de 5 a 7 dias após o

início dos sintomas ou demonstrando uma soroconversão caracterizada pelo aumento de quatro vezes o título de anticorpos entre a fase aguda e convalescente. Os anticorpos IgM podem persistir até um ano, principalmente em pacientes que persistem com a artralgia por muito tempo, mas normalmente se mantêm por 3 a 4 meses. O IgG anti Chikungunya pode ser detectado até muitos anos após a infecção inicial (VAIRO et al., 2019).

Para o diagnóstico sorológico, a amostra de soro é utilizada em *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) e o teste de neutralização por redução de placas (PRNT). Foi relatada a ocorrência de reação cruzada no ELISA entre membros do sorogrupo do vírus da Floresta Semliki (SFV), sendo assim, o PRNT é importante para confirmar os achados de ELISA e descartar a possibilidade de reatividade cruzada e teste falso positivo. O soro da fase aguda deve ser coletado imediatamente após o surgimento da doença e o soro da fase convalescente entre 10 e 14 dias após (BRASIL, 2014).

### **Aspectos epidemiológicos**

O vírus Chikungunya foi isolado e reconhecido como patógeno humano pela primeira vez na Tanzânia em 1952-1953, embora tenham sido descritos casos no início de 1770 com sintomatologia sugestiva de Chikungunya. (SILVA; DERMODY, 2017). Em dezembro de 2013, foram relatadas infecções pelo genótipo asiático de CHIKV, no Caribe, estabelecendo o ciclo de transmissão do vírus nas Américas. No Brasil, o primeiro caso de transmissão autóctone foi confirmado no Amapá, em 2014 (NUNES et al., 2015).

Até a semana epidemiológica 34, de acordo com o boletim epidemiológico nº 22 de setembro de 2019, fornecido pelo Ministério da Saúde, foram registrados 110.627 casos prováveis de Chikungunya no Brasil, sendo que em 2018, no mesmo período foram registrados 76.742 casos prováveis no país. A maior incidência de casos foi encontrada nas regiões sudeste e nordeste, respectivamente. No Distrito Federal, de acordo com o Informativo Epidemiológico de Dengue, Chikungunya, Febre Amarela e Zika nº 27 de outubro de 2019, até a semana epidemiológica 39, foram registrados 257 casos notificados de Chikungunya, onde (91,4%) são

residentes no Distrito Federal. Desses, foram confirmados 36 casos de febre Chikungunya representando uma variação de 300% de casos em relação ao ano passado. Houve um óbito por Chikungunya, confirmado laboratorialmente, em residente na Região de Saúde Central (Asa Sul).

## **Tratamento**

Não existe tratamento antiviral eficaz para Chikungunya, sendo assim, a terapia é exclusivamente de suporte e sintomática. O tratamento visa controlar febre e dor, tratar a desidratação, promover um suporte aos órgãos e prevenir possíveis complicações iatrogênicas bem como comprometimentos funcionais. O acetaminofeno é a droga de escolha para analgesia e o uso de anti-inflamatórios não esteroides (AINES) e salicilatos não é recomendado nos primeiros quatorze dias após o início da doença devido ao risco de sangramento associado assim como a síndrome de Reye causada pela aspirina. O manejo na fase crônica se dá principalmente pelo uso de analgésicos, drogas neuropáticas e AINES (VAIRO et al., 2019).

## **Segurança Transfusional**

Atualmente, a hemoterapia tem buscado novas ações e estratégias que possam diminuir os possíveis riscos em uma transfusão de sangue. Para que ocorra uma infecção no receptor susceptível é necessário apenas que o patógeno esteja no sangue do doador e não seja detectado em testes de triagem sorológica. A segurança transfusional é caracterizada por um conjunto de medidas quantitativas e qualitativas que quando adotadas propiciam um menor risco aos doadores e receptores de sangue. A triagem sorológica deve contar com testes que forneçam alta sensibilidade e, se possível, alta especificidade. O método ELISA é o mais utilizado nos serviços hemoterápicos por promover uma boa reprodutibilidade, é facilmente executado e há a possibilidade de automação (CARRAZZONE, 2004). Sabendo que a Chikungunya pode ter uma apresentação assintomática, considera-se um risco para a transfusão sanguínea segura, visto que um doador pode estar

infectado e o sangue contaminado por CHIKV ao ser transfundido em um receptor susceptível possivelmente irá desencadear a infecção, sendo assim, para se ter um maior controle e garantia da qualidade dos produtos de hemoterapia fica demonstrada a relevância da inclusão em protocolos de triagem sanguínea em hemocentros de testes que avaliem a soroprevalência de Chikungunya nos indivíduos doadores.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo geral**

Analisar a soroprevalência de IgM e IgG Anti-Chikungunya em amostras de doadores de sangue atendidos pela Fundação Hemocentro de Brasília.

### **Objetivos específicos**

- Realizar o levantamento de dados epidemiológicos buscando o período com maior incidência de casos prováveis de Chikungunya;
- Determinar o número de doadores com amostras positivas para IgM e IgG Anti-Chikungunya;
- Avaliar o aparecimento de IgM e IgG Anti-Chikungunya nos doadores de sangue de acordo com o aumento do número de casos notificados;
- Demonstrar a relevância da implementação de testes IgM e IgG Anti-Chikungunya em bancos de sangue;

## **JUSTIFICATIVA**

Todas as doações de sangue são submetidas a alguns testes laboratoriais em busca de determinados patógenos que podem ser transmitidos pela transfusão sanguínea visando garantir segurança para o paciente transfundido. A Chikungunya não é uma das doenças que são testadas na triagem sanguínea. Considerando que a infecção pelo vírus Chikungunya pode permanecer assintomática e que a doação

poderá ocorrer em um período onde o doador pode apresentar alta carga viral, é importante a realização de testes que visam garantir uma maior qualidade do sangue que está sendo transfundido tanto para pacientes imunocompetentes, mas, sobretudo para receptores imunocomprometidos e possuem maior chance de desenvolvimento dos sintomas relacionados à infecção por esse vírus. A pesquisa de IgM e IgG anti-Chikungunya nos permitirá avaliar a circulação desse vírus em indivíduos que se apresentam como voluntários para a doação de sangue, fornecendo informações importantes para o desenvolvimento de estratégias de prevenção, se necessário.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANVISA. Dispõe sobre as Boas Práticas no Ciclo do Sangue. RDC nº 34, de 11 de junho de 2014.
- AZEVEDO, João de; ALVES, Paola de Araujo Sardenberg. Análise dos aspectos clínicos e manejo da infecção pelo vírus Chikungunya. **Revista Científica da Fmc**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 3, p.54-55, dez. 2017.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Preparação e resposta à introdução do vírus Chikungunya no Brasil. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico nº 22. V. 50, set. 2019
- Brasil. Secretaria de Saúde do Distrito Federal. Subsecretaria de Vigilância à Saúde. Informativo Epidemiológico de Dengue, Chikungunya e Zika, ano 14, nº 26, setembro de 2019.
- CARRAZZONE CF, Brito AM, Gomes YM. Importância da avaliação sorológica pré-transfusional em receptores de sangue. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2004; 26(2):93-8.
- CUNHA, Rivaldo V da; TRINTA, Karen S. Chikungunya virus: clinical aspects and treatment - A Review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 112, n. 8, p.523-531, ago. 2017.

- FIGUEIREDO, Mario Luis Garcia de; FIGUEIREDO, Luiz Tadeu Moraes. Emerging alphaviruses in the Americas: Chikungunya and Mayaro. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 47, n. 6, p.677-683, dez. 2014.
- FOX, J. M ; DIAMOND, M. S. Immune-mediated protection and pathogenesis of chikungunya virus. *HHS Public Access*. v. 21, n. 2, p. 129-139, 2017.
- GANESAN, Vaishnavi; DUAN, Bin; REID, St. Chikungunya Virus: Pathophysiology, Mechanism, and Modeling. *Viruses*, v. 9, n. 12, p.368-382, 1 dez. 2017.
- HARAPAN, Harapan et al. Chikungunya virus infection in Indonesia: a systematic review and evolutionary analysis. *Bmc Infectious Diseases*, v. 19, n. 1, 12 mar. 2019.
- MARQUES, Claudia Diniz Lopes et al. Recomendações da Sociedade Brasileira de Reumatologia para diagnóstico e tratamento da febre chikungunya. Parte 1 – Diagnóstico e situações especiais. *Revista Brasileira de Reumatologia*, v. 57, p.421-437, 2017.
- MASCARENHAS, Mariola et al. A scoping review of published literature on chikungunya virus. *Plos One*, v. 13, n. 11, 29 nov. 2018.
- MOIZÉIS, Raíza Nara Cunha et al. Chikungunya fever: a threat to global public health. *Pathogens And Global Health*, v. 112, n. 4, p.182-194, 19 maio 2018.
- NUNES, Marcio Roberto Teixeira et al. Emergence and potential for spread of Chikungunya virus in Brazil. *Bmc Medicine*, v. 13, n. 1, p.102-102, 30 abr. 2015. Springer Nature.
- SILVA, Laurie A.; DERMODY, Terence S.. Chikungunya virus: epidemiology, replication, disease mechanisms, and prospective intervention strategies. *Journal Of Clinical Investigation*, v. 127, n. 3, p.737-749, 1 mar. 2017.
- VAIRO, Francesco et al. Chikungunya. *Infectious Disease Clinics Of North America*, [s.l.], v. 33, n. 4, p.1003-1025, dez. 2019.

**ARTIGO**

**Título:** Avaliação da soroprevalência de chikungunya em doadores de sangue do Distrito Federal

**ABSTRACT:** Chikungunya is an arbovirus that has as main vectors the mosquitoes *Aedes aegypti* and *Aedes Albopictus*. The disease can present an asymptomatic clinical picture in about 3 to 28% of the affected ones and these can be candidates for blood donation. Then, the infected donors could transmit the Chikungunya virus through the transfusion, leading to serious risks to the recipient, mainly in immunocompromised individuals. Here, we evaluated 450 blood donors from the Hemocentro de Brasília Foundation in a period launched by the beginning of a peak of infections by arboviruses (Dengue, Zika and Chikungunya) in the Federal District, according to the Dengue Epidemiological Bulletin, from Secretariat of Health of the Federal District. The test performed for the serological investigation of IgM and IgG anti Chikungunya was the immunoenzymatic test ELISA. The search for IgM and IgG anti-Chikungunya obtained as a result a real prevalence of 1.111% (5/450) and 0.889% (4/450) respectively. Despite the low prevalence, it is important to introduce donor screening protocols in times of outbreak, avoiding the risk of infection for the transfused patient.

**RESUMO:** A Chikungunya é uma arbovirose que tem como principais vetores os mosquitos *Aedes aegypti* e o *Aedes Albopictus*. A doença pode apresentar um quadro clínico assintomático em cerca de 3 a 28% dos acometidos. Assim, estes doadores podem transmitir o vírus Chikungunya pela transfusão podendo causar sérios riscos ao paciente transfundido, principalmente em indivíduos imunocomprometidos. Foram analisadas 450 amostras de doadores de sangue da

Fundação Hemocentro de Brasília em um período caracterizado pelo início de um pico de infecções por arboviroses (Dengue, Zika e Chikungunya) no Distrito Federal, de acordo com o Informativo Epidemiológico de Dengue do DF, fornecido pela Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal. O teste realizado para pesquisa sorológica de IgM e IgG anti-Chikungunya foi o ensaio imunoenzimático ELISA. A pesquisa de anticorpos IgM e IgG anti-Chikungunya obteve como resultado uma prevalência real de 1,111% (5/450) e 0,889% (4/450) respectivamente. Apesar da baixa prevalência, é importante a introdução de protocolos de triagens dos doadores em épocas de surto evitando o risco de infecção para paciente transfundido.

## INTRODUÇÃO

A Chikungunya tem como agente etiológico o vírus Chikungunya (CHIKV). Foi isolado pela primeira em uma cidade chamada Newala na Tanzânia, em 1953, de um paciente com um quadro sintomático de febre e artralgia. O vírus é pertencente ao gênero Alphavirus da família Togaviridae. O nome Chikungunya advém de uma palavra em Makonde, que significa “aqueles que se dobram”, remetendo a postura encurvada dos pacientes devido a intensa artralgia. Estudos de análises filogenéticas possibilitaram a identificação de quatro genótipos de CHIKV: Ásia/Caribe (CA), África Ocidental (WA), Leste/Central/Sul-africana (ECSA) e Linhagem do Oceano Índico (IOL) (MOIZÉIS et al., 2018).

O vírus Chikungunya é um vírus RNA positivo de fita simples. Possui envelope viral com uma composição semelhante a bicamada lipídica da membrana da célula do hospedeiro onde ficam ancoradas as glicoproteínas virais E1 e E2. Seu genoma contém duas janelas de leitura aberta (ORFs) separadas por junção não codificante (SILVA; DERMODY, 2017). O vírus CHIKV possui cinco proteínas estruturais: E1, E2, E3, C (proteína do capsídeo), 6K e quatro proteínas não estruturais: 1 (nsP1), 2 (nsP2), 3 (nsP3) e 4 (nsP4) (MASCARENHAS et al., 2018).

Os vetores responsáveis pela transmissão da Chikungunya são o *Aedes aegypti* e o *Aedes Albopictus* que estão distribuídos pelas Américas viabilizando a disseminação do vírus. Após o mosquito adquirir o vírus, ocorre um período de incubação com duração média de dez dias tornando possível a transmissão para um hospedeiro susceptível. O indivíduo picado pelo mosquito infectado começa a

apresentar sintomas após um período de incubação de três a sete dias. No entanto, foi demonstrado através de análises sorológicas que um percentual de 3% a 28% dos pacientes infectados não desenvolve sintomatologia (BRASIL, 2014).

Os sintomas mais comuns da Chikungunya incluem febre alta, dores articulares e musculares fortes, dor de cabeça e fotofobia. Sintomas graves envolvendo órgãos vitais podem se desenvolver durante a infecção por CHIKV (HARAPAN et al., 2019). Em relação a resposta imune, as células endoteliais e epiteliais, fibroblastos primários e macrófagos derivados de monócitos estão mais susceptíveis a infecção e replicação viral. Quando ocorre a infecção, o vírus CHIKV induz a resposta inicial estimulando de maneira indireta a produção de interferon do tipo I (IFN) através da ativação de células não hematopoiéticas, dentre elas, principalmente os fibroblastos, numa tentativa de remover o vírus do hospedeiro (GANESAN; DUAN; REID, 2017). Após o início da doença, os anticorpos IgM anti-Chikungunya podem ser detectados em poucos dias, até a segunda semana da doença, coincidindo com um aumento de IgG anti-Chikungunya durante a fase tardia da infecção aguda e permanecendo na fase crônica (FOX; DIAMOND, 2017).

Para fins de diagnóstico de Chikungunya são realizados os testes laboratoriais: isolamento do vírus, reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) e sorologia. O ensaio sorológico que é feito, é o *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA), onde se busca a avaliar se há presença de imunoglobulina M (IgM) e imunoglobulina G (IgG). A utilização de métodos que detectem IgM anti-Chikungunya é muito vantajosa visto que sua produção ocorre dias após o início dos sintomas. O aparecimento de IgG é mais tardio durante a infecção, menos específico que IgM e se mantém detectável por bastante tempo depois do desaparecimento de IgM da amostra de sangue do paciente (BRASIL, 2014).

No processo de transfusão sanguínea é passível de ocorrer transmissão de agentes infectocontagiosos para o receptor. Para garantir que haja segurança dos produtos sanguíneos, é imprescindível que sejam seguidos protocolos que desenvolvam qualidade nas transfusões de sangue. Testes de triagem laboratorial minimizam a chance de ocorrência de transmissão de doenças via transfusão devendo possuir alta sensibilidade e, se possível, alta especificidade oferecendo segurança para a triagem (CARRAZZONE, 2004). Os pacientes portadores de

CHIKV assintomáticos representam um risco para a garantia da segurança em doações de sangue, visto que não são realizados testes de triagem que avaliem o perfil sorológico de Chikungunya em doadores, diante disso, é objetivo desta pesquisa realizar a análise de amostras do soro de doadores da Fundação Hemocentro de Brasília avaliando a presença de IgM e IgG anti-Chikungunya buscando demonstrar a relevância de se implementar protocolos que incluam esse tipo de avaliação sorológica de Chikungunya em bancos de sangue promovendo uma maior segurança transfusional para o receptor.

## **METODOLOGIA**

### *Análise dos dados de notificação de casos de Chikungunya*

O período de estudo foi determinado a partir da análise dos dados de notificação de casos de Chikungunya do período de janeiro de 2018 a outubro de 2019. Os dados foram coletados dos Informativos Epidemiológicos de Dengue, Chikungunya e Zika da Secretaria do Estado de Saúde do Distrito Federal que utilizam dados do SINAN (Sistema de Informação de Agravos de Notificação). Assim, o período em que ocorreu um número aumentado de casos foi escolhido.

### *Cálculo amostral*

No intervalo de tempo selecionado para análise houveram 13.710 doações voluntárias na Fundação Hemocentro de Brasília. A calculadora <https://pt.surveymonkey.com/mp/sample-size-calculator/> foi utilizada para fazer o cálculo amostral. Como parâmetros, adotou-se um intervalo de confiança de 95% e uma margem de erro de 5%.

### *Coleta das amostras*

Foram obtidas 450 amostras de soro dos pacientes doadores de sangue da fundação Hemocentro de Brasília. As amostras originam-se do banco de retrovigilância onde é determinado pela RDC nº 34, de 11 de junho de 2014 que permaneçam guardadas por um período mínimo de seis meses, após esse tempo, as amostras podem ser descartadas. No período de descarte foram adquiridas as

amostras de soro que foram selecionadas para análise. O presente estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa em seres humanos (protocolo CAAE: 62718016.0.3001.5440)

#### *Ensaio imunoenzimático (ELISA)*

Para a análise sorológica das amostras de soro utilizou-se o kit da *Euroimmun Anti-Chikungunya Virus ELISA (IgG)* de lote nº E170206CE para a detecção de IgG e *Anti-Vírus Chikungunya ELISA (IgM)* de lote nº E151119BN para detecção de IgM. As instruções e especificações dos testes foram todas cumpridas. Para quantificar a absorbância dos testes, foi realizada a leitura em um comprimento de onda de 450 a 620nm. O aparelho espectrofotômetro para a leitura de ELISA utilizado foi o DR-200BS-NM-BI do fabricante *Kasuki*. As amostras com resultado sugestivo de erro serão analisadas novamente.

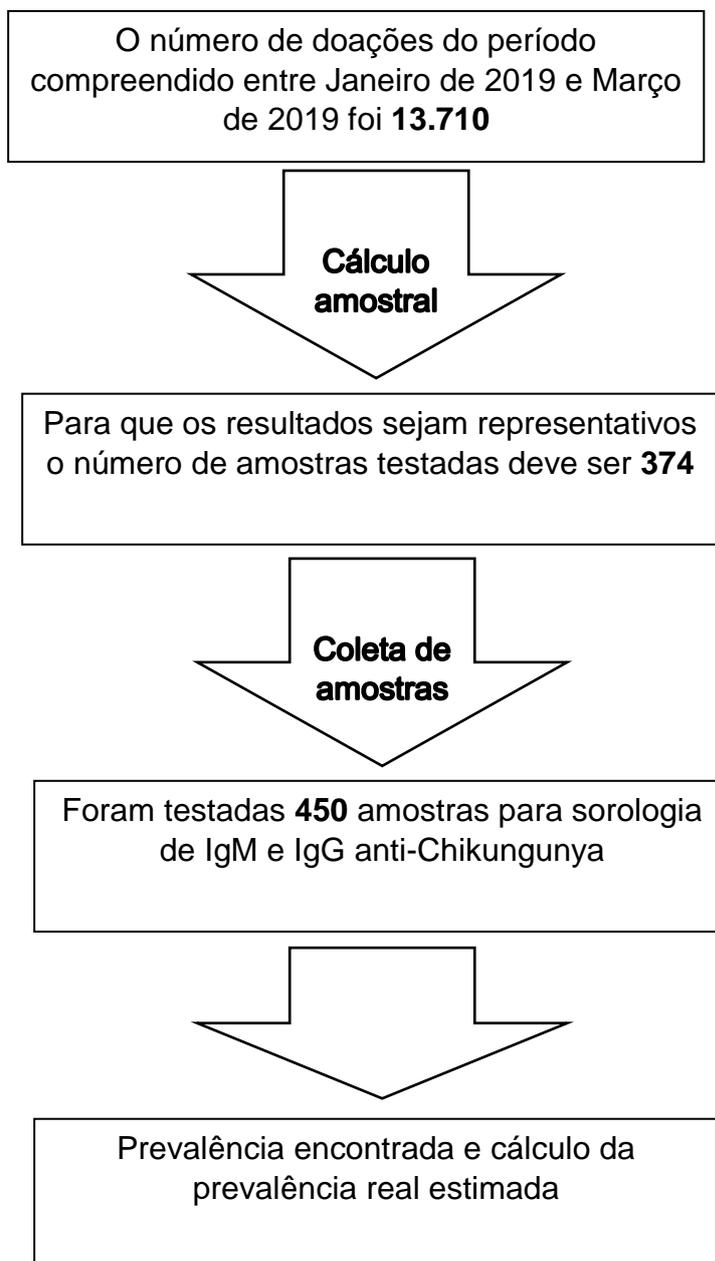
#### *Cálculo de prevalência e prevalência real estimada*

A ferramenta online <http://www.winepi.net> foi utilizada para calcular a prevalência de anti-Chikungunya IgG encontrada em nosso estudo. Como a sensibilidade e especificidade do método são de 100% para esse marcador, calculamos também a prevalência real, considerando o número total de doações de sangue obtidas no período estudado (13.710 doadores de sangue). Para o marcador anti-Chikungunya IgM a mesma ferramenta foi utilizada para calcular a prevalência e a prevalência real estimada considerando o número total de doações de sangue obtidas no período estudado (13.710 doadores de sangue). Para isso, levamos em consideração uma especificidade de 99,67% e uma sensibilidade de 96,23% para os testes de anti-Chikungunya IgM, de acordo com informações do kit. Para todos os cálculos foi considerado um intervalo de confiança de 95%.

## RESULTADOS

As amostras analisadas basearam-se nos dados dos Informativos Epidemiológicos de Dengue, Chikungunya e Zika da Secretaria do Estado de Saúde do Distrito Federal, durante os anos de 2018 a 2019. As amostras de soro testadas compreenderam o período de Janeiro de 2019 à Março de 2019 onde configura o início do pico de infecções por Dengue, Chikungunya e Zika no Distrito Federal.





**Figura 2.** Estratégia experimental. Após identificação do período com maior número de casos notificados de Chikungunya, foi realizado o cálculo amostral, a coleta das amostras, a detecção e determinação da prevalência de IgM e IgG anti-Chikungunya.

O cálculo estimou um total de 374 amostras a serem testadas para obtenção de resultados representativos. Optou-se por testar 450 amostras. Foram testadas 256 amostras de soro do sexo masculino (56,8%) e 194 amostras de soro sexo feminino (43,1%).

A prevalência real de IgG anti-Chikungunya na população estudada foi de 0,889% (4/450). Considerando a especificidade e sensibilidade do teste de IgG, e caso todos os doadores fossem testados, a prevalência estaria entre 0,036% e 1,742% (IC 95%).

Para IgM anti-Chikungunya, foi encontrada uma prevalência aparente de 1,111% (5/450), podendo variar de 0,159% a 2,06% (IC 95%). Considerando a especificidade e sensibilidade do teste de IgM utilizado e caso todos os doadores fossem testados, a prevalência real seria de 0,815%, podendo este resultado variar de 0,000% a 1,631% (IC 95%) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Dados demográficos e prevalência IgG e IgM anti-Chikungunya

	Homens	Mulheres	Total	Prevalência real estimada (IC: 95%)**
N	256 (56,8%)	194 (43,16%)	450 (100%)	-----
Média de idade (+- DP)	33,33 (+-10,2)	30,33 (+-9,3)	34,36 (+- 10,1)	-----
IgM+	2 (0,78%)	3 (1,54%)	5 (1,111%)*	0,815% (0,000% - 1,631%)
IgG+	2 (0,78%)	2 (1,03%)	4 (0,889%)*	0,889% (0,036% -1,742%)

DP: Desvio Padrão; IC: intervalo de confiança.

\*Prevalência aparente encontrada neste estudo.

\*\* Prevalência esperada considerando 13.710 doadores de sangue.

## DISCUSSÃO

De acordo com os dados dos Informativos Epidemiológicos de Dengue, Chikungunya e Zika da Secretaria do Estado de Saúde do Distrito Federal, nos meses iniciais dos anos de 2015 a 2019 ocorreram surtos dessas arboviroses na região. A partir da análise dessas informações, optou-se por realizar a pesquisa sorológica nos meses onde se inicia o surto buscando avaliar o aparecimento de IgM e IgG anti-Chikungunya nos doadores de sangue de acordo com o aumento do número de casos notificados.

Foi obtido como resultado da pesquisa sorológica IgG e IgM anti-Chikungunya uma prevalência real de 0,889% (4/450) para IgG e de 1,111% (5/450) para IgM. Outros estudos realizados em doadores de sangue mostram prevalência baixa como encontrada em nosso estudo. Um estudo realizado no Amapá ao analisar soro de doadores de sangue constatou uma soropositividade para IgG anti-Chikungunya de 0,2% (SLAVOV et al., 2018). Em uma pesquisa realizada em Porto Rico, em 2014, foram coletadas amostras de doadores de sangue durante e após uma epidemia de Chikungunya evidenciando a presença de IgM e IgG anti-Chikungunya em amostras de soro dos doadores. (SIMMONS et al., 2016). Foi determinada uma prevalência de 0,033% de CHIKV (IC 95%) na população doadora analisada em um estudo realizado na Tailândia, podendo variar de 0,004 a 0,120%. (STANLEY et al., 2020). A literatura relata vários casos de pacientes com sorologia positiva IgG e IgM para Chikungunya e embora a prevalência seja baixa ainda assim representa um risco, afinal o receptor da doação pode ser um imunocomprometido e vir a desenvolver uma forma grave da doença.

Por outro lado, há estudos que apresentam prevalência maior de IgG em doadores de sangue. Uma pesquisa realizada em Myanmar em 2019 durante um surto de Chikungunya apresentou como resultado uma soropositividade 27,0% (IC 95%: 23,2% - 31,1%) de IgG e 2,8% de IgM (IC 95%: 1,7% - 4,6%) em uma população de 500 doadores e foi constatado que nenhum dos 16 pacientes (3,2%, IC 95%: 2,0% - 5,1%) que estavam com a infecção apresentaram sintomas demonstrando que apenas questionamentos sobre histórico de infecções não é suficiente para impedir a transmissão via

transfusão sanguínea. (KYAW et al., 2020). Essa maior prevalência pode ser resultado da somatória de diferentes surtos, o que leva à maior exposição da população ao vírus e conseqüentemente maior prevalência de IgG.

Com base nos dados de Appassakij et al. (2016) estimou-se que para uma população de 47% assintomáticos, a triagem para possíveis doadores em risco de infecção seria 83,2% (IC 95%: 65,3% - 100,0%) eficaz na redução do potencial de risco na transfusão. A estratégia de observar apenas os sintomas da Chikungunya como triagem também foi calculada prevendo ser apenas 52,5% (IC 95%: 38,3% - 66,7%) eficaz.

Existem fatores que determinam o impacto do CHIKV nas transfusões sanguíneas como a prevalência de viremia entre os doadores, o impacto clínico nos receptores do sangue doado, a disponibilidade de medidas que busquem diminuir o risco de transmissão por transfusão quando necessário e o custo dessas medidas. (PETERSEN; EPSTEIN, 2014). Considerando que não há uma triagem para Chikungunya e as demais arboviroses para ser um doador sanguíneo e que indivíduos podem portar um quadro assintomático, devem-se buscar formas de triagem desses doadores procurando evitar uma possível infecção através da transfusão sanguínea que confere um risco para quem recebe a doação.

A triagem sorológica deve contar com testes que forneçam alta sensibilidade e, se possível, alta especificidade. O método *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) é o mais utilizado nos serviços hemoterápicos por promover uma boa reprodutibilidade, é facilmente executado e há a possibilidade de automação (CARRAZZONE, 2004). Para a implementação de protocolos de triagem de Chikungunya em hemocentros, o ELISA caracteriza uma boa alternativa por suas características de alta sensibilidade e especificidade.

A segurança transfusional é imprescindível quando se fala de doação sanguínea e para isso, a triagem de arboviroses nos hemocentros em períodos onde há um grande aumento do número de notificações de infecções, se torna uma ferramenta que pode garantir essa segurança. Tanto o paciente quanto os profissionais de saúde devem ser orientados de forma a não omitir informações

que venham a ser relevantes no processo de doação garantindo que o receptor final dos hemocomponentes esteja seguro diante de possíveis infecções.

## CONCLUSÃO

Embora a soroprevalência de CHIKV nos doadores de sangue seja baixa, é importante a implementação de triagem para Chikungunya em hemocentros considerando que estudos mostram que cerca de 3 a 28% dos indivíduos podem ser assintomáticos corroborando com o risco da transmissão da doença via transfusão sanguínea o que pode ser extremamente prejudicial para o receptor. O ELISA configura uma alternativa de teste para essa triagem em épocas com um grande aumento do número de infecções em regiões endêmicas, por ser sensível, específico e facilmente executado.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANVISA. Dispõe sobre as Boas Práticas no Ciclo do Sangue. RDC nº 34, de 11 de junho de 2014.
- APPASSAKIJ, Hatsadee et al. Risk of transfusion-transmitted chikungunya infection and efficacy of blood safety implementation measures: experience from the 2009 epidemic in songkhla province, thailand. **Transfusion**, v. 56, n. 8, p. 2100-2107, 30 jun. 2016.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Preparação e resposta à introdução do vírus Chikungunya no Brasil. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.
- CARRAZZONE CF, Brito AM, Gomes YM. Importância da avaliação sorológica pré-transfusional em receptores de sangue. Rev Bras Hematol Hemoter. 2004; 26(2):93-8.
- FOX, J. M ; DIAMOND, M. S. Immune-mediated protection and pathogenesis of chikungunya virus. HHS Public Access. v. 21, n. 2, p. 129-139, 2017.

- GANESAN, Vaishnavi; DUAN, Bin; REID, St. Chikungunya Virus: Pathophysiology, Mechanism, and Modeling. *Viruses*, v. 9, n. 12, p.368-382, 1 dez. 2017.
- HARAPAN, Harapan et al. Chikungunya virus infection in Indonesia: a systematic review and evolutionary analysis. ***Bmc Infectious Diseases***, v. 19, n. 1, 12 mar. 2019.
- KYAW, Aung Kyaw et al. Chikungunya Virus Infection in Blood Donors and Patients During Outbreak, Mandalay, Myanmar, 2019. ***Emerging Infectious Diseases***, v. 26, n. 11, p. 2741-2745, nov. 2020. Centers for Disease Control and Prevention (CDC)
- MASCARENHAS, Mariola et al. A scoping review of published literature on chikungunya virus. *Plos One*, v. 13, n. 11, 29 nov. 2018.
- MOIZÉIS, Raíza Nara Cunha et al. Chikungunya fever: a threat to global public health. ***Pathogens And Global Health***, v. 112, n. 4, p.182-194, 19 maio 2018.
- PETERSEN, Lyle R.; EPSTEIN, Jay S.. Chikungunya virus: new risk to transfusion safety in the americas. ***Transfusion***, [S.L.], v. 54, n. 8, p. 1911-1915, ago. 2014.
- SILVA, Laurie A.; DERMODY, Terence S.. Chikungunya virus: epidemiology, replication, disease mechanisms, and prospective intervention strategies. ***Journal Of Clinical Investigation***, v. 127, n. 3, p.737-749, 1 mar. 2017.
- Simmons G, Brès V, Lu K, Liss NM, Brambilla DJ, Ryff KR, et al. High Incidence of Chikungunya Virus and Frequency of Viremic Blood Donations during Epidemic, Puerto Rico, USA, 2014. *Emerg Infect Dis.* 2016; 22(7):1221-1228
- SLAVOV, Svetoslav Nanev et al . Seroprevalence of Chikungunya virus in blood donors from Northern and Southeastern Brazil. ***Hematol., Transfus. Cell Ther.***, São Paulo , v. 40, n. 4, p. 358-362, Oct. 2018.
- STANLEY, Jean *et al.* Detection of dengue, chikungunya, and Zika RNA in blood donors from Southeast Asia. ***Transfusion***, p. 1-10, 7 out. 2020.

## **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 na 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.

#### **ANÁLISE DOS TRABALHOS**

O manuscrito recebido será enviado para, pelo menos, dois avaliadores independentes, pares científicos, de renome e com conhecimento específico na área contemplada pelo artigo. Após análise pelos avaliadores, o editor-chefe do JBPML entrará em contato com o autor principal comunicando os passos a serem seguidos na aceitação do trabalho para publicação ou sua eventual rejeição.

#### **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 clínico laboratoriais 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: [v27n1/2004069/2004069.web.pdf](http://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**  
Mendenhall 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 GNPapers 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.

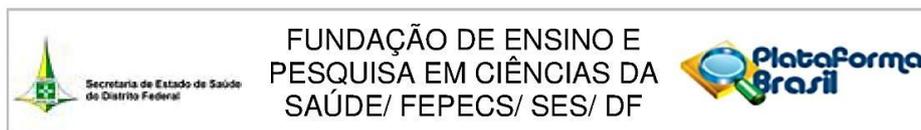
### **Abreviações e nomes de medicamentos**

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 NO CÔMITE 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

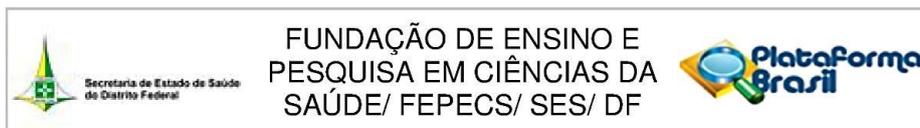
##### DADOS DO PARECER

**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.

**Endereço:** SMHN 2 Qd 501 BLOCO A - FEPECS  
**Bairro:** ASA NORTE **CEP:** 70.710-904  
**UF:** DF **Município:** BRASÍLIA  
**Telefone:** (61)3325-4955 **Fax:** (33)3325-4955 **E-mail:** comitedeetica.secretaria@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.896.770

#### **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.

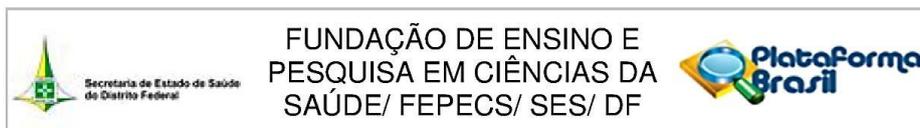
#### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

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 incluídas 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

<b>Endereço:</b> SMHN 2 Qd 501 BLOCO A - FEPECS	<b>CEP:</b> 70.710-904
<b>Bairro:</b> ASA NORTE	
<b>UF:</b> DF	<b>Município:</b> BRASILIA
<b>Telefone:</b> (61)3325-4955	<b>Fax:</b> (33)3325-4955
<b>E-mail:</b> comitedeetica.secretaria@gmail.com	



Continuação do Parecer: 1.896.770

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.

Dispensa TCLE: Apresentado.

Crerios 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:**

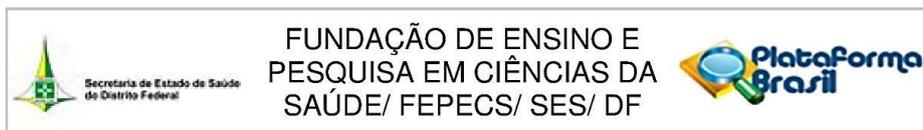
- Projeto Aprovado.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

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

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

<b>Endereço:</b> SMHN 2 Qd 501 BLOCO A - FEPECS	
<b>Bairro:</b> ASA NORTE	<b>CEP:</b> 70.710-904
<b>UF:</b> DF	<b>Município:</b> BRASILIA
<b>Telefone:</b> (61)3325-4955	<b>Fax:</b> (33)3325-4955 <b>E-mail:</b> comitedeetica.secretaria@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.896.770

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 12:20:24	Rodrigo Haddad	Aceito
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	FUNDAÇÃO_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

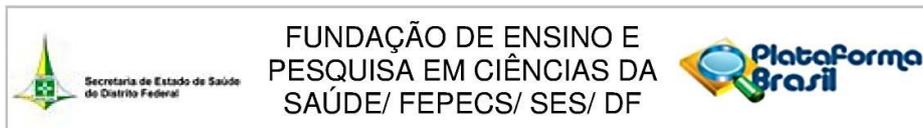
**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

Endereço: SMHN 2 Qd 501 BLOCO A - FEPECS  
 Bairro: ASA NORTE CEP: 70.710-904  
 UF: DF Município: BRASÍLIA  
 Telefone: (61)3325-4955 Fax: (33)3325-4955 E-mail: comitedeetica.secretaria@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.896.770

BRASILIA, 23 de Janeiro de 2017

---

**Assinado por:**  
**Helio Bergo**  
**(Coordenador)**

**Endereço:** SMHN 2 Qd 501 BLOCO A - FEPECS  
**Bairro:** ASA NORTE **CEP:** 70.710-904  
**UF:** DF **Município:** BRASILIA  
**Telefone:** (61)3325-4955 **Fax:** (33)3325-4955 **E-mail:** comitedeetica.secretaria@gmail.com