



Persistência do vírus Zika em fluídos corporais de pacientes com infecção pelo vírus Zika no Brasil

FMT-AM/FIOCRUZ/ DDAHV/SVS/CGLAB/WHO/WT/WR



MINISTÉRIO DA
SAÚDE



World Health
Organization



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



Objetivo Geral

- Avaliar a presença e a duração do ZIKV em sangue, sêmen, saliva, urina, secreções vaginais, sangue menstrual, *swab* retal, lágrimas, suor e leite materno de indivíduos infectados que se apresentarem a clínicas parceiras, durante a fase aguda da doença e em seus contatos domiciliares ou sexuais sintomáticos ou assintomáticos.
- Relacionar os resultados a fatores sociodemográficos bem como outros fatores ligados ao hospedeiro e a fatores ambientais.

Objetivos específicos

1. Analisar a presença e a duração do ZIKV em fluidos corporais entre adultos do sexo masculino e feminino com idade a partir dos 18 anos, ao longo de um período de 12 meses;
2. Analisar a persistência de outros marcadores (RNA do ZIKV, IgM, IgG, antígeno) da infecção pelo ZIKV em fluidos corporais, entre adultos do sexo masculino e feminino com idade a partir de 18 anos, ao longo de um período de 12 meses;
3. Explorar a possível relação existente entre o hospedeiro e os fatores ambientais, bem como as coinfeções – dengue, Chikungunya, HIV, sífilis, hepatite B (HBV), hepatite C (HCV), vírus Oropouche , vírus *Mayaro* e febre amarela – em relação à duração e persistência do vírus em fluidos corporais.
4. Avaliar a proporção de infecções assintomáticas entre contatos domiciliares/sexuais para casos de infecção;
5. Avaliar possibilidade de reinfecção ou reativação dos casos de infecção por ZIKV durante o período de estudo;
6. Descrever a concordância entre os resultados de exame RT-PCR, anticorpos neutralizantes, isolamento de vírus, resultados de antígenos e respostas específicas de anticorpos ao ZIKV nesses fluidos.

Justificativa

- A transmissão primária do vírus Zika se dá pela picada do mosquito do gênero Aedes, principalmente Aedes aegypti. Entretanto, evidências crescentes têm sugerido que a transmissão sexual do vírus Zika é possível e tem aumentado em frequência nos últimos anos. Até o presente, este modo de transmissão foi reportado em 11 países.
- Durante a atual epidemia do vírus Zika é importante entender mais profundamente o período pelo qual o vírus permanece ativo nos fluidos corporais, além do sangue, e quais são os fatores determinantes desta persistência, a fim de possibilitar a elaboração de recomendações para reduzir a sua transmissão.

Método

1. Desenho

- ✓ Este é um estudo de coorte prospectivo. Participantes com idade ≥ 18 anos com resultado positivo para o vírus Zika por RT-PCR em sangue ou urina, e após consentimento, serão submetidos a uma série de coleta periódica de amostras de fluidos corporais durante o período de um ano a contar da data da primeira coleta. A identificação de possíveis participantes dar-se-á através de consultas médicas em clínicas que farão parte do estudo (Ambulatório da Fundação Oswaldo Cruz no Rio de Janeiro e Recife, Fundação de Medicina Tropical do Amazonas -Manaus; Centros de Saúde, UBSs, UPAs, que se encontrem na área de atuação do estudo).

2. Local do estudo

- ✓ Os locais de intervenção do estudo serão: Rio de Janeiro (RJ), Recife (PE) e Manaus (AM). Estas são áreas de alta densidade populacional e de transmissão viral, com capacidade laboratorial e infra estrutura de atendimento à saúde.

3. População e amostra

- ✓ Nos três sites serão incluídos um total de 1300 participantes (650 homens e 650 mulheres) com idade igual ou acima de 18 anos com resultados laboratoriais positivos para o vírus Zika por PCR em sangue ou urina.

Locais do Estudo:

Manaus-AM

- FMT-HVD



Recife-PE:

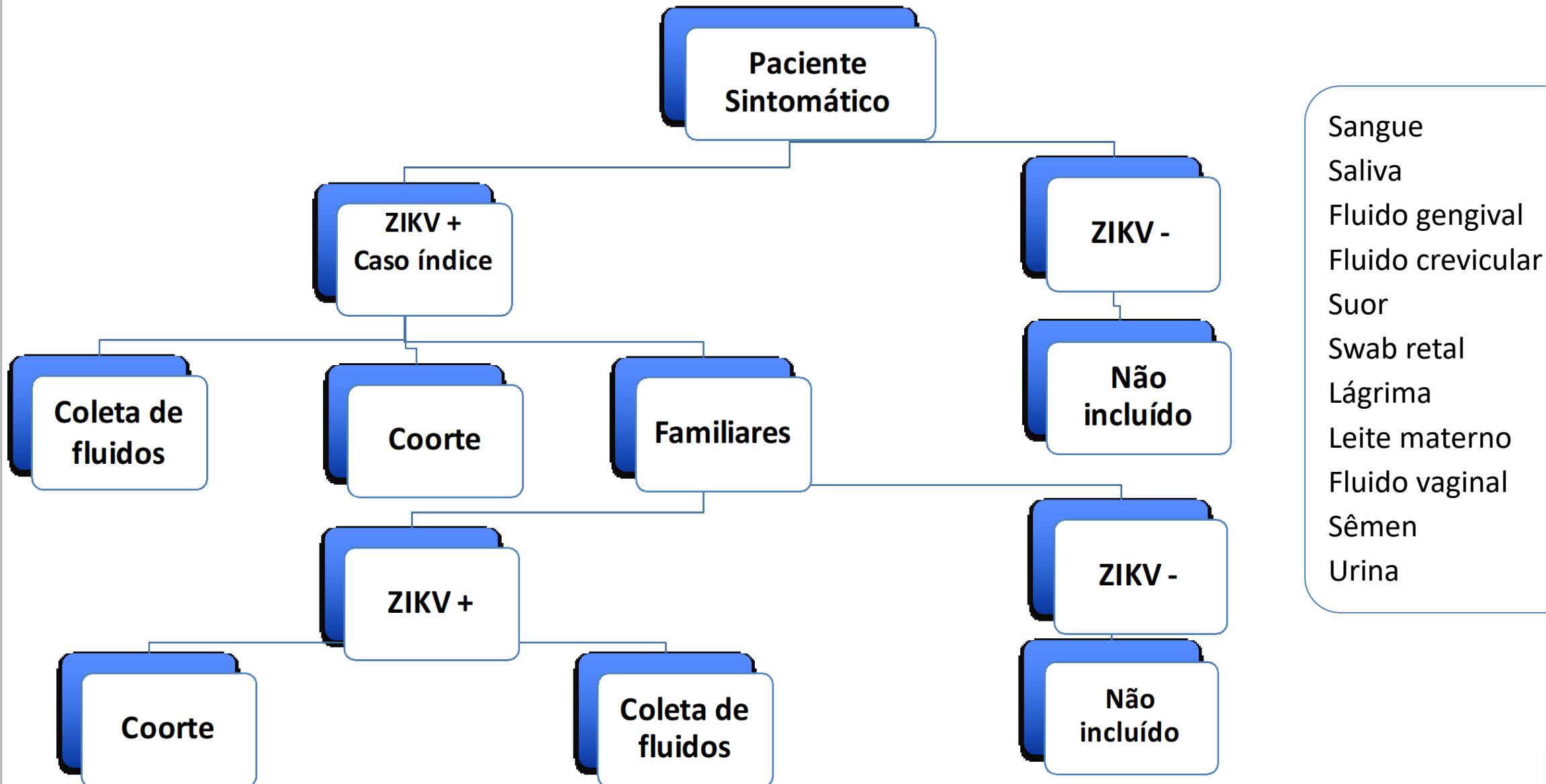
- Fiocruz

Rio de Janeiro-RJ:

- Fiocruz

Estimativa inicial: 650 H / 650 M

Total= 1300 participantes



- Sangue
- Saliva
- Fluido gengival
- Fluido crevicular
- Suor
- Swab retal
- Lágrima
- Leite materno
- Fluido vaginal
- Sêmen
- Urina

4. Recrutamento


O estudo será divulgado entre as UBSs e UPAs nas áreas de intervenção do estudo, assim como nos Centros Ambulatoriais participantes (Centros de referência). Profissionais trabalhando nestas unidades serão treinados e informados sobre os critérios de inclusão do estudo e farão a triagem dos potenciais participantes voluntários. Enfermeiras do estudo estarão baseadas nos Centros de Referência para os quais indivíduos com suspeita de infecção pelo vírus Zika serão referidos para avaliação clínica. Durante a primeira visita, será fornecida uma explicação sobre o estudo pela enfermeira. Os pacientes serão avaliados quanto à elegibilidade para inclusão no estudo. Caso concordem, os participantes prováveis, responderão a um questionário inicial e após assinatura do TCLE, serão coletadas as amostras de sangue e de urina. Nesta etapa, será solicitado consentimento para convite dos contatos domiciliares e parceiros sexuais para participação no estudo, caso o resultado para infecção pelo vírus Zika seja confirmado.

5. Desfechos

- ✓ Pacientes com resultado positivo para ZIKV em sangue ou urina serão convidados a participar do estudo, cuja frequência de coleta de amostras está detalhada a seguir. Todos os fluidos corporais serão coletados a cada visita, seguindo as normas de controle de infecção e de confidencialidade. Com exceção da coleta de sêmen, todos os fluidos corporais serão coletados pela enfermeira do estudo ou um técnico de coleta de amostras do participante. O desfecho primário é a taxa geral de persistência do vírus Zika por 12 meses.

6. Seguimento

- ✓ Amostras de todos os fluidos corporais dos casos índice e de seus contatos serão coletados de acordo com o diagrama a seguir

Tempo	Visita de recrutamento do caso índice	Visita de recrutamento do contatante	Coleta de amostras		
Visita 0	Coleta de amostras	-	S a n g u e		O u t r o s F l u i d o s
Visita 1 -visita de inclusão	Visita 0 + 2 dias Resultados de RT-PCR * Indivíduos com RT-PCR iniciam o seguimento * Indivíduos com RT-PCR negativo não serão incluídos na coorte	Convite para participar da visita à clínica ou visita doméstica pela enfermeira			
Visita 2	Visita 1 + 2 dias	Visita 1 + 3 dias			
Visita 3	Visita 1 + 4 dias	Visita 1 + 5 dias			
Visita 4	Visita 1 + 10 dias	Visita 1 + 11 dias			
Visita 5	Visita 1 + 20 dias	Visita 1 + 21 dias			
Visita 6	Visita 1 + 30 dias	Visita 1 + 30 dias			
Visita 7	Visita 1 + 60 dias	Visita 1 + 60 dias			
Visita 8	Visita 1 + 90 dias	Visita 1 + 90 dias			
Visita 9	Visita 1 + 180 dias	Visita 1 + 180 dias			
Visita 10	Visita 1 + 360 dias	Visita 1 + 360 dias			

7. Coleta de dados

- ✓ A coleta de informações clínicas, epidemiológicas, sociodemográficas, bem-estar e atividade sexual se dará através de questionários. A aplicação dos questionários será feita por meio de tablets fornecidos às enfermeiras do estudo, protegido com senhas. O download desses dados será feito a um servidor central que conterà informações coletadas em todos os sites do estudo. O sistema GAL de gerenciamento de laboratório será usado para obtenção de informação laboratorial, por meio de um número único de identificação do paciente, permitindo, dessa forma, a transferência dos resultados para a análise estatística.

8. Tratamento do material biológico

✓ As amostras de fluidos corporais serão coletadas nos centros de referência do estudo. Após a coleta, serão mantidas refrigeradas (2-8°C) e armazenadas por não mais de 6 horas. Caso isto ocorra, as amostras serão então, mantidas a -20°C até serem enviadas para Fiocruz (Rio e Recife) ou para a Fundação de Medicina Tropical do Amazonas – Manaus, para análise.

✓ Os tubos contendo as amostras serão acondicionados em sacos transparentes vedados e colocados em caixa térmica para transporte e que deverá ser de material rígido, lavável, impermeável e com tampa, contendo gelo reciclável. As informações devidamente conferidas relativas à amostra serão colocadas num envelope protegido por um saco plástico. Ao chegar ao laboratório as amostras receberão um número interno do laboratório e serão registradas no banco de dados. Até serem processadas os espécimes serão armazenados a -70°C.

8. Tratamento do material biológico *cont*

- ✓ Amostras de sangue serão testadas para o vírus Zika, Dengue e Chikungunya através de RT-PCR em tempo real.
- ✓ O isolamento viral será efetuado nas amostras positivas para o vírus Zika. O método ELISA será usado para detecção de imunoglobulinas IgM, IgG e antígeno de Zika.

O restante das amostras será testado para o vírus Zika através de RT-PCR seguido de isolamento viral nos casos positivos. Os seguintes testes serão efetuados nos laboratórios da Walter Reed in Bethesda, MD: PRNT, micro neutralização, teste de reação cruzada, células T

	Fiocruz Rio	Fiocruz Recife	FMT	Walter Reed
RT-PCR (Zika, dengue, chikungunya)	X	X	X	
Antígeno do vírus Zika	X	X	X	
Cultura	X	X	X	
IgM, IgG	X	X	X	
Triagem sorológica para vírus exantemáticos	X	X	X	
HIV, sífilis, HBV e HCV	X	X	X	
PRNT				X
Microneutralização				X
Neutralização baseada em citometria de fluxo				X
Reação cruzada				X
Células - T				X

9. Processamento e análise dos dados

- ✓ Um banco de dados eletrônico será desenhado e construído com o uso do RedCap. Somente pessoas autorizadas e treinadas terão acesso às informações contidas neste banco. Será possível a entrada de dados online o que possibilitará flexibilidade, pois os dados poderão ser inseridos ao mesmo tempo em que estarão sendo coletados. Cada sítio do estudo será responsável pelo gerenciamento e inserção de dados no servidor central.
- ✓ Enfermeiras do estudo usarão ultrabooks (tablet) para coleta de dados do questionário a ser aplicado durante as visitas dos participantes ao centro de referência do estudo, ou a primeira visita ao domicílio do caso índice para explicação do estudo aos contatos. O acesso à informação contida nos tablets será protegido por senha.
- ✓ Os resultados laboratoriais serão captados através do uso de um número identificador do participante contido no sistema de gerenciamento de laboratório – GAL e transportado para RedCap.

Aprovação dos Comitês de Ética:

- CONEP: 03/02/2017 – N° parecer: 1.905.101
- ERC (WHO): 09/02/2017
- CEP Fiocruz/RJ: 20/02/2017 – N° parecer: 1.933.483
- CEP Fiocruz/PE: 16/03/17 – N° parecer: 1.968.820
- CEP FMT-HVD: 17/03/17 – N° parecer: 1.969.994
- CEP Secretaria Municipal/RJ: 28/03/2017 – N° parecer: 1.986.416

Limitações do estudo

- ✓ Apenas participantes adultos estão sendo convidados a participar no estudo.
- ✓ Não serão incluídas gestantes, portanto resultados não poderão ser generalizados para esta população.
- ✓ Transmissão vetorial X sexual.
- ✓ Devido à frequência de coleta das amostras mulheres grávidas não serão incluídas nos estudos.
- ✓ O mesmo se aplica a indivíduos menores de 18 anos. Este critério de exclusão limitará o conhecimento quanto à existência ou não de diferenças da persistência do vírus de acordo com faixa etária ou durante a gravidez.

Resultados Esperados

- ✓ Evidências sobre a presença e persistência do vírus Zika nos diferentes fluidos corporais;
- ✓ Avaliação da possibilidade de reativação ou reinfeção durante o período de seguimento de cada participante - 12 meses;
- ✓ Persistência de marcadores da infecção por Zika vírus (RNA, IgM, IgG);
- ✓ Avaliação de fatores individuais e ambientais que possam interferir ou influenciar o tempo de persistência do vírus Zika nos fluidos corporais.
- ✓ Melhor entendimento da história natural da doença
- ✓ Embasamento pra recomendações de medidas de prevenção de sua transmissão



Aplicabilidade dos resultados para o Sistema Único de Saúde

O conhecimento da duração da persistência do vírus Zika nos diferentes fluidos corporais irá contribuir para recomendações mais específicas sobre como evitar e prevenir a sua transmissão.

Infraestrutura disponível da Instituição Proponente para execução do Projeto

Os 3 centros participantes do estudo, são considerados centros de reconhecida excelência científica regional e nacional, possuem infraestrutura laboratorial e de recursos humanos adequados além de possuírem ampla e bem sedimentada experiência na elaboração e na condução de pesquisas clínicas e translacionais, tanto nacionais e como internacionais.

Cronograma e Orçamento

- ✓ O cronograma de execução do estudo compreende um período de 25 meses, entretanto o período de execução equivalente ao financiamento da SVS corresponde a um período de 15 meses. O mesmo é uma parceria com instituições públicas internacionais: Wellcome Trust, Organização Mundial da Saúde – OMS e Walter Reed Army Institute of Research, que arcarão com parte do financiamento do referido estudo.

Abordagem sobre as prerrogativas/contrapartidas

- As instituições participantes assinaram em fevereiro de 2016 acordo de cooperação global. Compromisso em compartilhar, de forma rápida e aberta, dados e resultados relevantes de pesquisas que possam ajudar na crise com o vírus zika e em outras emergências de saúde pública.
- Desde 01/07/2014 a OMS tem uma política de publicação em revistas de acesso aberto de trabalhos próprios ou de coautoria com outros pesquisadores e instituições financiadas integralmente ou em parte pela OMS.



OBRIGADO!!

Rafael F. O. Franca
FIOCRUZ
rafael.franca@cpqam.fiocruz.br

