



MESTRADO EM CIÊNCIAS
AMBIENTAIS E SAÚDE

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*
MESTRADO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E SAÚDE

**ASPECTOS CLÍNICOS E SOROLÓGICOS DE INDIVÍDUOS
COM SINAIS E SINTOMAS DE FEBRE CHIKUNGUNYA**

ROSEMARY DE CARVALHO ROCHA KOGA

Goiânia-Goiás

2017



MESTRADO EM CIÊNCIAS
AMBIENTAIS E SAÚDE

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
COORDENAÇÃO DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*
MESTRADO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E SAÚDE

**ASPECTOS CLÍNICOS E SOROLÓGICOS DE INDIVÍDUOS
COM SINAIS E SINTOMAS DE FEBRE CHIKUNGUNYA**

ROSEMARY DE CARVALHO ROCHA KOGA

ORIENTADORA: PROFA. DRA. IRMTRAUT ARACI HOFFMANN PFRIMER

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Ambientais e Saúde, área de concentração Sociedade e Saúde, da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, como requisito para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Ambientais e Saúde.

Goiânia-Goiás

2017

- | | |
|------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| K78a | <p>Koga, Rosemary de Carvalho Rocha
Aspectos clínicos e sorológicos de indivíduos com sinais e sintomas de febre chikungunya[manuscrito]/
Rosemary de Carvalho Rocha Koga.-- 2017.
68 f.; il. 30 cm</p> <p>Texto em português com resumo em inglês
Dissertação (mestrado) -- Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências Ambientais e Saúde, Goiânia, 2017
Inclui referências f.49-58</p> <p>1. Vírus Chikungunya. 2. Proteína C-Reativa. 3. Arboviroses.
I. Pfrimer, Irmtraut Araci Hoffmann. II. Pontifícia Universidade Católica de Goiás. III. Título.</p> |
|------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

CDU: 616.91(043)



DISSERTAÇÃO DO MESTRADO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS E SAÚDE
DEFENDIDA EM 15 DE MARÇO DE 2017 E CONSIDERADA
aprovada PELA BANCA EXAMINADORA:

1) Imtraut Araci Hoffmann Pfrimer

Profa. Dra. Imtraut Araci Hoffmann Pfrimer / PUC Goiás (Presidente)

2) Patricia Resende Alo Nagib Loyola

Profa. Dra. Patrícia Resende Alo Nagib Loyola / UFG (Membro Externo)

3) Rodrigues

Prof. Dr. José Rodrigues do Carmo Filho / PUC Goiás (Membro)

4)

Profa. Dra. Vera Aparecida Saddi / PUC Goiás (Suplente)

A **Deus**, meu mantenedor.

À minha mãe, **Fátima**, sábia e perseverante em me estimular a vencer.

Ao meu esposo, **Koga**, por sua companhia e amor.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, profa. Dra. **Irmtraut Araci Hoffmann Pfrimer**, pela confiança, pelo exemplo de caráter, ética e sabedoria, por toda ajuda dada a mim.

À **Pontifícia Universidade Católica de Goiás** e todos os seus funcionários, que realizam seu trabalho com tanto zelo e presteza, para que possamos contar com uma formação de qualidade.

À **Universidade Federal do Amapá**, pela liberação para cursar o mestrado.

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás**, pelo apoio financeiro por meio de bolsa de mestrado.

À profa. Dra. **Simone Gonçalves da Fonseca**, pela colaboração nesta formação.

Aos professores Dr. **José Rodrigues do Carmo Filho** e Dra. **Patrícia Resende Alo Nagib Loyola** pelas imprescindíveis considerações que guiaram a confecção final deste trabalho.

À Técnica de Laboratório, **Ana Paula Maia**, por toda atenção, dedicação e responsabilidade na execução da pesquisa.

Aos integrantes do **Núcleo de Estudo e Pesquisas Imunológicas**, pelo companheirismo, ajuda mútua e agradáveis companhias.

À biomédica **Natália Castelo** do Laboratório de Saúde Pública do Amapá, pelas valiosas dicas acerca da sorologia para Chikungunya.

Às enfermeiras **Iracilda Costa da Silva** e **Zulima de Nazaré Machado**, pela colaboração com os dados epidemiológicos do estado do Amapá.

Às pessoas extremamente especiais em minha vida: **Koga, Filipe, Noemy, Corinta, Fátima, Jacineuza, Keyla, Kelly, Jéssica, Maria Alice, Natália, Elvira, Alípio, Helen, Nazaré, Beatriz e Angélica**, que me ampararam e torceram por cada obstáculo vencido nesta caminhada.

**Não podemos esquecer: um livro, uma caneta, uma
criança e um professor podem mudar o mundo.**

(Malala Yousafzai)

RESUMO

Koga, R. C. R. (2017). Aspectos clínicos e sorológicos de indivíduos com sinais e sintomas de Febre Chikungunya [Dissertação de Mestrado]. *Goiânia: Pontifícia Universidade Católica de Goiás*.

Introdução: A Febre Chikungunya (FCHIK) é uma doença de início abrupto, transmitida por mosquitos artrópodes hospedeiros intermediários do vírus Chikungunya (CHIKV). A enfermidade representa um significativo impacto na qualidade de vida da pessoa afetada. Uma vez que a doença causa sintomas intensos e prolongados de poliartralgia e mialgia, requerendo atenção de saúde, durante a recuperação, mais do que outras arboviroses. Objetivou-se estudar aspectos clínicos e sorológicos de indivíduos apresentando quadro clínico sugestivo de FCHIK, residentes nos Estados de Amapá e Goiás, visando correlacionar os resultados de testes laboratoriais com a sintomatologia apresentada. **Materiais e métodos:** O estudo foi realizado no Núcleo de Estudos e Pesquisa Imunológica da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, em Goiânia, e em Unidades de Pronto Atendimento de Saúde das cidades de Macapá, Oiapoque e Santana-AP. A população de estudo foi constituída de 80 indivíduos com suspeita de FCHIK e para comparar os marcadores inflamatórios, o grupo controle foi constituído de 20 amostras de sangue de doadores saudáveis da Central Goiana de Sorologia e Imunoematologia. Foi realizada a extração do RNA viral, seguido de detecção do RNA por meio de Reação em Cadeia de Polimerase em Tempo Real. Além de ELISA para detecção de IgM e IgG específicos para o CHIKV. Os sintomas dos participantes foram correlacionados com o resultado da sorologia e da proteína C reativa (PCR), que foi avaliada em indivíduos saudáveis e em pessoas com FCHIK. **Resultados:** Nenhuma amostra apresentou limiar de detecção do RNA viral por RT-qPCR para CHIKV, porém três amostras foram positivas nessa técnica para vírus zika (ZIKV) e uma para dengue subtipo 1 (DENV1). Em ensaio imunoenzimático, 26 amostras foram positivas para IgG e 3 dessas para IgM. Em relação ao estágio da doença, 10 encontravam-se em fase aguda, 04 em fase subaguda e 12 em fase crônica. Correlacionados os resultados da sorologia com a sintomatologia observou-se que os de fase aguda, todos tiveram febre, 90% cefaleia, 70% artralgia e 60% edema. Enquanto que, os de fase subaguda tiveram: artralgia e cefaleia (100%), mialgia e edema (75%). Os de fase crônica tiveram edema (100%), artralgia (92%) e mialgia (75%). Quando comparados os participantes com sorologia negativa, n=54, os sintomas mais apresentados foram exantema, cefaleia, febre e artralgia. Os níveis de PCR nos indivíduos infectados e que apresentavam mais de quatro sintomas foram maiores quando comparados com indivíduos saudáveis. **Conclusão:** O estudo focou em pessoas com quadro clínico característico para FCHIK. O sintoma mais comum nas três fases apresentadas foi a artralgia, seguido de edema e mialgia, a febre foi frequente somente na fase aguda. Todos os participantes foram negativos na avaliação do RNA viral por RT-qPCR para CHIKV, pois o vírus tem uma curta duração no organismo, e esta metodologia é limitada ao tempo de início dos sintomas e coleta de amostra, ainda assim foi encontrado RNA viral do DENV e ZIKV. Alguns participantes foram positivos para sorologia IgG. Aqueles com sorologia negativa para CHIKV, apesar de terem dor nas articulações, tinham sintomas comuns a outras arboviroses. Os níveis de PCR demonstraram-se elevados em relação aos indivíduos saudáveis.

Palavras-chave: Vírus Chikungunya; Febre Chikungunya; RT-qPCR para Chikungunya; Anticorpos anti-Chikungunya; Proteína C Reativa.

ABSTRACT

Koga, R. C. R. (2017). Clinical and serological aspects of individuals with signs and symptoms of Chikungunya Fever [Masters Dissertation]. *Goiânia: Pontifícia Universidade Católica de Goiás*.

Introduction: Chikungunya fever (FCHIK) is a disease of abrupt onset, transmitted by arthropod mosquitoes intermediate hosts of the Chikungunya virus (CHIKV). The illness has a significant impact on the quality of life of the affected person. Since a disease causes intense and prolonged symptoms of polyarthralgia and myalgia, it requires health care, during a recovery, more than other arboviruses. The objective of this study was to study clinicians and clinicians suggestive of FCHIK, residing in the States of Amapá and Goiás, aiming to correlate the results of laboratory tests with the presented symptomatology. **Materials and methods:** The study was carried out at the Center for Immunological Studies and Research of the Pontifical Catholic University of Goiás, Goiânia, and in Emergency Care Units in the cities of Macapá, Oiapoque and Santana-AP. The study population consisted of 80 individuals with suspected FCHIK and for investigators of inflammatory markers, the control group consisted of 20 blood samples from healthy donors from Goiana Central de Serologia e Imunohematologia. Viral RNA extraction was performed, followed by RNA detection by Real-Time Polymerase Chain Reaction. In addition to ELISA for detection of IgM and IgG against Chikungunya virus. Participants symptoms were correlated with serology and C-reactive protein (CRP), which was evaluated in healthy subjects and in people with FCHIK. **Results:** No data presented for detection of viral RNA by RT-qPCR for CHIKV, but three samples were positive in this technique for zika virus and one for dengue subtype 1 (DENV1). In an enzyme-linked immunosorbent assay, 26 samples were positive for IgG and 3 for IgM. Regarding the stage of the disease, 10 were in the acute phase, 04 in the subacute phase and 12 in the chronic phase. Correlated the results of the serology with a symptomatology it was observed that the acute phase, all have fever, 90% headache, 70% arthralgia and 60% edema. (100%), myalgia and edema (75%). (100%), arthralgia (92%) and myalgia (75%). When comparing participants with negative serology, n = 54, the most prevalent symptoms were rash, headache, fever, and arthralgia. The CRP levels in individuals infected with more than four symptoms were higher when compared with healthy individuals. **Conclusion:** The study focused on people with a clinical picture characteristic of FCHIK. The most common symptom in the three phases presented for arthralgia, followed by edema and myalgia, a fever was frequent only in the acute phase. All participants were negative in the evaluation of viral RNA by RT-qPCR for CHIKV, for the virus has a short duration in the body, and this methodology is limited to the time of symptom onset and sample collection, DENV and ZIKV. IG G. Those with negative serology for CHIKV, despite taking into account the joints, symptoms common to other arboviruses. CRP levels have been shown to be high relative to healthy subjects.

Keywords: Chikungunya virus; Chikungunya Fever; RT-qPCR for Chikungunya; Anti-Chikungunya IgM antibodies; Anti-Chikungunya IgG antibodies; C-Reactive Protein.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Descrição dos ciclos de transmissão do CHIKV.....	15
Figura 2: Representação esquemática da estrutura do CHIKV.....	17
Figura 3: Organização do genoma do vírus Chikungunya.....	18
Figura 4: Ciclo replicativo do CHIKV em células de vertebrados.....	19
Figura 5: Viremia e resposta imune em infecção por CHIKV.....	25
Figura 6: Fluxograma do estudo.....	29
Figura 7: Sorologia IgM e IgG ELISA para CHIKV.....	38
Figura 8: Representação das manifestações clínicas dos participantes IgG positivos, de acordo com as fases de FCHIK.....	38
Figura 9: Representação das manifestações clínicas dos participantes com ou sem IgG para o CHIKV.....	39
Figura 10: Níveis de PCR em doadores saudáveis e indivíduos infectados com CHIKV..	39
Figura 11: Correlação dos níveis de PCR com a fase evolutiva da FCHIK.....	40

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 1: Diluição do Calibrador para PCR.....	32
Tabela 1: Distribuição percentual dos participantes segundo o intervalo de tempo entre o início dos sintomas e a coleta de material biológico.....	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<i>Ae. aegypti</i>	<i>Aedes aegypti</i>
<i>Ae. albopictus</i>	<i>Aedes albopictus</i>
bFGF	Fator de crescimento fibroblástico básico
CHIKV	Vírus Chikungunya
CNS	Conselho Nacional de Saúde
DALY	Indicador de anos potenciais de vida perdidos ou vividos com incapacidade
DENV	Vírus da dengue
ECSA	Centro-Oriental-Sul-Africano
EGF	Fator de crescimento epidérmico
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
FCHIK	Febre Chikungunya
G-CSF	Fator estimulante de colônias de granulócitos
HGF	Crescimento de hepatócitos
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
LIO	Linhagem do Oceano Índico
mRNA	RNA mensageiro
NEPY	Núcleo de Estudo e Pesquisas Imunológicas
OPS	Organização Panamericana de Saúde
PCR	Proteína C reativa
PRNT	Teste de neutralização por redução de placas
RT-qPCR	Reação em Cadeia de Polimerase em Tempo Real
SUS	Sistema Único de Saúde
ZIKV	Vírus zika

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
1.1 HISTÓRICO DA FEBRE CHIKUNGUNYA.....	14
1.2 BIOLOGIA DO AGENTE ETIOLÓGICO.....	16
1.2.1 Transmissão viral.....	16
1.2.2 Distribuição geográfica da FCHIK.....	17
1.2.3 Período de incubação.....	18
1.2.4 Taxonomia e estrutura.....	18
1.2.5 Organização do genoma viral.....	19
1.2.6 Replicação viral.....	20
1.2.7 Linhagens.....	22
1.3 FISIOPATOLOGIA DA FEBRE CHIKUNGUNYA.....	22
1.3.1 Manifestações clínicas.....	22
1.3.2 Resposta Imune.....	23
1.4 PATOGNOMIA DA FEBRE CHIKUNGUNYA.....	25
1.4.1 Isolamento viral.....	25
1.4.2 Reação em Cadeia de Polimerase em Tempo Real.....	26
1.4.3 Testes sorológicos específicos para CHIKV.....	26
1.5 PROBLEMATIZAÇÃO.....	26
1.6 JUSTIFICATIVAS.....	26
1.7 OBJETIVOS.....	27
1.7.1 Objetivo geral.....	27
1.7.2 Objetivos específicos.....	27
1.8 HIPÓTESE.....	28
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
2.1 LOCAL E POPULAÇÃO DE ESTUDO.....	29
2.2 AMOSTRAS DE SANGUE E URINA.....	30
2.3 TRANSPORTE DE AMOSTRAS ORIUNDAS DO AMAPÁ.....	30
2.4 EXTRAÇÃO DE RNA.....	31
2.5 DETECÇÃO DO RNA VIRAL PARA CONFIRMAÇÃO DA INFECÇÃO PELO CHIKV E/OU PELO ZIKV.....	31
2.6 DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO.....	32

2.7 QUANTIFICAÇÃO DA PROTEÍNA C REATIVA	33
2.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	34
2.9 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	34
3 RESULTADOS.....	35
4 DISCUSSÃO.....	39
5 CONCLUSÕES.....	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46
ANEXO – APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA.....	56
APÊNDICE 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	60
APÊNDICE 2 – QUESTIONÁRIO DE FEBRE CHIKUNGUNYA.....	63

1 INTRODUÇÃO

A Febre Chikungunya (FCHIK) é uma doença de início abrupto, transmitida por mosquitos artrópodes hospedeiros intermediários do vírus Chikungunya (CHIKV) (PIALOUX *et al.*, 2007; SOURISSEAU *et al.*, 2007; CHEVILLON *et al.*, 2008). A enfermidade representa um significativo impacto na qualidade de vida da pessoa afetada. Uma vez que a doença causa sintomas intensos e prolongados de poliartralgia e mialgia, requerendo atenção de saúde, durante a recuperação, mais do que outras arboviroses (VAZEILLE *et al.*, 2008; KUCHARZ; CEBULA-BYRSKA, 2012; WEAVER, 2014; MCSWEEGAN *et al.*, 2015; NUNES *et al.*, 2015).

1.1 HISTÓRICO DA FEBRE CHIKUNGUNYA

Inicialmente a doença foi denominada de *dengue-like*, por possuir similaridade de sintomas com a dengue (WEAVER, 2014). Casos humanos aparentando ser FCHIK foram relatados no início de 1770, com descrições de uma doença febril-exantemática com artrite (OPS, 2011). Nos verões de 1934 e 1935, não havia teste laboratorial específico, somente a certeza de que não se tratava de nenhuma doença conhecida até aquele momento. Realizando a anamnese de pacientes com quadro febril e dor articular, Cheney (1935) observou vinte indivíduos de São Francisco, Califórnia:

“Uma grande reclamação dos pacientes é a severa dor de cabeça, frequentemente em localização frontal, generalizada ou occipital. O próximo sintoma mais importante é a dor nas costas, que era muitas vezes mais intensa na região sacro-ilíaca, e parecia muito pior do que habitualmente é encontrado em outras desordens febris. A febre foi o início abrupto da doença. A presença de dores nos membros foi observada, eram tão agudas em alguns indivíduos, com articulações também rígidas e cheias de dor. O termo "quebra-ossos" para esta febre parecia justamente aplicável”.

Devido à gravidade das dores articulares nenhum habitante pôde esquecer tamanho sofrimento. Pelo rápido aparecimento dos sintomas e artralgia incapacitante, a doença e o vírus foram nomeados conforme dialetos africanos, Banto, Makonde e Swahili. O prefixo *chi* denota coisa ou pessoa, enquanto que a raiz da palavra vem do verbo *kungunyala*, que significa “contorcido”, referindo-se ao estado dos troncos e galhos de árvores que, no período de estiagem africana ficam retorcidos (LUMSDEN, 1955; ROBINSON, 1955).

Em meados de outubro de 1952, a propagação subsequente da arbovirose foi rápida e normalmente envolveu 60 a 80% da população tanganiquense dentro de um período de 2 a 3

semanas. Em alguns grupos de casas todos os habitantes foram infectados (ROBINSON, 1955). O vírus foi isolado de soro humano e de mosquitos entre os anos de 1952 e 1953, em decorrência de uma epidemia de FCHIK ocorrida na província sul de Tanganica, Platô Makonde (ROSS, 1956). Posteriormente foram descritos diversos surtos em diferentes regiões da África, Índia e do Sudeste da Ásia (WEAVER, 2014).

Estudos demonstraram a preservação do CHIKV no ambiente, por meio de dois perfis epidemiológicos, um silvestre e outro urbano (**Figura 1**). O primeiro é conhecido por ser zoonótico e mantido em ciclo silvestre, (CHEVILLON *et al.*, 2008; WEAVER, 2013; WEAVER; FORRESTER, 2015), envolvendo primatas selvagens, roedores e mosquitos *Aedes spp* que habitam a floresta, particularmente os membros do grupo *Aedes furcifer-taylori* (DIALLO *et al.*, 1999). O segundo, transmitido de humano para humano por picadas do mosquito, principalmente pelo *Aedes aegypti* (*Ae. aegypti*), costuma ser peridoméstico, vetor antropofílico urbano do vírus da dengue (DENV), sem reservatório animal, com potencial para grandes epidemias (TSETSARKIN *et al.* 2011).

Outra espécie comum e abundante inclui mosquitos *Aedes albopictus* (*Ae. albopictus*), que colonizam recipientes artificiais e naturais em áreas suburbanas e rurais, têm complementado a preservação do CHIKV no ambiente (CHEVILON *et al.*, 2008). Mosquitos urbanos e peridomésticos mantêm estreita relação com os humanos e, portanto, são provavelmente responsáveis por grandes surtos regionais (POWERS; LOGUE, 2007).

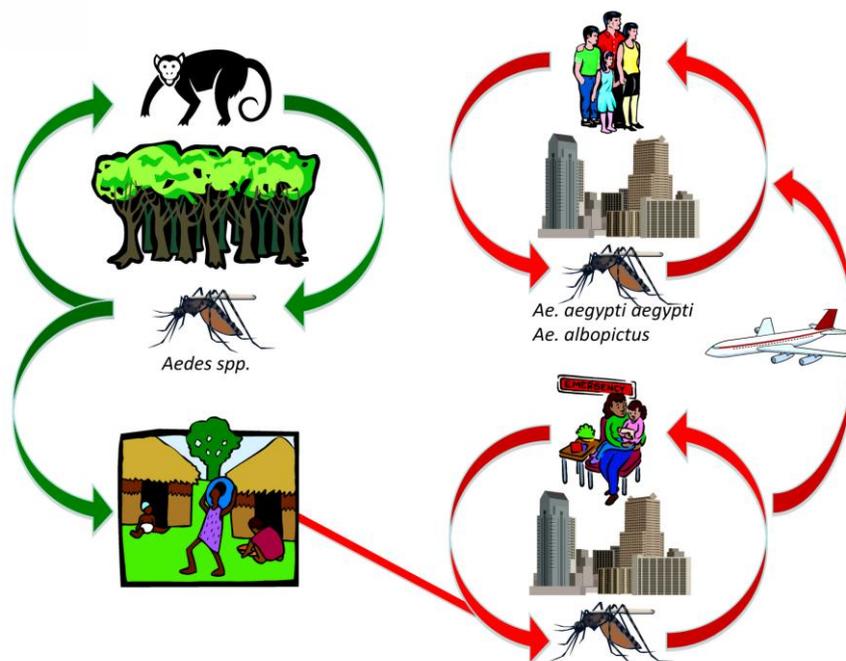


Figura 1: Descrição dos ciclos de transmissão do CHIKV. Fonte: TSETSARKIN *et al.* 2011.

1.2 BIOLOGIA DO AGENTE ETIOLÓGICO

Denomina-se arbovírus (**Arthropod-born viruses**) o vírus cuja transmissão ocorre por picada de vetor artrópode (ELDRIDGE *et al.*, 2004; THIBERVILLE *et al.*, 2013). De acordo com Pialoux *et al.* (2007) considera-se a arbovirose Chikungunya como uma doença tropical, devido às condições biológicas favoráveis para a propagação viral. Rezza (2014) enfatiza que fatores como a mobilidade humana, mudanças climáticas, propagação global do vetor e adaptabilidade viral podem favorecer a disseminação do Chikungunya.

1.2.1 Transmissão viral

A infecção ocorre, principalmente, pela picada de mosquito hematófago fêmea de uma grande variedade de artrópodes, dentre eles *Aedes* (principalmente *aegypti* e *albopictus*, além de *furcifer*, *vittatus*, *fulgens*, *luteocephalus*, *dalzieli*, *vigilax* e *camptorhynchites*), *Culex annulirostris*, *Mansonia uniformis* e mosquitos *Anopheles sp.* (BURT *et al.*, 2012; NUNES *et al.*, 2015; LIMA-CAMARA, 2016). As espécies são invasoras, possuem grande capacidade de dispersão e adaptação, podendo ser encontradas em áreas urbanas, suburbanas e rurais, em regiões tropicais e subtropicais (PIALOUX *et al.*, 2007; MEDLOCK; LEACH, 2015).

Sabe-se que os principais vetores são o *Ae. aegypti* e o *Ae. albopictus*. O *A. aegypti* vive na faixa tropical e subtropical da Terra, mede aproximadamente 5mm, possui cor amarronzada, anéis brancos nas pernas, um desenho prateado em forma de lira na parte dorsal do tórax e escamas branco-prateadas no corpo (DIVE, 2008; GONZÁLEZ; MATTAR, 2014). O *A. albopictus* tem distribuição mundial, pode ser encontrado a uma altitude de até 1.800 metros e resiste a baixas temperaturas. Além disso, é considerado um vetor de difícil controle pela diversidade de depósitos naturais e artificiais onde realiza a póstula dos ovos, maior tolerância ao frio e quantidade de ovos depositados. Quanto às suas características físicas é de cor preto piche, patas com anéis prateados, no meio e ao longo do dorso possuem uma seta prateada e seu corpo apresenta escamas também branco-prateadas (PIALOUX *et al.*, 2007; DIVE, 2008).

Estudos demonstraram ainda a possibilidade de transmissão de CHIKV por fluidos orais (saliva), uma vez que foi encontrado RNA viral e infectante em amostras de saliva coletadas de vários indivíduos, em fase aguda de FCHIK, com manifestações hemorrágicas nas cavidades orais/nasais (GARDNER *et al.*, 2015, ROLPH *et al.*, 2016).

Além disso, o vírus também pode ser transmitido por transfusão sanguínea. Um estudo probabilístico, realizado durante epidemia ocorrida em Songkhla, província do sul da Tailândia, usou informações locais para estimar o risco de transmissão do CHIKV por

transusão de Hemocomponentes. O risco potencial foi de 1 doador assintomático virêmico de FCHIK para 2.429 doações (APPASSAKIJ *et al.*, 2014). Como demonstrado em inquéritos sorológicos, 3 a 28% das pessoas infectadas permanecem assintomáticas e são potenciais disseminadores de CHIKV por meio de transfusão de hemocomponentes (PATY, 2013; APPASSAKIJ *et al.*, 2013).

Há ainda, a transmissão vertical de mãe para o filho, no período intraparto de mãe virêmica. A transmissão ocorre entre a 35^a a 40^a semana gestacional (GERARDIN *et al.*, 2008).

1.2.2 Distribuição geográfica da FCHIK

Infecções por CHIKV ressurgiram em números significativos em meados dos anos de 2005-2006 na ilha francesa Reunião, quando mais de um terço da população apresentou as manifestações clínicas da arbovirose, resultando em mais de 250 mortes (BURT *et al.*, 2012). Em 2006, o vírus atingiu os habitantes da Índia e alguns países do sudeste asiático. No ano de 2007, a Itália também apresentou autoctonia para CHIKV. Enquanto que a região de Ravenna, na França, registrou seus primeiros casos em 2010 (SUK; SEMENZA, 2014).

Epidemias recentes ratificaram que o CHIKV é um importante arbovírus emergente. Em 2013 casos autóctones de FCHIK surgiram nas Américas, inicialmente no Caribe e neste ínterim a América do Sul também registrou casos. No final de 2014 já existiam ocorrências de infecções autóctones na Guiana Francesa, Venezuela, Colômbia, Suriname, Paraguai e Brasil (MS, 2014).

Casos de FCHIK nas Américas foram reportados à Organização Panamericana de Saúde (OPS), nos anos de 2013 e 2014, onde 1.118.578 pessoas estavam com sintomas suspeitos, como febre e artralgia intensa, sendo que em 2015 o número de pessoas suspeitas caiu para 693.489, todavia até a Semana Epidemiológica 25 de 2016, foram notificados 130.728 casos suspeitos da infecção pelo arbovírus (OPS, 2015a; OPS 2015b; OPS, 2016).

Casos autóctones da arbovirose no território brasileiro deram início em duas unidades da federação, Amapá e Bahia (NUNES *et al.*, 2015; LIMA-CAMARA, 2016). Segundo dados da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde, em 2015, semanas epidemiológicas 1 a 52, foram registrados no país 38.499 casos prováveis de FCHIK (taxa de incidência de 18,8 casos/100 mil hab.), distribuídos em 704 municípios, dos quais 17.971 (46,7%) foram confirmados. Houve também confirmação de 14 óbitos por FCHIK, nos Estados da Bahia (5 óbitos), Sergipe (2 óbitos) e Pernambuco (7 óbitos). A mediana de idade dos óbitos foi de 73 anos (MS, 2017).

Em 2016, até a semana epidemiológica 50, foram registrados 265.554 casos prováveis de FCHIK no país, com uma taxa de incidência de 129,9 casos/100 mil hab. Esses casos prováveis estão distribuídos em 2.785 municípios; destes, 146.914 (55,3 %) foram confirmados. A análise da taxa de incidência de casos prováveis, por regiões geográficas, demonstrou que a região Nordeste apresentou a maior taxa de incidência: 407,7 casos/100 mil hab. Entre as unidades da federação, destacam-se Rio Grande do Norte (714,0 casos/100 mil hab.), Ceará (520,9 casos/100 mil hab.), Alagoas (509,7 casos/100 mil hab.) e Pernambuco (510,6 casos/100 mil hab.). Foram confirmados 159 óbitos por FCHIK (MS, 2017).

No Amapá, o CHIKV foi intensamente propagado a partir de junho de 2014, com exponenciais aumentos de casos suspeitos da febre, principalmente no município de Oiapoque (MS, 2015). Goiânia pertence ao terceiro estado do país com maior coeficiente de incidência de dengue, 1.338,5 casos para cada 100 mil habitantes (MS, 2016), o que de certa forma demonstra preocupação para autoridades de saúde, uma vez que o vetor e os sinais clínicos são análogos para arboviroses como dengue, CHIKV ou Zika (DIALLO *et al.*, 1999).

1.2.3 Período de incubação

Após o repasto sanguíneo de mosquitos vetores em hospedeiro virêmico, denomina-se de período de incubação extrínseco, o período médio de dez dias em que o mosquito realiza o repasto e torna-se capaz de transmitir o vírus para um novo hospedeiro. Enquanto que o período de incubação intrínseco ocorre em humanos picados por um mosquito infectado, no intercurso de tempo de 3 a 7 dias (MS, 2014).

1.2.4 Taxonomia e estrutura

Segundo o Comitê Internacional de Taxonomia Viral, o CHIKV é um membro da família *Togaviridae*, pertencente ao gênero *Alphavirus*. Suas partículas virais possuem envelope lipídico, capsídeo de simetria icosaédrica e genoma constituído de Ácido Ribonucleico (RNA), fita simples. Medem cerca de 60-70 nm de diâmetro (**Figura 2**) (FENNER *et al.* 1974; WÖLFEL, *et al.*, 2015).

Na superfície do envelope lipídico localizam-se as glicoproteínas virais E1 e E2, as quais se associam em heterodímeros, formando 80 trímeros. Além da presença na periferia da glicoproteína E3 (UCHIME *et al.*, 2013). O nucleocapsídeo é constituído de uma proteína C do capsídeo viral e de uma molécula de RNA (STRAUSS; STRAUSS, 1986).

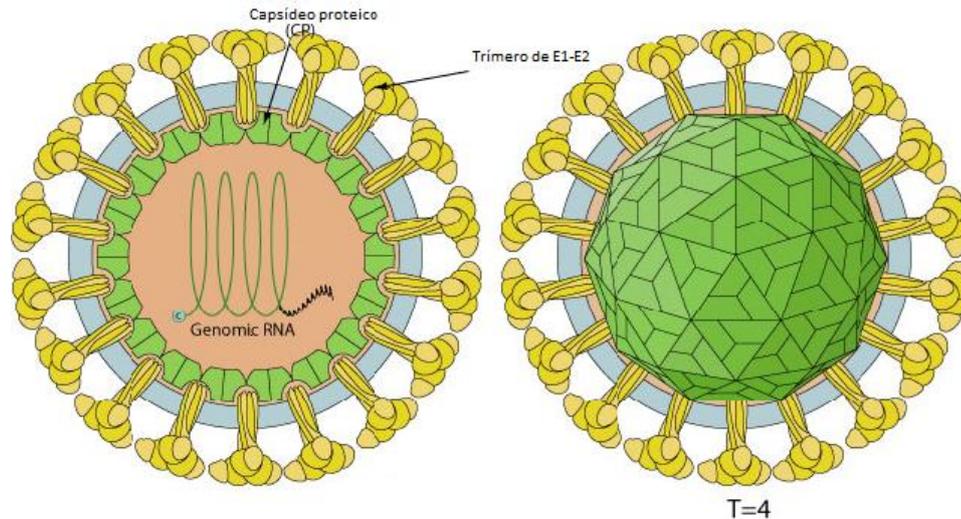


Figura 2: Representação esquemática da estrutura do CHIKV. Disponível em <http://viralzone.expasy.org>.

1.2.5 Organização do genoma viral

O genoma do CHIKV é composto de uma molécula de RNA, de fita simples, polaridade positiva de aproximadamente 11,8 kb (FENNER *et al.* 1974; WÖLFEL *et al.*, 2015).

O conteúdo genômico possui dois sentidos de leitura aberta, um na extremidade inicial e outro na cauda, respectivamente *cap 5'* e *poly-A 3'*. A primeira leitura compreende cerca de dois terços do genoma e codifica quatro proteínas não estruturais (nsP1, nsP2, nsP3, nsP4) que participam da replicação, nivelamento do RNA, clivagem poliprotéica e outras funções de replicação viral. A segunda leitura corresponde a uma proteína que será clivada em cinco proteínas estruturais (C, E3, E2, 6K e E1), que participam do processo de fusão e interagem com receptores celulares (STRAUSS; STRAUSS, 1986; WEAVER *et al.*, 2012). Portanto, o genoma do CHIKV está organizado em: 5' *cap*_nsP1-nsP2-nsP3-nsP4-26S (região de junção) -C-E3-E2-6k-E1_poli (A) -3' (**Figura 3**) (SOLIGNAT *et al.*, 2009).

As funções das proteínas estruturais são, respectivamente: C funciona como autoprotease (HARDY *et al.*, 1990), E3 protege a superfície viral do pH durante o processo de fusão, E2 e E1 são responsáveis pela ligação aos receptores celulares (UCHIME *et al.*, 2013), 6K é rica em cisteína e possui potencial hidrofóbico (GAEDIGK-NITSCHKO; SCHLESINGER, 1990).

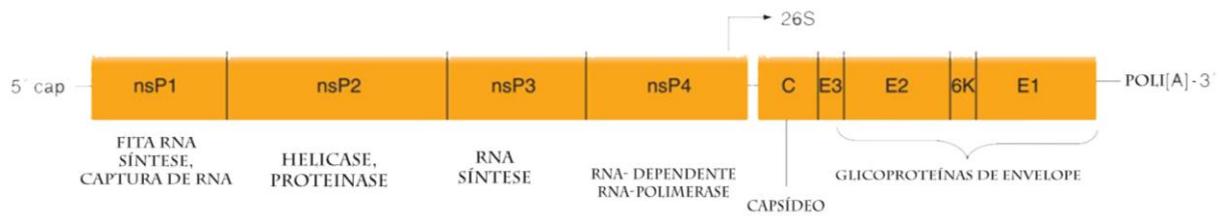


Figura 3: Organização do genoma do vírus Chikungunya. Adaptado de: WEAVER *et al.*, 2012

1.2.6 Replicação viral

Estudos acerca do tropismo de CHIKV em seres humanos têm sido amplamente discutidos. Observa-se que mesmo possuindo elevada viremia, 10^8 cópias/mL, o CHIKV não se replica em linfócitos e monócitos primários. Entretanto, macrófagos derivados de monócitos são suscetíveis à infecção e em modelo animal, símio, funcionam como reservatório viral (SOURISSEAU *et al.*, 2007; LABADIE *et al.*, 2010). O CHIKV, portanto, infeta células epiteliais, endoteliais e fibroblastos humanos (COUDERC *et al.*; 2009), bem como inúmeras linhagens celulares, excluindo as monocitoides e linfóides, ocasionando efeito citopático extenso associado à indução de apoptose (SOURISSEAU *et al.*, 2007).

Conforme detalhamento na **Figura 4**, a replicação do CHIKV começa com a fixação do envelope viral nos receptores celulares ^{etapa i} (FENNER *et al.* 1974; WÖLFEL, *et al.*, 2015).

Em seguida o vírus entra na célula alvo por endocitose de vesículas revestidas por clatrina ⁱⁱ. Durante a transferência para endossomas, o ambiente de baixo pH leva a reorganização do complexo viral E1-E2, a exposição do peptídeo de fusão E1 e fusão subsequente com o endossoma membranar permitindo a liberação do nucleocapsídeo no citoplasma ⁱⁱⁱ. Prosseguindo a replicação ao longo de vias paralelas ^{iv, v e vi} (SOLIGNAT *et al.*, 2009).

No início da infecção de CHIKV, por ser de polaridade positiva, o genoma viral serve como um RNA mensageiro (mRNA) para a tradução do precursor P1234 e de proteínas não estruturais ^{iv}. Então, ocorre a replicação de RNA por meio de síntese intermediária de um RNA de comprimento completo cadeia negativa ^v, utilizando como um molde para a síntese do RNA genômico a transcrição da região subgenômica 26S ^{vi}. A transcrição de RNA positivo de cadeia simples é temporariamente regulada pelo processamento proteolítico do precursor não estrutural P1234. No início da infecção, P1234 é clivada em NSP4 (CHEVILLON *et al.*, 2008).

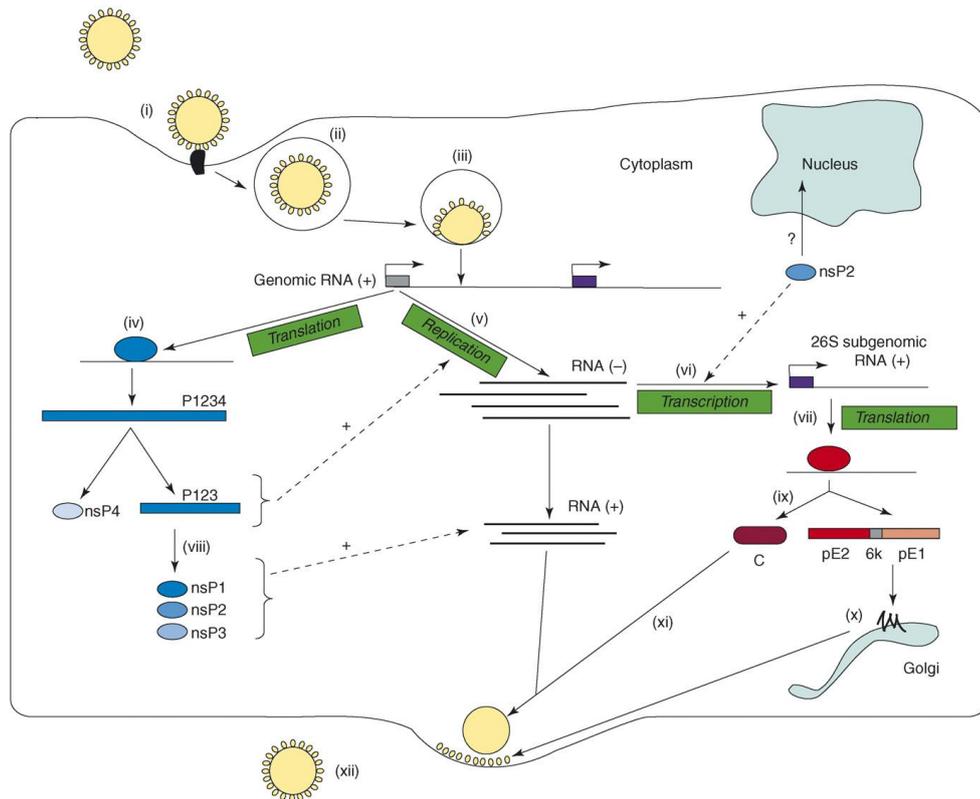


Figura 4: Ciclo replicativo do CHIKV em células de vertebrados. Fonte: CHEVILLON *et al.*, 2008.

Durante a replicação, quando a concentração de nsP123 está elevada o suficiente, o precursor é subsequentemente transformado em proteínas maduras ^{vii}, que regulam a síntese de RNA cadeia positiva e amplificação de 26S ^{vi}. Este passo é regulado pelas funções de nsP2, helicase e proteinase. Na etapa **vii**, 26S serve como mRNA para a tradução da poliproteína precursora C-pE2-6k-E1 e produção de proteínas estruturais. No final do ciclo replicativo a poliproteína pE2-6k-E1-C é processada pós-tradução em proteínas estruturais maduras. A atividade de serina protease libera o capsídeo C ^{ix} (CHEVILLON *et al.*, 2008).

O precursor do envelope insere na bicamada do retículo endoplasmático por meio de uma sequência de sinal processada para pE2 e E1. No passo **x**, E1 e pE2 associados são exportados para a membrana plasmática por meio do complexo de Golgi. Enquanto isso, ocorre a liberação e maturação do heterodímero E1-E2 no envelope viral. Em paralelo, nucleocapsídeos maduros difundem-se livremente no citoplasma para a membrana ^{xi}. A montagem viral é guiada eletrostaticamente pela ligação do nucleocapsídeo e o recrutamento de glicoproteínas associadas às membranas. A partícula montada, de forma icosaédrica, finalmente, brota na membrana da célula e torna-se um vírion envelopado ^{xii} (KIELIAN; REY, 2006).

1.2.7 Linhagens

Até o momento foram identificadas quatro linhagens ou filogrupos do CHIKV com características genéticas e antigênicas distintas: Centro-Oriental-Sul-Africano (ECSA) e Oeste Africano, endêmicas na África Subsaariana; Asiática, circulante no sudeste asiático e oeste africano (THIBERVILLE *et al.*, 2013) e, Linhagem do Oceano Índico (LIO), que causou epidemias explosivas na Índia, Ilhas do Oceano Índico e da Ásia entre 2005 a 2011 (WEAVER, 2014).

No Brasil, Nunes *et al.* (2015) demonstraram a circulação de duas linhagens, trata-se de cepa Asiática, que entrou no país pela cidade de Oiapoque-Amapá, por razões geográficas, possivelmente pela zona de fronteira com a Guiana Francesa, que apresentava autoctonia de FCHIK a partir de dados filogenéticos de epidemias em curso na região do Caribe. O estudo também afirmou a entrada da linhagem ECSA por Feira de Santana-Bahia, que teria começado a se disseminar em junho de 2014, durante a Copa do Mundo, possivelmente por meio de um brasileiro que acabara de voltar de Angola.

1.3 FISIOPATOLOGIA DA FEBRE CHIKUNGUNYA

1.3.1 Manifestações clínicas

Estudos indicam que 3 a 28% dos indivíduos não apresentam sintomas para FCHIK (QUEYRIAUX *et al.*, 2008; MORO *et al.*, 2010). A doença geralmente é de início abrupto, com sintomas como pirexia ($> 39^{\circ}\text{C}$), cefaleia, dorsalgia, mialgia e artralgia, esse último pode ser intenso afetando principalmente as extremidades (tornozelos, pulsos e falanges) e também grandes articulações (ROBINSON, 1955; AGUIAR, 2014).

Manifestações cutâneas ocorrem em 40-50% dos casos, conforme observado em epidemias ocorridas na Malásia (1998) e ilhas francesas Reunión (2005-2006), consistindo de erupção pruriginosa maculopapular no tórax, edema facial, e em crianças erupção bolhosa com descamação acentuada e gengivorragia (PIALOUX *et al.*, 2007).

Sintomas digestivos como diarreia, vômitos, náuseas ou dor abdominal ocorrem em 15-47% dos casos durante a fase aguda da doença (THIBERVILLE *et al.* 2013). Outras manifestações também foram descritas como as oftalmológicas, dentre elas a uveíte anterior, posterior e vasculite retiniana de curso benigno com resolução em 6-8 semanas (KHAIRALLAH *et al.*, 2012; KHAIRALLAH, 2013). Outras, menos frequentes também foram observadas como miopericardite, meningoencefalite e hepatite tóxica (HORCADA *et al.*, 2015).

O CHIKV pode causar doença aguda (3 a 10 dias), subaguda (11 a 90 dias) e crônica (> 90 dias) (OPS, 2011). Casos em que os sintomas permanecem, esses se manifestam sob a forma de poliartrite ou poliartralgia constante, acompanhada de rigidez matinal e astenia, que perduram de meses a mais de três anos do início da infecção (MORO *et al.*, 2012).

1.3.2 Resposta Imune

Após a inoculação, o CHIKV é transportado para os capilares subcutâneos e é direcionado para os linfonodos próximos ao local de penetração. O vírus é transportado para diferentes locais, principalmente para o tecido muscular, articulações, fígado e cérebro (HORCADA *et al.*, 2015). Nestes tecidos, a infecção está associada a uma marcada infiltração de células mononucleares, incluindo macrófagos, particularmente quando ocorre a replicação viral. Os eventos patológicos associados à infecção tecidual são principalmente subclínicos no fígado (apoptose dos hepatócitos) e nos órgãos linfóides (adenopatia), enquanto que a infiltração de células mononucleares e a replicação viral nos músculos e articulações estão associadas à artralgia e mialgia intensas, com alguns pacientes apresentando artrite. São considerados raros na FCHIK, os quadros clínicos de Síndrome de Guillain-Barré e encefalite (DUPUIS-MAGUIRAGA *et al.*, 2012).

Inúmeros estudos têm demonstrado a presença de mediadores inflamatórios nas três fases da FCHIK (HOARAU *et al.*, 2010; CHOW *et al.*, 2011; KREJBICH-TROTOT *et al.*, 2011a; KREJBICH-TROTOT *et al.*, 2011b).

Na fase aguda, o Interferon- α é detectado e está relacionado à carga viral (HOARAU *et al.*, 2010; CHOW *et al.*, 2011; KELVIN *et al.*, 2011; KREJBICH-TROTOT *et al.*, 2011a; KREJBICH-TROTOT *et al.*, 2011b; WAUQUIER *et al.* 2011). Os níveis de IL-12 e Interferon- γ também estão elevados (HOARAU *et al.*, 2010). No entanto, alguns estudos demonstraram que as concentrações de citocinas plasmáticas Th1 e Th2 permanecem baixas durante a infecção (HOARAU *et al.*, 2010; CHAAITHANYA *et al.*, 2011; CHOW *et al.*, 2011; KELVIN *et al.*, 2011; WAUQUIER *et al.* 2011). A fase subaguda envolve principalmente macrófagos (CHOW *et al.*, 2011) e apresenta mediadores pró-inflamatórios (IL-2R, IL-4, MIG/CXCL-9, MIP-1 α /CCL-3, fator de crescimento de hepatócitos (HGF), fator de crescimento fibroblástico básico (bFGF), fator estimulante de colônias de granulócitos (G-CSF) e eotaxina/CCL-11, fator de crescimento epidérmico (EGF) e RANTES/CCL-5 (HOARAU *et al.*, 2010). À medida que a doença progride para a fase crônica, a IL-17 torna-se detectável. Sendo que a persistência da artralgia pode ser associada a elevados níveis de IL-6 e de G-CSF. Em contrapartida, pessoas que se recuperam

completamente apresentam altos níveis de Eotaxina e fator de crescimento de hepatócitos (CHOW *et al.*, 2011).

A fase crônica da FCHIK pode persistir em um subconjunto de pacientes, com níveis variados de artralgia e mialgia, culminando em alguns casos com síndrome artrítica debilitante. Em um estudo realizado em Singapura, 13% dos pacientes infectados ainda apresentavam artralgia crônica três meses após a infecção (CHOW *et al.*, 2011). Outro trabalho, em Emília Romanha-Itália, evidenciou que 70% dos pacientes tinham sintomas persistentes aos seis meses, dos quais 32% apresentaram sintomas por mais de 12 meses (KELVIN *et al.*, 2011). Manimunda *et al.* (2010) descreveu que 49% dos doentes em Dakshina Kannada-Índia também tinham sintomas 10 meses após a infecção. Em Reunión, 50% dos pacientes permaneceram com sintomas de artralgia por até um ano (HOARAU *et al.*, 2010).

A teoria da persistência de CHIKV no tecido sinovial foi relatada por Labadie *et al.* (2010) em que demonstraram em modelo animal, após 90 dias de infecção, a presença do vírus em tecido articular de primatas com evidentes sinais de inflamação.

Um estudo mostrou no soro de pacientes a presença de imunoglobulinas neutralizantes específicas para CHIKV (COUDERC *et al.*, 2009). Essa imunidade passiva tem sido de grande interesse, uma vez que pode ser uma ferramenta de intervenção médica viável, especialmente nos indivíduos suscetíveis à grave infecção por CHIKV grave, tais como neonatos (SCHWARTZ; ALBERT, 2010).

A produção de anticorpos contra o vírus é suficiente para eliminar o vírus após a infecção (LEMANT *et al.*, 2008). Os anticorpos anti-CHIKV de classe IgM normalmente se desenvolvem entre o 5º ao 7º dia de infecção (**Figura 5**) enquanto que os de classe IgG aparecem entre o 10º ao 14º dia (MS, 2014).

A proteína C reativa (PCR) é um dos marcadores mais sensíveis utilizados na inflamação. A PCR é uma proteína de fase aguda que é formada pelos hepatócitos. Pode ser considerada uma opsonina, por se ligar aos patógenos e iniciar sua eliminação pela ativação do sistema complemento e fagócitos. Além disso, também está relacionada à extensão e intensidade inflamatória. Ela está presente normalmente no soro humano em concentrações inferiores a 6 mg/L (BLACK *et al.*, 2004). Entretanto, em condições inflamatórias pode aumentar cerca de 25%, com início da secreção de 4 a 6 horas após o estímulo, duplicando a cada 8 horas, com um pico entre 36 e 50 horas (EISENHARDT *et al.*, 2009; AGUIAR *et al.*, 2013). Logo após a resolução da inflamação os níveis de PCR diminuem, entre um período de 7 a 12 dias (GABAY; KUSHNER, 1999).

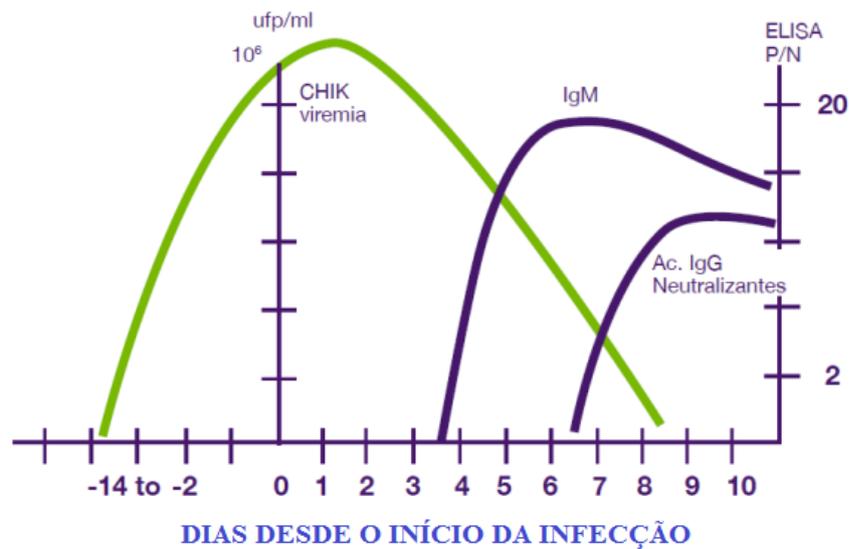


Figura 5: Viremia e resposta imune em infecção por CHIKV. Fonte: MS, 2014.

Em Marseille, exames revelaram um aumento no nível de PCR em viajantes febris que retornaram de ilhas francesas Comores e Reunión (PAROLA *et al.*, 2006). Hoarau *et al.* (2010) evidenciaram em pacientes idosos da ilha Reunión, durante os anos de 2006 a 2010, níveis elevados de PCR, média de 60,2 mg/L, defenderam ainda, que o estado crônico, marcado pela presença de artralgia, é mais evidente em pacientes com idade superior a 60 anos.

1.4 PATOGENIA DA FEBRE CHIKUNGUNYA

Para o diagnóstico laboratorial do CHIKV Robinson *et al.* (2014) relatam três tipos principais de ensaios: Isolamento viral, RT-qPCR e Sorologia. Amostras colhidas durante a primeira semana após o início dos sintomas devem ser testadas por dois métodos: sorológico (IgM e IgG ELISA específicos para CHIKV) e virológico (RT-qPCR ou isolamento viral). As amostras são geralmente sangue ou soro, mas nos casos neurológicos com características meningoencefalíticas, líquido cérebro-espinhal também pode ser coletado (MS, 2014).

1.4.1 Isolamento viral

O isolamento do vírus pode ser realizado em mosquitos coletados ou em amostras de soro na fase aguda, ≤ 5 dias (MURUGANANDAM *et al.*, 2011; MULYATNO, Kris C. *et al.*, 2012). Transportado refrigerado (entre 2° a 8°C ou gelo seco) por no máximo 48 horas para o laboratório, para ser inoculado em uma linhagem de células sensíveis ou através de inoculação em camundongos. Assim, o CHIKV produzirá efeitos citopáticos típicos dentro de

três dias após a inoculação em uma variedade de linhagens de células, incluindo células Vero, BHK-21 e células HeLa (BURT *et al.*, 2012). O isolamento de CHIKV deve ser confirmado por Imunofluorescência Indireta utilizando antissoro CHIKV específico ou por RT-qPCR do sobrenadante de cultura ou de suspensão de cérebro de camundongo (MS, 2014).

1.4.2 Reação em Cadeia de Polimerase em Tempo Real

A técnica de RT-qPCR é comumente utilizada para detectar o genoma viral do CHIKV (WANG *et al.*, 2016). Essa metodologia baseia-se na quantificação de um conjugado fluorescente durante a PCR, em que a intensidade de fluorescência emitida é diretamente proporcional à quantidade do produto de PCR numa reação (GIBSON *et al.*, 1996).

A RT-qPCR é muito vantajosa, por ser rápida e poder detectar o RNA viral do CHIKV bem no início da infecção (0 a 7 dias), possui menor taxa de contaminação, maior sensibilidade, maior especificidade e é de fácil padronização. No entanto, após o período virêmico, a técnica pode não ser necessariamente uma boa escolha de diagnóstico (PASTORINO *et al.*, 2005; RATCLIFF *et al.*, 2006).

1.4.3 Testes sorológicos específicos para CHIKV

O diagnóstico sorológico pode ser feito por ELISA e teste de neutralização por redução de placas-PRNT (OPAS, 2014). O diagnóstico por ELISA ocorre pela detecção de anticorpos das classes IgM e/ou IgG específicos para CHIKV (BURT *et al.*, 2012; MS, 2014).

A amostra de fase aguda deve ser coletada imediatamente após o início da doença e a de fase convalescente entre 10 e 14 dias após (MS, 2014).

1.5 PROBLEMATIZAÇÃO

Na iminência de surtos de arboviroses, questionou-se: indivíduos habitantes ou viajantes oriundos de áreas endêmicas que apresentam sinais ou sintomas como febre, artralgia e exantema podem estar com FCHIK?

1.6 JUSTIFICATIVAS

Estudos corroboram que doenças transmitidas por arbovírus, como o Chikungunya, são relevantes para a saúde pública, uma vez que a doença possui similaridade de sintomas com as flavivirose, dengue e zika, o que dificulta o manejo clínico precoce do paciente. Todavia, as manifestações clínicas articulares da FCHIK tendem a um quadro de cronicidade,

ocasionando sérios transtornos no cotidiano da pessoa afetada (BERLINGUER, 1999; FREITAS, 2012; TARANTO, 2013; CHARREL, 2014, CHACON *et al.*, 2015).

Ressalta-se que a infecção por CHIKV produz uma síndrome febril debilitante que, em virtude da intensidade dos sintomas articulares, pode evoluir para um quadro crônico da doença, interferindo na qualidade de vida da população afetada, com impactos econômicos significativos, devido à redução da produtividade (CHARREL *et al.*, 2014).

Pesquisas acerca dos problemas de saúde que afetam a qualidade de vida de indivíduos, utilizando o indicador de anos potenciais de vida perdidos ou vividos com incapacidade (DALY), que equivale a um ano de vida saudável perdido, foram feitas baseadas na ocorrência de surtos de FCHIK. Durante a epidemia de 2005/2006, nas ilhas Reunião, um estudo revelou perda de aproximadamente 55.000 DALY's, na maioria da população ativa (20-60 anos), sendo 86% devido à fase crônica da FCHIK (YASEEN *et al.*, 2012). Cardona-Ospina *et al.* (2015) estimaram que de 3.050 casos de FCHIK ocorridos no Brasil, em 2014, 1.529 poderiam ter evoluído para a fase crônica da doença, conseqüentemente, correspondendo a 598 DALY's nas pessoas com quadro artrítico.

Além disso, os sinais de febre e artralgia são usados como critério clínico-epidemiológico preditivo para FCHIK, durante surto da arbovirose (OPS, 2011; MS, 2014). No entanto, a maioria dos pacientes suspeitos vive ou viajou para área também endêmica de dengue e zika, conseqüentemente, ocasionando erros de diagnóstico ou ainda, atraso no manejo clínico adequado para o paciente (GUILHERME *et al.* 1996). O teste considerado padrão ouro de diagnóstico para a FCHIK é a RT-qPCR que confirma a presença do patógeno nos fluidos biológicos do hospedeiro (PARIDA, 2008). Porém nem sempre isso é possível, em razão do tempo de viremia. Assim, uma opção para elucidar a infecção atual ou pregressa por CHIKV, é a utilização de métodos sorológicos, como a detecção de anticorpos das classes IgM e/ou IgG específicos para o agente infeccioso (ANSUMANA *et al.*, 2013).

1.7 OBJETIVOS

1.7.1 Objetivo geral

Estudar aspectos clínicos e sorológicos de indivíduos apresentando quadro febril-exantemático e artralgia, característicos de FCHIK.

1.7.2 Objetivos específicos

- Descrever características clínicas e sociodemográficas dos sujeitos do estudo;
- Detectar a infecção pelo CHIKV na população do estudo;

- Identificar casos de infecção ou coinfecção por outro arbovírus, como o dengue e zika, nas amostras estudadas;
- Pesquisar a presença de anticorpos, IgM e IgG específicos para CHIKV, na população do estudo;
- Correlacionar sinais e sintomas com os resultados de IgM e IgG específicos para CHIKV, de acordo com o estágio da doença.
- Correlacionar os níveis de proteína C reativa dos indivíduos positivos para o CHIKV com o número de manifestações clínicas apresentadas.

1.8 HIPÓTESE

Indivíduos habitantes ou viajantes oriundos de áreas endêmicas que apresentam sinais ou sintomas como febre, artralgia e exantema podem estar com FCHIK, dado a proliferação de mosquitos vetores e posterior propagação da arbovirose.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 LOCAL E POPULAÇÃO DE ESTUDO

A presente pesquisa foi realizada nos municípios de Macapá, Oiapoque e Santana, pertencentes ao Estado do Amapá, e Goiânia-Goiás.

O Amapá está localizado na Região Amazônica, ao extremo norte do Brasil, delimitado ao norte pela Guiana Francesa, a noroeste pelo Suriname, a leste pelo Oceano Atlântico e a oeste e sul pelo estado do Pará. O acesso ao estado é por via fluvial ou aérea. O clima do estado é favorável ao crescimento de diversas espécies de mosquitos: é equatorial, quente e úmido, com apenas duas estações, uma de chuva (inverno) e outra de seca (verão). A temperatura média mínima é de 23 °C e a máxima de 38 °C. A população amapaense, segundo informações do censo realizado em 2010 pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) era de 669.526 habitantes, em 2016 está estimada em 782.295.

Goiânia pertence ao estado de Goiás, localizado no centro-oeste do país, delimita-se ao norte com o estado de Tocantins, ao sul com Minas Gerais e Mato Grosso do Sul, a leste com Bahia e Minas Gerais e a oeste com Mato Grosso (IBGE, 2010). O clima tropical também é favorável ao desenvolvimento do *Aedes sp.* e apesar da baixa incidência de casos prováveis de FCHIK, os estados adjacentes de Goiás tais como Bahia e Tocantins, possuem considerável incidência de casos da febre. Goiânia possui elevada atratividade migratória, característica atribuída em função de seu desenvolvimento econômico e expansão de atividades agroindustriais (QUEIROZ; SANTOS, 2015). Com densidade demográfica em torno de 1.776,74 hab./km² (IBGE, 2010).

A população de estudo foi constituída de 80 indivíduos com suspeita de FCHIK, em diferentes fases da doença: 49 aguda, 17 subaguda e 14 crônica. As amostras foram obtidas nas unidades de atendimento do Sistema Único de Saúde (SUS) da Secretaria Estadual de Saúde do Estado do Amapá, municípios de Macapá, Oiapoque e Santana, e no Núcleo de Estudo e Pesquisas Imunológicas (NEPY), da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, em Goiânia, entre os meses de fevereiro e março de 2016. A fim de comparar os marcadores inflamatórios, o grupo controle foi constituído de 20 amostras de sangue de doadores saudáveis da Central Goiana de Sorologia e Imunohematologia (**figura 6**).

Indivíduos elegíveis para participar do estudo, foram aqueles que apresentaram início súbito de febre e artralgia, ou ainda aqueles que reclamavam de intensa dor articular após um quadro febril-exantemático, com idade igual ou acima de 18 anos. Os participantes do estudo

responderam um breve questionário informando aspectos como zona de moradia, viagem realizada 30 dias antes do início dos sintomas, dados clínicos e laboratoriais, dentre outras informações (Apêndice 2). Foram excluídos desta pesquisa os indivíduos que apresentavam artralgia por outra condição médica pré-existente, ou aqueles que mesmo com dor articular também apresentavam sintomas de infecção do trato respiratório.

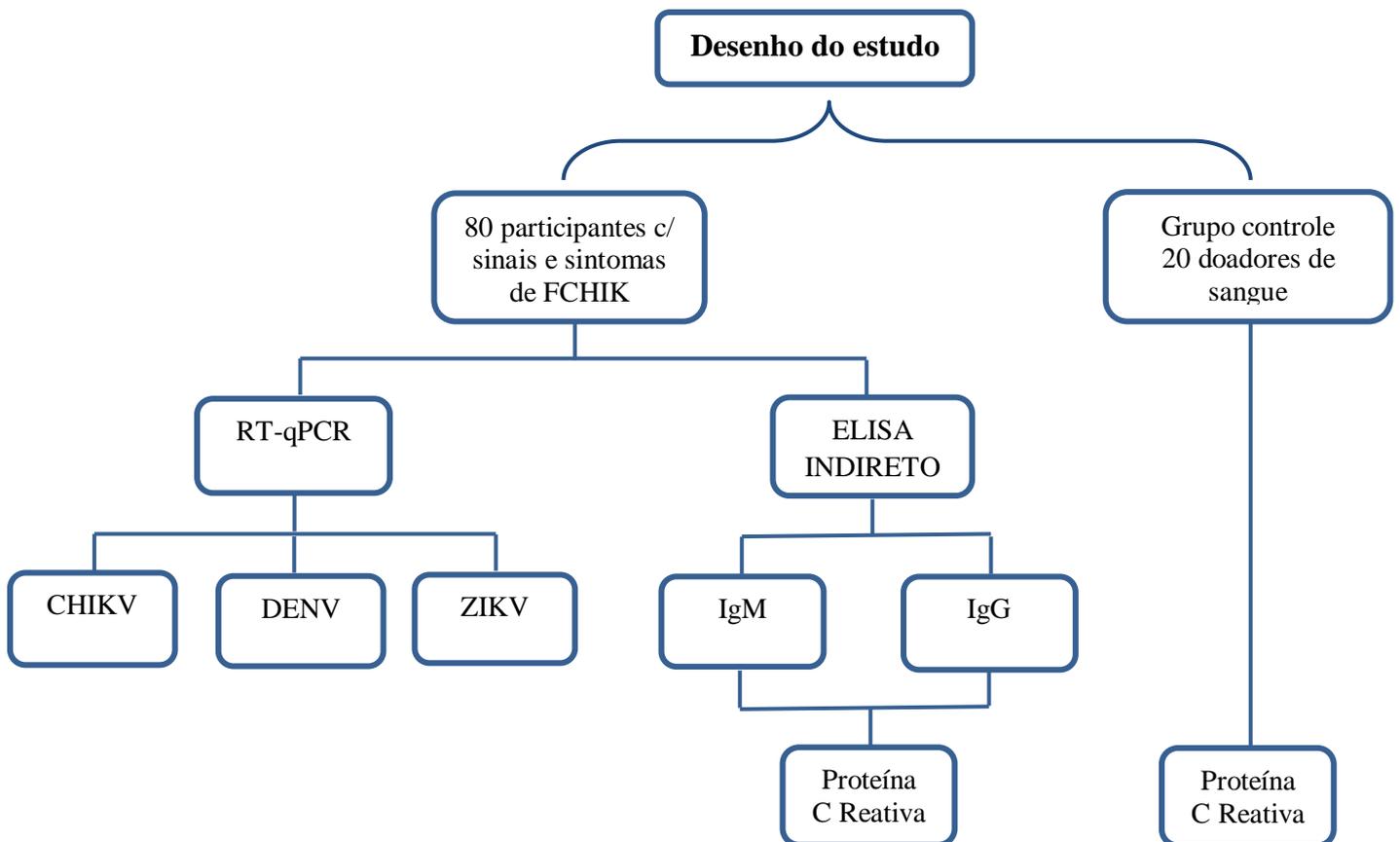


Figura 6: Fluxograma do estudo.

2.2 AMOSTRAS DE SANGUE E URINA

Foram coletadas amostras de sangue de cada paciente, 10 mL em tubo de coleta plasma/EDTA, com posterior separação do plasma. Além disso, foram coletados 10 mL de urina, para avaliação da presença do material genético viral nos casos em que não se obteve amostra sanguínea. Após a separação, as alíquotas de material biológico foram armazenadas, ao longo da execução do projeto de pesquisa, em Biorrepositório (freezer -80°C).

2.3 TRANSPORTE DE AMOSTRAS ORIUNDAS DO AMAPÁ

As amostras coletadas em participantes do Amapá foram transportadas para o estado de Goiás, conforme previsto na instrução suplementar n. 175-004 da Agência Nacional de

Aviação Civil, de 04 de abril de 2014. Tais amostras foram classificadas na Categoria B, por não serem capazes de causar risco de morte ou doença fatal. Foram identificadas com o número UN3373 e com nome apropriado para transporte, em embalagem de boa qualidade, resistente a impactos, carregamentos e sob refrigeração por gelo seco. Encaminhadas ao NEPY localizado na área V da Pontifícia Universidade Católica de Goiás para a realização dos testes.

2.4 EXTRAÇÃO DE RNA

O RNA total foi obtido a partir do plasma dos pacientes pelo kit *QIAamp®Viral RNA Mini* (QIAGEN, Hilden, Alemanha). Neste método ocorreu a ligação seletiva do vírus em uma membrana à base de gel-sílica sob o processo de microcentrifugação. Todo o processo de extração ocorreu em câmara de fluxo laminar, com todos os cuidados necessários à extração de RNA, com a utilização de microtubos, pipetadores e ponteiros *RNAse free*. Foram realizadas duas extrações em momentos diferentes, sendo uma para RNA viral de CHIKV e outra para ZIKV.

Inicialmente, foi adicionado 140 µL de plasma de cada amostra em um tubo de microcentrífuga de 1,5 mL, contendo 560 µL de tampão AVL (preparado com tampão AVE e RNA transportador), para uma eficiente lise, a solução foi centrifugada por 8.000 rpm por 15 segundos. Em seguida, adicionou-se 4 µL do controle interno de RNA (Plasmídeo TRIS-HCl) e incubou-se em temperatura ambiente (25° C) por 10 minutos. Posteriormente, essa solução foi centrifugada (8.000 rpm/15'') e seguida da adição de 560 µL de etanol, que foi homogeneizado por vórtex e novamente centrifugado (8.000 rpm/15''). Depois, o conteúdo da solução foi transferido para a coluna do QIAamp Mini e centrifugado (8.000 rpm/1').

Após esse processo, 500 µL de tampão AW1 foi adicionado a coluna do QIAamp Mini e centrifugado (8.000 rpm/1'), descartou-se o filtrado e a coluna foi reposicionada em um tubo de coleta. O mesmo procedimento foi realizado com o tampão AW2 e centrifugado (14.000 rpm/3'). Por fim, o RNA final foi eluído em 50 µL de Tampão AVE, por centrifugação a 8.000 rpm/1'.

2.5 DETECÇÃO DO RNA VIRAL PARA CONFIRMAÇÃO DA INFECÇÃO PELO CHIKV, DENV E/OU PELO ZIKV

Os kits para detecção de RNA viral utilizados foram: *Chikungunya Vírus* (Bioclin®, Lote 004, MS: 10269360301), *Go Taq® Probe 1-Step RT-qPCR System* (Promega, Lote 0000195463) e *Zika Vírus PCR* (Bioclin®, Lote 004, MS: 10269360300), que são

desenvolvidos seguindo recomendações do CDC (Centers for Disease Control and Prevention, USA), os quais amplificam regiões alvo localizadas no gene nsp1 (CHIKV), poliproteína 5'UTR (ZIKV) e CAAAAGGAAGTCGTGCAATA (DENV).

O processo foi o mesmo para os kits, porém foi realizado em momentos distintos. Foi constituído das seguintes etapas: preparo dos reagentes, eluição do padrão quantitativo, preparo da placa e definições do termociclador para a RT-qPCR.

Foi feito o preparo dos reagentes conforme protocolo do fabricante. Ressuspendidos solução de PCR (R1), solução de PCR CI (R4) e controle interno (R5) com o reagente água (R9) e o reagente Mix Taq (R2) com 525 µL do Tampão Mix (R3). O Padrão A (R7) foi ressuspendido com 500 µL do diluente (R8). Posteriormente, foi feita uma diluição seriada de R7, 3 microtubos (A, B e C) foram separados e 90 µL de R8 foi pipetado nos mesmos. Em seguida, pipetou-se 10 µL do Padrão A no microtubo B. Seguido de 10 µL do microtubo B no C. O mesmo procedimento foi realizado do microtubo C para o D.

Os poços na placa de PCR (*Light Cycler®480, Multiwell Plate 96, White, Roche*, REF 04 729 692 001, Lote 14030400) foram separados segundo o número de amostras, controles e padrões quantitativos. Então, o volume da solução de PCR final foi preparado em um microtubo baseado no número de reações realizadas. Posteriormente, pipetou-se a solução de PCR final nos poços selecionados para as reações, os padrões e RNA extraído das amostras.

A detecção do RNA viral e do controle da extração nas amostras foi realizada pelo termociclador PCR Real Time (*Light Cycler® 480 II, Roche*). A curva padrão e a detecção do CHIKV e/ou ZIKV foram obtidas pelo detector fluorescente FAM (465-510 nm), e o controle pelo VIC (533-580 nm).

2.6 DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO

Os kits para ensaio imunoenzimático utilizados foram o *Anti-Vírus Chikungunya ELISA-IgM* (Lote: E160311AF, MS: 81148560002) e *Anti-Vírus Chikungunya ELISA-IgG* (Lote: E160322CN, MS: 81148560003), *Euroimmun®*, Lubeck, Alemanha. Esses kits fornecem um ensaio *in vitro* para anticorpos humanos das classes IgM e IgG específicos para o CHIV, em amostra de soro ou plasma. Trata-se de um kit para ELISA baseado no método indireto, o qual contém tiras de microplacas revestidas com antígenos de CHIKV recombinante. No caso de amostra positiva, anticorpos IgM ou IgG se ligam aos antígenos, que com o uso de conjugado enzimático, ocorre uma reação de cor.

As amostras de soro ou plasma foram diluídas a 1:101 em diluente de amostra contendo IgG anti-humano e foram adicionadas aos poços de microtitulação revestidos com

antígeno CHIKV recombinante. A placa foi incubada por 1 hora a 37 °C, depois foram realizadas 3 lavagens em lavadora *Biotek* Elx50. Seguida da adição de imunoglobulina de interesse (IgM ou IgG) anti-humano marcada com peroxidase. Após 30 minutos à temperatura ambiente, os poços foram lavados novamente e depois adicionou-se uma solução substrato-cromógeno (tetrametilbenzidina mais peróxido de hidrogênio) durante 15 minutos à temperatura ambiente. A reação de cor foi interrompida pela adição de ácido sulfúrico 0,5 M. As densidades ópticas (DO) foram medidas a 450 nm (comprimento de onda de referência) para cada poço utilizando um leitor fotométrico *Multiskan EX Labsystems*®. De acordo com as instruções do fabricante, os resultados foram expressos como valores de índice, calculados dividindo a DO de uma amostra pela DO de um soro de calibrador fornecido com kit incluído na mesma série. Valores de índice <0,8 foram considerados negativos, valores de 0,8 a <1,1 foram considerados equívocos e valores de $\geq 1,1$ foram considerados positivos.

Resultados de IgM foram interpretados qualitativamente, quando valores de absorvância superiores a 0,376 foram considerados **positivos**. Os resultados de IgG foram interpretados, semiquantitativamente, pela razão da leitura do controle ou amostra dividido pela leitura do calibrador. Considerando o seguinte resultado **negativo** < 0,8, **indeterminado** $\geq 0,8$ a < 1,1 e **positivo** $\geq 1,1$.

2.7 QUANTIFICAÇÃO DA PROTEÍNA C REATIVA

A determinação quantitativa da PCR foi realizada por meio de método de turbidimetria automatizado (*Selectra XL*), *kit CRP ultrasensível Turbidimetria do látex, Spinreact* (REF 43134, Lote 3049). O grau de aglutinação é proporcional à concentração de proteína C-reativa na amostra. Cujá presença ≥ 5 mg de PCR na amostra causa aglutinação das partículas de látex cobertas com anticorpos antiproteína C-reativa (anti-PCR). Esse processo de aglutinação provoca uma mudança na absorvância, dependente de conteúdos de PCR das amostras que possam ser quantificados por comparação em relação ao calibrador (LIMA *et al.*, 2007).

Todos os reagentes líquidos do kit estavam prontos para serem usados, e só foi necessário preparar as diluições do calibrador. Essa foi feita em NaCl 9g/L, e a concentração do calibrador foi multiplicada pelo fator correspondente indicado na **Quadro 1**, para obtenção da concentração de PCR de cada diluição.

Os reagentes e suporte de cuvets foram colocados no equipamento a 37°C e as condições do ensaio foram preparadas, o comprimento de onda foi ajustado para 540nm e o passo de luz no cuvete ajustado para 1 cm. Em seguida, o equipamento foi zerado com água destilada e no cuvete pipetou-se 0,8 mL de diluente (R1) e 0,2 mL de látex (R2), ambos foram

homogeneizados e lidos, gerando o resultado do reagente branco. Posteriormente, a o calibrador e as amostras foram adicionadas nos cuvetes e a leitura feita após 4 minutos.

Diluição do Calibrador	1	2	3	4	5	6
Calibrador PCR-u (µL)	---	5	10	25	50	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	95	90	75	50	---
Fator	0	0,05	0,1	0,25	0,5	1,0

Quadro 1 – Diluição do Calibrador para PCR

2.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados sócio-demográficos (idade, sexo, zona de residência e viagem anterior a 30 dias), clínicos (principais manifestações clínicas) e laboratoriais (tempo de coleta das amostras sanguíneas após manifestação de sinais e sintomas) foram representados por estatística descritiva, por meio do programa Excel 2010 (*Microsoft Office*). Os resultados de PCR expressos como mediana e analisados estatisticamente com o programa *GraphPad Prism versão 5* (*Graphpad software, San Diego, CA, USA*).

A comparação entre os níveis de PCR dos pacientes CHIKV positivos com o grupo controle foi realizada por teste não paramétrico, *Mann-Whitney U test*, com Intervalo de Confiança de 95% (IC95). A análise dos níveis de PCR de acordo com cada fase em que os participantes estavam foi feita pelo teste não paramétrico *Kruskal-Wallis*, por se tratar de três fases evolutivas de diferentes participantes. Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$.

2.9 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Esta pesquisa seguiu o disposto nas Resoluções do Conselho Nacional de Saúde, CNS 466/12, de 12 de dezembro de 2012 e Resolução CNS 441/11, de 12 de maio de 2011.

Os indivíduos dispostos a participar voluntariamente da pesquisa assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice 1), sob a prerrogativa do Comitê de Ética da PUC-GOIÁS pelo parecer: 1.362.875, CAAE: 46073815.9.0000.00370.

3 RESULTADOS

A população do estudo foi composta por 80 participantes com sinais e sintomas de FCHIK, dentre eles 19 residentes de Macapá, 37 Oiapoque, 1 Santana-AP e 23 de Goiânia-GO. Observou-se a média de idade de 38,2 anos (mínima de 18, máxima de 82 anos), sendo 24% do gênero masculino e 76% do feminino. Quanto à moradia, houve predominância de 97% de residentes de área urbana e 3% de periurbana. Ainda questionados sobre viagem realizada há 30 dias antes da participação no estudo 65% disseram que não se deslocaram de sua cidade.

Em relação à escolaridade, 12,5% têm ensino fundamental incompleto, 15% ensino fundamental completo, 5% ensino médio incompleto, 27,5% possui o ensino médio completo, 7,5% o ensino superior incompleto e 32,5% o superior completo. O grupo de doadores saudáveis foi composto por 20 indivíduos, com média de idade de 34,2 anos (mínima de 19, máxima de 56 anos), sendo 65% do gênero masculino e 35% do feminino.

Com relação à data da coleta de material biológico e início dos sintomas, a maioria dos voluntários (63,8 %) estava na fase aguda da doença, representado na **Tabela 1**.

Tabela 1: Distribuição da frequência dos participantes segundo o intervalo de tempo entre o início dos sintomas e a coleta de material biológico.

Início dos sintomas/coleta de amostra	Tempo (Dias)	f	%
Aguda	1-10	51	63,8
Subaguda	11-90	15	18,8
Crônica	91 ou mais	14	17,5

As amostras de urina e plasma não apresentaram limiar de detecção quantitativa do RNA viral do CHIKV por meio de RT-qPCR. Todavia quando analisadas para DENV, uma amostra de plasma foi positiva para dengue tipo 1, a qual apresentou positividade para IgG específica para o CHIKV. Para o ZIKV, observou-se que das 80 amostras coletadas (tanto plasma quanto urina), 03 amostras foram positivas para ZIKV, sendo uma de urina (oriunda das amostras do Amapá) e duas de plasma (oriundas de Goiânia-GO).

Na sorologia a IgM específica para o CHIKV, 03 amostras foram positivas, sendo três participantes moradores de Macapá-AP. Um participante se encontrava em fase aguda da doença, apresentou sintomas de artralgia, edema, febre e vômito, enquanto que os dois

remanescentes encontravam-se em fase subaguda, ambos tiveram artralgia, cefaleia, edema, mialgia e náuseas.

Quando quantificada a IgG específica para o CHIKV, 26 amostras foram positivas, dentre elas 01 de Goiânia-GO e 25 de Amapá, sendo 03 de Macapá e 22 de Oiapoque. Em relação ao estágio da doença, 19,6% (10/51) encontravam-se em fase aguda (9 amostras AP e 1 GO), 93,3% (4/15) em fase subaguda e 85,7% (12/14) em fase crônica. Três participantes reagiram tanto para IgM quanto para IgG (**Figura 7**).

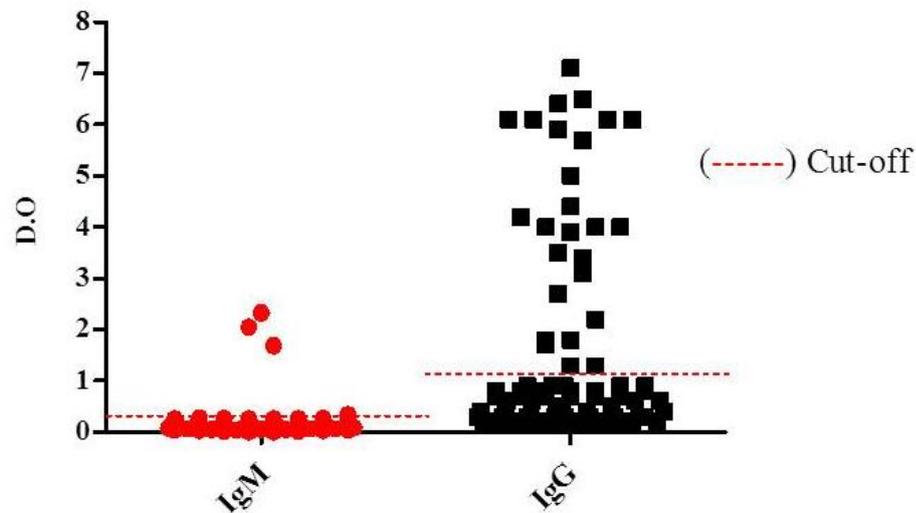


Figura 7: Quantificação (ELISA) de IgM e IgG específica para o CHIKV.

Dentre os sinais e sintomas relatados dos participantes com IgG reigente, observou-se que todos (fase aguda, n=10) tiveram febre, 90% cefaleia, 70% artralgia e 60% edema. Aqueles de fase subaguda (n=4) desenvolveram com maior frequência, artralgia e cefaleia (100%), mialgia e edema (75%). Enquanto os de fase crônica (n=12) tiveram edema (100%), artralgia (92%) e mialgia (75%) (**Figura 8**).

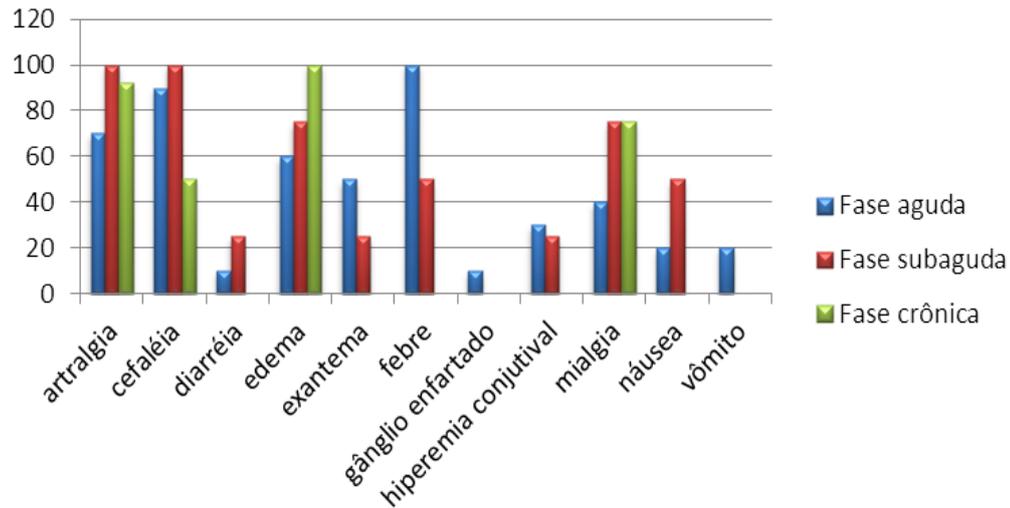


Figura 8: Representação da frequência das manifestações clínicas dos participantes IgG positivos, de acordo com as fases de FCHIK.

Participantes cuja sorologia foi negativa para CHIKV (IgM e/ou IgG), apesar de queixarem-se de dores articulares, relataram principalmente sinais ou sintomas como exantema, cefaleia e febre, (**Figura 9**).

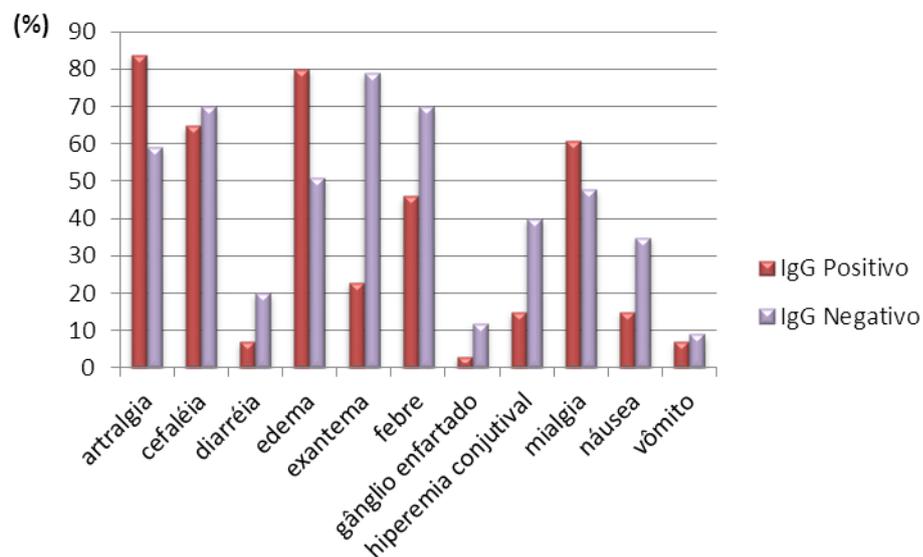


Figura 9: Representação da frequência das manifestações clínicas dos participantes com ou sem IgG para o CHIKV.

Foi dosada a PCR em 26 indivíduos infectados pelo CHIKV e em 20 doadores saudáveis. Os níveis de PCR nos doadores saudáveis estavam em nível basal, variando entre 0,2 a 2,0 mg/L. Enquanto que nos indivíduos infectados com o CHIKV os valores foram entre 0,2 a 10,4 mg/L ($p = 0,0236$) (**Figura 10**).

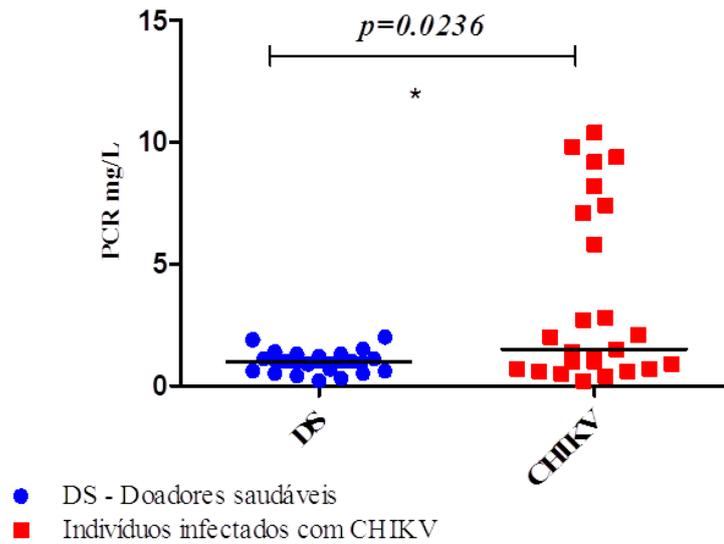


Figura 10: Níveis de PCR em doadores saudáveis e indivíduos infectados com CHIKV. Os resultados foram analisados pelo *Mann-Whitney U test* e apresentaram diferença estatística, $p<0,05$.

Verificou-se que indivíduos em fase aguda apresentavam maiores níveis de PCR do que os demais participantes (**Figura 11**).

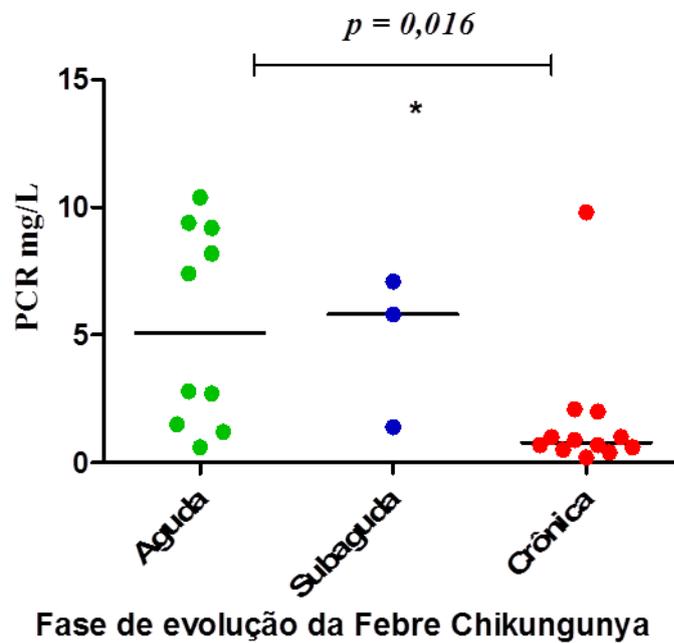


Figura 11: Correlação dos níveis de PCR com a fase evolutiva da FCHIK. Os resultados foram analisados pelo teste *Kruskal-Wallis* e apresentaram diferença estatística, $p<0,05$.

4 DISCUSSÃO

A participação feminina no estudo foi predominantemente maior do que a masculina. Van Genderen *et al.* (2016) apontaram em estudo ocorrido em Suriname, durante surto de FCHIK em 2014, que a maioria (81,8%) das pessoas suspeitas da infecção eram mulheres que procuraram cuidados de saúde nos serviços ambulatoriais locais. Estudos de demanda por saúde numa perspectiva sociocultural assinalam que a ideia de cuidados com a saúde está associada à prevenção, e que os serviços de saúde costumam ser procurados mais frequentemente por mulheres pela percepção que estas têm de seu papel no processo saúde-doença. Enquanto a demanda masculina por serviços ambulatoriais é descrita, em sua maior parte, como gerada pelo trabalho ou por seguro social (GOMES *et al.*, 2007, LEVORATO *et al.*, 2014).

As manifestações clínicas relatadas pelos participantes do estudo são consistentes com a definição de caso suspeito estabelecida pela OPS (2011). Esses sinais e sintomas clínicos, também foram relatados pelos pacientes infectados pelo CHIKV, em 2008, durante epidemia na Malásia, em que a manifestação clínica mais frequente foi febre, exantema e artralgia (SAM *et al.*, 2009). De fato, a similaridade de sintomas entre os pacientes da Malásia e os desse estudo, pode ser relacionado com o mesmo agente infectante, especificamente das linhagens asiática e ECSA do CHIKV. Um estudo epidemiológico e filogenético indicou a transmissão do genótipo asiático do CHIKV, em Oiapoque-AP, oriundo de surtos ocorridos no Caribe, e o genótipo ECSA, em Feira de Santana-BA, que inicialmente se deu por um caso importado, quando um brasileiro regressara da Angola apresentando sintomas da doença (NUNES *et al.*, 2015).

A maioria da população do estudo reside em região urbana e uma pequena parcela em área periurbana. Historicamente, os principais vetores de CHIKV, *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, foram transportados por navios para as Américas, a partir da África Ocidental. Evoluíram e se adaptaram ao ambiente urbano, garantindo sua distribuição generalizada e colonização nos trópicos, o que provavelmente favoreceu a transmissão inter-humana de arbovírus como DENV, CHIKV e ZIKV (WEAVER; REISEN, 2010).

Em um estudo realizado em municípios brasileiros com características de urbanização diferenciadas, observou-se uma predominância de *Ae. aegypti* em ambiente altamente urbanizado, *Ae. albopictus* em áreas rurais e abundância similar de ambas as espécies em área periurbana (PROPHIRO *et al.*, 2011). Assim sendo, a urbanização pode potencialmente

modificar a ecologia desses mosquitos, alterando a composição e dinâmica dessas espécies, ou ainda, na abundância de sítios de reprodução devido a alterações ambientais, contribuindo assim para a disseminação de arboviroses (LI *et al.*, 2014). Considerando a disseminação dos mosquitos *Aedes sp.*, há vários anos, é possível, também inferir que um considerável número de casos de FCHIK no mundo decorre da globalização, sendo que o fator preponderante foi a adaptação do vetor ao ambiente urbano (WEAVER, 2013; CHARREL *et al.*, 2014; SUK; SEMENZA, 2014).

Isto posto, os Estados onde foi realizado o estudo, estão situados em Região Tropical, por isso o clima e os elementos urbanos favorecem a proliferação vetorial, principalmente em precárias condições de abastecimento de água em todos os domicílios, manejo de resíduos sólidos ou mesmo de águas pluviais (HONÓRIO *et al.*, 2009; SUK; SEMENZA, 2014).

Na região do Estado do Amapá há uma intensa imigração humana entre o Brasil e a Guiana Francesa. Enquanto que em Goiânia, é conveniente mencionar sua elevada atratividade migratória (QUEIROZ; SANTOS, 2015). Nesse sentido, muitos autores classificam a FCHIK como a doença dos viajantes, quando pessoas que retornam de áreas endêmicas devem considerar o risco de infecção pelo CHIKV, principalmente aqueles que apresentarem sinais característicos da arbovirose (BURDINO *et al.* 2015; ZEANA *et al.* (2016). Ressalta-se, ainda, que a população susceptível sadia desses locais, pode ser um pré-requisito para potencial endêmico da FCHIK em tais localidades, uma vez que albergam espécies de *Aedes sp.* (CHARREL *et al.*, 2014; VEGA-RÚA *et al.*, 2014).

Quando se observou no questionário se os voluntários teriam viajado 30 dias antes da participação no estudo. Em torno de 35% se deslocaram para outra cidade. Por isso, as autoridades de saúde enfatizam que mesmo em uma curta viagem deve-se adotar medidas de precauções para evitar picadas de mosquito, visto que podem trazer consigo sintomática ou assintomática infecção pelo CHIKV (NEITZEL *et al.*, 2010).

As amostras biológicas obtidas para o estudo foram colhidas nos primeiros dez dias de infecção. Todavia, não apresentaram limiar de detecção de RNA viral. Sabe-se que o diagnóstico laboratorial da FCHIK depende da qualidade e do tempo em que a amostra é obtida durante o curso da doença, pois o curto período virêmico torna a detecção por RT-qPCR muito limitada, ou seja, com tempo de infecção inferior a sete dias (CAREY *et al.*, 1969).

Apesar dessa técnica possuir elevada sensibilidade e acurácia no sentido de detectar e quantificar a carga viral, a não detecção do CHIKV não excluiu a presença de infecção, pode-se inferir que o título do patógeno estivesse abaixo do limite de detecção do kit utilizado

(VALASEK; REPA, 2005; NASCIMENTO; SUAREZ, 2010). No entanto, Musso *et al.* (2016) demonstraram a detecção viral, em amostras de saliva, duas semanas após o início dos sintomas, por igual metodologia. Em 2015, Jones e Okeoma detectaram em modelo animal o vírus na urina 30 dias após início de infecção, também por RT-qPCR.

De fato, a queixa de início dos sinais e/ou sintomas é relatada pelo indivíduo com suspeita de FCHIK antes da coleta de material biológico. Pondera-se, ainda, levar em consideração o período de incubação de 3 a 7 dias, que antecedem a clínica abrupta de febre e poliartralgia aguda (NKOGHE *et al.*, 2012). Por isso, ratifica-se que mesmo o teste molecular tenha demonstrado resultado negativo é necessário realizar a pesquisa de anticorpos, no caso de suspeita clínica, para confirmar a presença ou recuperação de infecção por CHIKV (ANSUMANA *et al.*, 2013).

Assim, ao se realizar a pesquisa de anticorpos IgM, três participantes foram reagentes. O primeiro estava na fase aguda da doença quando foi realizada a coleta de material para a pesquisa. Enquanto que os outros se encontravam em fase subaguda, essa persistência de anticorpos IgM por um período mais prolongado, também foi registrada por Fourie e Morrison, em 1979, quando relataram a persistência de IgM em até 12 meses, em pacientes que sofriam de poliartrite ou artrite reumatóide após FCHIK. Olivier *et al.* (2009) descreveram casos positivos de IgM após 7 a 10 meses, em casos importados.

Ainda sobre os referidos participantes, aparentemente, trata-se de casos importados, pois um deles quando retornou de Bezerros-PE para Macapá-AP, teve dores articulares, febre, edema e vômito. Os outros tiveram artralgia, cefaleia, edema, mialgia e náuseas. Eram mãe e filha, que viajaram para Tibau do Sul e Parnamirim-RN, dias antes da participação no estudo. Casos importados de FCHIK propiciaram o início da epidemia na ilha Reunião, a partir de 2005, quando viajantes turistas ou habitantes da ilha trouxeram consigo o arbovírus, que por repasto sanguíneo de mosquitos domésticos e peridomésticos rapidamente se instalou nessa região (PAROLA *et al.*, 2006).

Quando pesquisada a IgG, 26 amostras foram positivas, das quais 01 era de um participante de Goiânia, 03 de Macapá e 22 de Oiapoque. Estudos demonstraram que a detecção dessa classe surge, em média, a partir do 7º ao 10º dia de FCHIK, persistindo por mais de 13 meses após o início dos sintomas (SAM; ABUBAKAR, 2006; PIALOUX *et al.*, 2007; HAS, 2013; PIERRO *et al.*, 2015).

Tal como, os participantes com IgM, o participante IgG positivo de Goiânia relatou a ida para o Estado do Tocantins alguns dias antes da coleta do material biológico. Dados do boletim epidemiológico do MS, semana 23 de 2016, notificaram 1.038 casos prováveis de

FCHIK, de pessoas com queixas de doença febril-exantemática e artralgia nas unidades de saúde do Estado do Tocantins (MS, 2016). Essas informações reforçam a recomendação de proteção que todos devem seguir, tais como: utilizar roupas que protejam o corpo contra picadas de insetos durante passeios eco turísticos, aplicar repelente nas áreas expostas da pele, ser consciente de que se estiver infectado com o CHIKV o indivíduo é reservatório do vírus e que, portanto, a pessoa doente deve seguir as mesmas medidas de proteção, evitando a propagação da arbovirose (TITHER, 2014).

Os voluntários com sorologia negativa para CHIKV (IgG-ELISA), apesar de possuírem dores articulares, tiveram manifestações clínicas como exantema, cefaleia e febre. Apesar da evidência de circulação de CHIKV no Brasil, também tem sido frequente infecções por DENV e ZIKV. Em uma amostra de urina de participante do Amapá foi possível confirmar a presença do RNA viral do zika. Assim como Lustig *et al.* (2016) demonstraram em um estudo realizado na Flórida, em pessoas que retornaram de viagens, onde 82% das amostras de urina colhidas após o 5º dia de sintomas, foram positivas para zika por RT-qPCR. As amostras de Goiânia eram de mulheres em período gestacional, com 24 e 18 semanas cada. Nesse mesmo ensejo, Petersen *et al.* (2016) relacionaram a possibilidade de transmissão do ZIKV em todas as fases da gestação, com maior desenvolvimento da microcefalia nos primeiros 3 meses de gestação.

A circulação de CHIKV, DENV e ZIKV se deve ao fato de que o vetor, *Aedes sp.*, é permissivo para esses e outros arbovírus (PESSÔA *et al.*, 2016). Campos *et al.* (2015) reportaram infecção por ZIKV em 42% de seus pacientes, em Camaçari, nordeste do Brasil, eles tinham exantema, febre, mialgia e cefaleia. O estudo também revelou a presença do CHIKV em 12% dos investigados. O mesmo estudo, também demonstrou, em 54 amostras de soro de pacientes com doença exantemática aguda, a detecção simultânea de ZIKV e CHIKV em 5,2% das amostras, em Salvador-BA.

Os participantes do estudo tinham manifestações clínicas comuns a outras infecções, de certa forma podem ser confundidos com uma variedade de doenças, incluindo dengue, malária, Zika e influenza (BACCI *et al.*, 2015). Assim, defende-se a clínica de dores articulares intensas e persistentes, que afetam pulsos, cotovelos, dedos e joelhos, em alguns pacientes, como suspeita de infecção por alfavírus, sobretudo o CHIKV (SERGON *et al.*, 2008).

Apesar do fato de todos os participantes relatarem a presença de artralgia. A confirmação laboratorial de mais de um arbovírus nesse estudo, refuta a hipótese, preconizada

por órgãos de saúde nacionais e internacionais, que estabelecem a definição de caso confirmado de FCHIK por critério clínico-epidemiológico, tal como:

Durante o surgimento dos primeiros casos, todos os esforços devem ser realizados com o intuito de alcançar o diagnóstico laboratorial. No entanto, uma vez estabelecida a transmissão sustentada, nem todos os pacientes necessitarão de confirmação laboratorial. Reservar a investigação laboratorial, neste contexto, para os casos graves ou com as manifestações atípicas. É importante seguir as recomendações do serviço de vigilância epidemiológica e considerar a confirmação clínico-epidemiológica nas áreas com transmissão (WHO, 2009; OPS, 2011; MS, 2015).

As manifestações clínicas das fases iniciais das três arboviroses, dengue, Chikungunya e Zika, são muito similares, demonstrando que o diagnóstico clínico não pode distinguir essas arboviroses (REZZA, 2014; WAGGONER *et al.*, 2016). A diferenciação precisa entre essas doenças somente é possível por diagnóstico laboratorial. Além disso, o diagnóstico desses arbovírus é particularmente difícil, em áreas de co-circulação, uma vez que a possibilidade de reatividade cruzada é esperada, ou ainda, períodos de baixa viremia que dificultam a detecção de material genético e isolamento viral (HAYES, 2009; CAMPOS *et al.*, 2015; KELSER, 2015). Tais fatos tornam o diagnóstico baseado apenas em dados clínico-epidemiológicos. Apesar disso, este estudo confirma que é necessário fazer o diagnóstico laboratorial, pois essa confirmação é crucial para o diagnóstico diferencial preciso dentre as três infecções, que compartilham manifestações clínicas e vetor comuns (CABRAL-CASTRO *et al.*, 2016).

Quando a PCR foi avaliada, observou-se que o padrão desta proteína esteve superior nos indivíduos infectados pelo CHIKV quando comparado aos níveis dos indivíduos saudáveis ($p < 0,05$). Algumas pesquisas descreveram o aumento dessa proteína em indivíduos com FCHIK (PAROLA *et al.*, 2006; CHOW *et al.*, 2011; SEPÚLVEDA-DELGADO *et al.*, 2016). Além disso, um estudo de coorte realizado em unidade de tratamento intensiva, de Guadalupe e Martinica no Caribe, evidenciou o aumento dos níveis séricos da PCR em 28 pacientes com FCHIK, os quais desenvolveram quadro severo da doença como encefalite, síndrome de Guillain-Barré (CROSBY *et al.*, 2016).

Ao se correlacionar os níveis da PCR de cada participante, segundo a fase da doença (aguda, subaguda e crônica) que estavam no momento de participação no estudo, observou-se um aumento dessa proteína naqueles participantes que estavam na fase aguda, ($p = 0,016$). A PCR é útil para estabelecer o processo inflamatório de infecções por CHIKV, fornecendo achados de curso clínico da doença, pois estudos demonstram o aumento dessa proteína na fase aguda da doença (SEPÚLVEDA-DELGADO *et al.*, 2016). No estudo, os níveis de PCR

estavam mais elevados nos indivíduos com mais de 4 manifestações clínicas. No entanto, Hoarau *et al.* (2010) demonstrou que somente pela percepção de artralgia já era um quadro clínico suficiente para o aumento dos níveis de PCR.

A FCHIK tem sintomas semelhantes aos de outras doenças transmitidas por mosquitos, como dengue e febre zika, além do mais, o vetor é o mesmo para essas arboviroses, o que contribui para a co-circulação nas áreas endêmicas. Por isso esse estudo reforça a necessidade em realizar ensaios laboratoriais em pessoas com quadro clínico característico de arboviroses. Principalmente pelas complicações que tais doenças representam para a saúde humana, como dengue hemorrágica, cronicidade de FCHIK, Síndrome de Guillain-Barré e a possibilidade de microcefalia em bebês nascidos de mães que tiveram infecção por ZIKV durante a gestação. Com isso, estudos devem ser aprofundados no sentido de estabelecer o diagnóstico precoce e diferencial dentre esses três arbovírus, garantindo um manejo clínico célere e adequado ao indivíduo infectado.

5 CONCLUSÕES

- A maioria dos participantes mora em ambiente urbano e não se deslocou para outra cidade, 30 dias antes da participação no estudo.
- Todos os indivíduos foram negativos para CHIKV por qRT-PCR, na mesma técnica um participante foi positivo para DENV tipo 1, três participantes foram positivos para ZIKV.
- Alguns indivíduos foram positivos para IgM e/ou IgG. Com sinais e sintomas de artralgia, edema, cefaleia, mialgia e febre.
- Observou-se que o padrão da PCR esteve superior nos indivíduos infectados pelo CHIKV quando comparado aos níveis dos indivíduos saudáveis. E quando correlacionado com as fases em que cada participante se enquadrava, aqueles de fase aguda apresentaram maiores níveis de PCR.
- Apesar de atual surto de arboviroses como ZIKV e DENV, o RNA viral do Chikungunya não foi detectado no plasma desses indivíduos. Os participantes com sorologia negativa para CHIKV, apesar de apresentarem dor nas articulações, tinham sintomas comuns a infecções por outros arbovírus, como o DENV e ZIKV, como erupções cutâneas, dores de cabeça e febre.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, Francisco JB *et al.* Proteína C reativa: aplicações clínicas e propostas para utilização racional. *Revista da Associação Médica Brasileira*, v. 59, n. 1, p. 85-92, 2013.
- AGUIAR, Ricardo. Conheça melhor a doença que está chegando ao Brasil e pode causar uma epidemia pelo país. *Ciência e Cultura*, v. 66, n. 4, p. 10-11, 2014.
- ANSUMANA, Rashid *et al.* Reemergence of chikungunya virus in Bo, Sierra Leone. *Emerging Infectious Diseases*, v. 19, n. 7, p. 1108-1110, 2013.
- APPASSAKIJ, Hatsadee *et al.* Viremic profiles in asymptomatic and symptomatic chikungunya fever: a blood transfusion threat?. *Transfusion*, v. 53, n. 10pt2, p. 2567-2574, 2013.
- APPASSAKIJ, Hatsadee *et al.* The risk of blood transfusion-associated Chikungunya fever during the 2009 epidemic in Songkhla Province, Thailand. *Transfusion*, v. 54, n. 8, p. 1945-1952, 2014.
- BACCI, Anastasia *et al.* High Seroprevalence of Chikungunya Virus Antibodies Among Pregnant Women Living in an Urban Area in Benin, West Africa. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 92, n. 6, p. 1133-1136, 2015.
- BERLINGUER, Giovanni. Globalização e saúde global. *Estudos Avançados*, v. 13, n. 35, p. 21-38, 1999.
- BLACK *et al.* C-reactive protein. *Journal of Biological Chemistry*, v. 279, n. 47, p. 48487-48490, 2004.
- BORGHERINI, Gianandrea *et al.* Outbreak of chikungunya on Reunion Island: early clinical and laboratory features in 157 adult patients. *Clinical Infectious Diseases*, v. 44, n. 11, p. 1401-1407, 2007.
- BURDINO, Elisa *et al.* Travelers with chikungunya virus infection returning to Northwest Italy from the Caribbean and Central America during June–November 2014. *Journal of Travel Medicine*, v. 22, n. 5, p. 341-344, 2015.
- BURT, Felicity J. *et al.* Chikungunya: a re-emerging virus. *The Lancet*, v. 379, n. 9816, p. 662-671, 2012.
- CABRAL-CASTRO, Mauro Jorge *et al.* Molecular and serological techniques to detect co-circulation of DENV, ZIKV and CHIKV in suspected dengue-like syndrome patients. *Journal of Clinical Virology*, v. 82, p. 108-111, 2016.
- CAMPOS, Gubio S. *et al.* Zika virus outbreak, Bahia, Brazil. *Emerging Infectious Diseases*, v. 21, n. 10, p. 1885, 2015.
- CARDONA-OSPINA, J.A. *et al.* Burden of chikungunya in Latin American countries: estimates of disability-adjusted life-years (DALY) lost in the 2014 epidemic. *International Journal of Infectious Diseases*, v. 38, p. 60–61, 2015.

- CAREY, Donald E. *et al.* The 1964 chikungunya epidemic at Vellore, South India, including observations on concurrent dengue. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 63, n. 4, p. 434-445, 1969.
- CHAAITHANYA, Itta Krishna *et al.* Role of proinflammatory cytokines and chemokines in chronic arthropathy in CHIKV infection. *Viral Immunology*, v. 24, n. 4, p. 265-271, 2011.
- CHACON, Rafael *et al.* Influenza Illness among Case-Patients Hospitalized for Suspected Dengue, El Salvador, 2012. *PloS One*, v. 10, n. 10, p. e0140890, 2015.
- CHARREL, R. N. *et al.* Globalization of Chikungunya: 10 years to invade the world. *Clinical Microbiology and Infection*, v. 20, n. 7, p. 662-663, 2014.
- CHENEY, Garnett. Appearance of a dengue-like fever in Northern California. *Archives of Internal Medicine*, v. 56, n. 6, p. 1067-1096, 1935.
- CHEVILLON, Christine *et al.* The Chikungunya threat: an ecological and evolutionary perspective. *Trends in Microbiology*, v. 16, n. 2, p. 80-88, 2008.
- CHOW, Angela *et al.* Persistent arthralgia induced by Chikungunya virus infection is associated with interleukin-6 and granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *Journal of Infectious Diseases*, v. 203, n. 2, p. 149-157, 2011.
- COUDERC, Thérèse *et al.* Prophylaxis and therapy for Chikungunya virus infection. *Journal of Infectious Diseases*, v. 200, n. 4, p. 516-523, 2009.
- CROSBY, Laura *et al.* Severe manifestations of chikungunya virus in critically ill patients during the 2013–2014 Caribbean outbreak. *International Journal of Infectious Diseases*, v. 48, p. 78-80, 2016.
- DIALLO, Mawlouth *et al.* Vectors of Chikungunya virus in Senegal: current data and transmission cycles. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 60, n. 2, p. 281-286, 1999.
- DIRETORIA DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA-DIVE. Secretaria Estadual de Saúde. *Guia de Orientação para Treinamento de Técnicos de Laboratório de Entomologia*. Santa Catarina, 2008.
- DUPUIS-MAGUIRAGA, Laurence *et al.* Chikungunya disease: infection-associated markers from the acute to the chronic phase of arbovirus-induced arthralgia. *PLoS Negl Trop Dis*, v. 6, n. 3, p. e1446, 2012.
- EISENHARDT, Steffen U. *et al.* Dissociation of pentameric to monomeric C-reactive protein on activated platelets localizes inflammation to atherosclerotic plaques. *Circulation Research*, v. 105, n. 2, p. 128-137, 2009.
- ELDRIDGE, Bruce F. *et al.* Arbovirus diseases. *Medical Entomology*. Springer Netherlands, p. 415-460, 2004.

FENNER, Frank *et al.* Family and generic names for viruses approved by the International Committee on Taxonomy of Viruses, June 1974. *Intervirology*, v. 3, n. 3, p. 193-198, 1974.

FREITAS, Rafael Maciel *et al.* Why do we need alternative tools to control mosquito-borne diseases in Latin America?. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 107, n. 6, p. 828-829, 2012.

FOURIE, E. D.; MORRISON, J. G. Rheumatoid arthritic syndrome after chikungunya fever. *South African Medical Journal= Suid-Afrikaanse tydskrif vir geneeskunde*, v. 56, n. 4, p. 130-132, 1979.

GABAY, Cem; KUSHNER, Irving. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *New England Journal of Medicine*, v. 340, n. 6, p. 448-454, 1999.

GAEDIGK-NITSCHKO, Kerstin; SCHLESINGER, Milton J. The Sindbis virus 6K protein can be detected in virions and is acylated with fatty acids. *Virology*, v. 175, n. 1, p. 274-281, 1990.

GARDNER, Joy *et al.* Infectious chikungunya virus in the saliva of mice, monkeys and humans. *PloS One*, v. 10, n. 10, p. e0139481, 2015.

GÉRARDIN, Patrick *et al.* Multidisciplinary prospective study of mother-to-child chikungunya virus infections on the island of La Reunion. *PLoS Med*, v. 5, n. 3, p. e60, 2008.

GIBSON, U. E. *et al.* A novel method for real time quantitative RT-PCR. *Genome research*, v. 6, n. 10, p. 995-1001, 1996.

GOMES, Romeu *et al.* Por que os homens buscam menos os serviços. *Cad. Saúde Pública*, v. 23, n. 3, p. 565-574, 2007.

GONZÁLEZ, Marco T.; MATTAR, Salim V. Virus Chikungunya in Colombia, a simple matter of time? *Revista de Medicina Veterinária e Zootecnia Córdoba*, p. 4045-4046, v. 19, n. 2, 2014.

GUILHERME, J. M. *et al.* Seroprevalence of five arboviruses in Zebu cattle in the Central African Republic. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 90, n. 1, p. 31-33, 1996.

HARDY, W. Reef *et al.* Synthesis and processing of the nonstructural polyproteins of several temperature-sensitive mutants of Sindbis virus. *Virology*, v. 177, n. 1, p. 199-208, 1990.

Haute Autorité de la Santé-HAS. Diagnostic biologique direct précoce du chikungunya par détection génomique du virus avec RT-PCR. HAS. 2013; p. 95. Disponível em: http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2013-02/rapport_chikungunya_vd.pdf. Acesso em 10/09/2016 às 21:26.

HAYES, Edward B. Zika Virus Outside Africa-Volume 15, Number 9—September 2009-Emerging Infectious Disease journal-CDC. 2009.

HOARAU, Jean-Jacques *et al.* Persistent chronic inflammation and infection by Chikungunya arthritogenic alphavirus in spite of a robust host immune response. *The Journal of Immunology*, v. 184, n. 10, p. 5914-5927, 2010.

HONÓRIO, N. A. *et al.* Temporal distribution of *Aedes aegypti* in different districts of Rio de Janeiro, Brazil, measured by two types of traps. *Journal of Medical Entomology*, v. 46, n. 5, p. 1001-1014, 2009.

HORCADA, M. Loreto *et al.* Fiebre Chikungunya. Manifestaciones reumáticas de una infección emergente en Europa. *Reumatología Clínica*, v. 11, n. 3, p. 161-164, 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA-IBGE. Censo Demográfico Brasileiro. Rio de Janeiro. Características da população e dos domicílios: Resultados do Universo. Amapá: IBGE, Brasília, 2010.

JONES, P. H.; OKEOMA, C. M. Detection of Chikungunya virus (CHIKV) in urine of infected mice: a Potential Non-invasive Diagnostic Tool for CHIKV. *Journal of Infectious Diseases & Therapy*, v. 2015, 2015.

KELVIN, Alyson A. *et al.* Inflammatory cytokine expression is associated with chikungunya virus resolution and symptom severity. *PLoS Negl Trop Dis*, v. 5, n. 8, p. e1279, 2011.

KHAIRALLAH, Moncef *et al.* New infectious etiologies for posterior uveitis. *Ophthalmic Research*, v. 49, n. 2, p. 66-72, 2012.

KHAIRALLAH, Moncef; KAHLOUN, Rim. Ocular manifestations of emerging infectious diseases. *Current Opinion in Ophthalmology*, v. 24, n. 6, p. 574-580, 2013.

KIELIAN, Margaret; REY, Félix A. Virus membrane-fusion proteins: more than one way to make a hairpin. *Nature Reviews Microbiology*, v. 4, n. 1, p. 67-76, 2006.

KREJBICH-TROTOT, Pascale *et al.* Chikungunya triggers an autophagic process which promotes viral replication. *Virology Journal*, v. 8, n. 1, p. 432, 2011a.

KREJBICH-TROTOT, Pascale *et al.* Chikungunya virus mobilizes the apoptotic machinery to invade host cell defenses. *The FASEB Journal*, v. 25, n. 1, p. 314-325, 2011b.

KUCHARZ, Eugene J.; CEBULA-BYRSKA, Ilona. Chikungunya fever. *European Journal of Internal Medicine*, v. 23, n. 4, p. 325-329, 2012.

LABADIE, Karine *et al.* Chikungunya disease in nonhuman primates involves long-term viral persistence in macrophages. *The Journal of Clinical Investigation*, v. 120, n. 3, p. 894-906, 2010.

LAM, S. K. *et al.* Chikungunya infection_an emerging disease in Malaysia. 2001.

LEMANT, Jérôme *et al.* Serious acute chikungunya virus infection requiring intensive care during the Reunion Island outbreak in 2005–2006. *Critical Care Medicine*, v. 36, n. 9, p. 2536-2541, 2008.

LEVORATO, Cleice Daiana *et al.* Fatores associados à procura por serviços de saúde numa perspectiva relacional de gênero. *Revista Ciência & Saúde Coletiva*, v. 19, n. 4, 2014.

LIMA-CAMARA, Tamara Nunes. Emerging arboviruses and public health challenges in Brazil. *Revista de Saúde Pública*, v. 50, n. 36, p. 1-7, 2016.

LIMA, Luciana Moreira *et al.* Proteína C-reativa ultra-sensível em pacientes com diagnóstico de doença arterial coronariana estabelecido por angiografia. *J Bras Med Lab*, v. 43, n. 2, p. 83-6, 2007.

LI, Yiji *et al.* Urbanization increases *Aedes albopictus* larval habitats and accelerates mosquito development and survivorship. *PLoS Negl Trop Dis*, v. 8, n. 11, p. e3301, 2014.

LUMSDEN, W. H. R. An epidemic of virus disease in Southern Province, Tanganyika territory, in 1952–1953 II. General description and epidemiology. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 49, n. 1, p. 33-57, 1955.

LUSTIG, Yaniv *et al.* Detection of Zika virus RNA in whole blood of imported Zika virus disease cases up to 2 months after symptom onset, Israel, December 2015 to April 2016. *Eurosurveillance*, v. 21, n. 26, 2016.

MANIMUNDA, Sathya Prakash *et al.* Clinical progression of chikungunya fever during acute and chronic arthritic stages and the changes in joint morphology as revealed by imaging. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 104, n. 6, p. 392-399, 2010.

MCSWEEGAN, Edward *et al.* The Global Virus Network: challenging chikungunya. *Antiviral Research*, v. 120, p. 147-152, 2015.

MEDLOCK, Jolyon M; LEACH, Steve A. Effect of climate change on vector-borne disease risk in the UK. *The Lancet Infectious Diseases*, 2015.

KELSER, E.A. Meet dengue's cousin, zika, *Microbes Infect*, p. 1-4, 2015.

MINISTÉRIO DA SAÚDE-MS. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. *Preparação e Resposta à Introdução do Vírus Chikungunya no Brasil*. Brasília, 2014.

_____._____. Ministério da Saúde atualiza situação do vírus Chikungunya. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/saude/2014/12/ministerio-da-saude-atualizasisituacao-do-virus-chikungunya>. Acesso em 02/01/15 às 20:54.

_____._____. Boletim Epidemiológico. Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 23-2016, v. 47, n. 28. Disponível em: http://www.combateaedes.saude.gov.br/images/sala-de-situacao/2016-Dengue_Zika_Chikungunya-SE27.pdf. Acesso em 09/03/17 às 08:25.

_____._____. Boletim Epidemiológico. Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 27-2016, v. 47, n. 31.

Disponível em: http://www.combateaedes.saude.gov.br/images/sala-de-situacao/2016-Dengue_Zika_Chikungunya-SE27.pdf. Acesso em 08/09/16 às 18:25.

_____. Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 51-2016, v. 48, n. 2/2017. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/situacao-epidemiologica-dados-dengue>. Acesso em 26/01/17 às 22:51.

MORO, Maria Luisa *et al.* Chikungunya virus in North-Eastern Italy: a seroprevalence survey. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 82, n. 3, p. 508-511, 2010.

MORO, M. L. *et al.* Long-term chikungunya infection clinical manifestations after an outbreak in Italy: a prognostic cohort study. *Journal of Infection*, v. 65, n. 2, p. 165-172, 2012.

MULYATNO, Kris C. *et al.* Primary isolation and phylogenetic studies of Chikungunya virus from Surabaya, Indonesia. *Jpn J Infect Dis*, v. 65, n. 1, p. 92-94, 2012.

MURUGANANDAM, N. *et al.* Isolation and molecular characterization of Chikungunya virus from the Andaman and Nicobar archipelago, India: evidence of an East, Central, and South African genotype. *Canadian Journal of Microbiology*, v. 57, n. 12, p. 1073-1077, 2011.

MUSSO, Didier *et al.* Detection of chikungunya virus in saliva and urine. *Virology Journal*, v. 13, n. 1, p. 102, 2016.

NASCIMENTO, Sabrina; SUAREZ, Eloah Rabello. Tecnologia de PCR e RT-PCR em tempo real e suas aplicações na área médica. *RBM Rev. Bras. Med*, v. 67, n. supl. 10, 2010.

NEITZEL, D. *et al.* Dengue fever among US travelers returning from the Dominican Republic—Minnesota and Iowa, 2008. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, v. 59, n. 21, p. 654–656, 2010.

NKOGHE, Dieudonné *et al.* Clinical forms of chikungunya in Gabon, 2010. *PLoS Negl Trop Dis*, v. 6, n. 2, p. e1517, 2012.

NUNES, Marcio Roberto Teixeira *et al.* Emergence and potential for spread of Chikungunya virus in Brazil. *BMC Medicine*, v. 13, n. 102, 2015.

OPS, CDC; PREPARACIÓN, O. M. S. Preparación y respuesta ante la eventual introducción del virus Chikungunya en las Américas. Washington, DC: OPS, p. 159, 2011.

_____. Número de casos reportados de chikungunya en países e territorios de las Américas 2013-2014. Casos acumulados (actualizados al 23 de octubre del 2015). Acessível em: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_download&Itemid=270&gid=30199&lang=es. Visitado em: 02 de julho de 2016, às 11:55.

_____. Número de casos reportados de chikungunya en países e territorios de las Américas 2015 (por semanas). Casos acumulados. Semana Epidemiológica 52 (actualizada al 13 de mayo de 2016). Acessível em:

http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_download&Itemid=270&gid=33092&lang=es. Visitado em: 02 de julho de 2016, às 11:59.

_____. Número de casos reportados de chikungunya en países e territorios de las Américas 2016 (por semanas). Casos acumulados. Semana Epidemiológica 25 (actualizada al 24 de junio de 2016). Acessível em: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_download&Itemid=270&gid=35143&lang=es. Visitado em: 02 de julho de 2016, às 12:02.

PARIDA, M. M. Rapid and real-time detection technologies for emerging viruses of biomedical importance. *Journal of Biosciences*, v. 33, n. 4, p. 617-628, 2008.

PAROLA, Philippe *et al.* Novel chikungunya virus variant in travelers returning from Indian Ocean islands. *Emerging Infectious Diseases*, v. 12, n. 10, p. 1493-9, 2006.

PASTORINO, Boris *et al.* Development of a TaqMan® RT-PCR assay without RNA extraction step for the detection and quantification of African Chikungunya viruses. *Journal of Virological Methods*, v. 124, n. 1, p. 65-71, 2005.

PATY, M.-C. Expansion des arboviroses et gestion du risque transfusionnel: exemple des virus West Nile, de la dengue et du chikungunya. *Transfusion Clinique et Biologique*, v. 20, n. 2, p. 165-173, 2013.

PESSÔA, Rodrigo *et al.* Investigation into an outbreak of dengue-like illness in Pernambuco, Brazil, revealed a cocirculation of zika, chikungunya, and dengue virus type 1. *Medicine*, v. 95, n. 12, p. e3201, 2016.

PETERSEN, Lyle R. *et al.* Zika virus. *New England Journal of Medicine*, v. 374, n. 16, p. 1552-1563, 2016.

PIALOUX, Gilles *et al.* Chikungunya, an epidemic arbovirose. *The Lancet Infectious Diseases*, v. 7, n. 5, p. 319-327, 2007.

PIERRO, Anna *et al.* Persistence of anti-chikungunya virus-specific antibodies in a cohort of patients followed from the acute phase of infection after the 2007 outbreak in Italy. *New Microbes and New Infections*, v. 7, p. 23-25, 2015.

POWERS, Ann M.; LOGUE, Christopher H. Changing patterns of chikungunya virus: re-emergence of a zoonotic arbovirus. *Journal of General Virology*, v. 88, n. 9, p. 2363-2377, 2007.

PROPHIRO, Josiane Somariva *et al.* Aedes aegypti and Aedes albopictus (Diptera: Culicidae): coexistence and susceptibility to temephos, in municipalities with occurrence of dengue and differentiated characteristics of urbanization. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 44, n. 3, p. 300-305, 2011.

QUEIROZ, Silvana Nunes; SANTOS, José Márcio. Os Fluxos Migratórios do Estado de Goiás no Período Recente: 1986-2010. *Conjuntura Econômica Goiana*, n. 32, 2015.

QUEYRIAUX, Benjamin *et al.* Clinical burden of chikungunya virus infection. *The Lancet Infectious Diseases*, v. 8, n. 1, p. 2-3, 2008.

RATCLIFF, Rodney M. *et al.* Molecular diagnosis of medical viruses. *Molecular Diagnostics: Current Technology and Applications*, p. 269, 2006.

REZZA, Giovanni. Dengue and chikungunya: long-distance spread and outbreaks in naïve areas. *Pathogens and Global Health*, v. 108, n. 8, p. 349-355, 2014.

ROBINSON, Marguerite *et al.* A Model for a Chikungunya Outbreak in a Rural Cambodian Setting: Implications for Disease Control in Uninfected Areas. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, Barcelona, v. 8, n. 9, p. e3120, 2014.

ROBINSON, Marion C. An epidemic of virus disease in Southern Province, Tanganyika territory, in 1952–1953. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 49, n. 1, p. 28-32, 1955.

ROLPH, Michael S. *et al.* Salivary Transmission of the Chikungunya Arbovirus. *Trends in Microbiology*, v. 24, n. 2, p. 86-87, 2016.

ROSS, R. W. The Newala epidemic: III. The virus: isolation, pathogenic properties and relationship to the epidemic. *Journal of Hygiene*, v. 54, n. 02, p. 177-191, 1956.

SAM, IC; ABUBAKAR, S. Chikungunya virus infection. *Med J Malaysia*, v.61, p. 264–69, 2006.

SAM, I.-Ching *et al.* Chikungunya virus of Asian and central/east African genotypes in Malaysia. *Journal of Clinical Virology*, v. 46, n. 2, p. 180-183, 2009.

SCHWARTZ, Olivier; ALBERT, Matthew L. Biology and pathogenesis of chikungunya virus. *Nature Reviews Microbiology*, v. 8, n. 7, p. 491-500, 2010.

SEPÚLVEDA-DELGADO, J. *et al.* Inflammatory biomarkers, disease activity index, and self-reported disability may be predictors of chronic arthritis after chikungunya infection: brief report. *Clinical Rheumatology*, p. 1-5, 2016.

SERGON, Kibet *et al.* Seroprevalence of chikungunya virus (CHIKV) infection on Lamu Island, Kenya, October 2004. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 78, n. 2, p. 333-337, 2008.

SOLIGNAT, Maxime *et al.* Replication cycle of chikungunya: a re-emerging arbovirus. *Virology*, v. 393, n. 2, p. 183-197, 2009.

SOURISSEAU, Marion *et al.* Characterization of reemerging chikungunya virus. *PLoS Pathog*, v. 3, n. 6, p. e89, 2007.

SUK, Jonathan E.; SEMENZA, Jan C. From global to local: vector-borne disease in an interconnected world. *European Journal of Public Health*, v. 24, n. 4, p. 531-532, 2014.

- STRAUSS, Ellen G.; STRAUSS, James H. Structure and replication of the alphavirus genome. In: *The Togaviridae and Flaviviridae*. Springer New York, p. 35-90, 1986.
- TARANTO, Martinelle da Rocha Ferreira *et al.* Distribuição geográfica de *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em Divinópolis/MG utilizando técnicas de geoprocessamento. *BBR-Biochemistry and Biotechnology Reports*, v. 2, n. 2esp, p. 96-98, 2013.
- TITHER, Pauline Herold. Preventing dengue and chikungunya fever among international travelers. *Journal of the American Association of Nurse Practitioners*, v. 26, n. 11, p. 584-594, 2014.
- THIBERVILLE, S. *et al.* Chikungunya fever: Epidemiology, clinical syndrome, pathogenesis and therapy. *Antiviral Research*, Orsay, p. 345–370, v. 99, 2013.
- TSETSARKIN, Konstantin A. *et al.* Chikungunya virus: evolution and genetic determinants of emergence. *Current Opinion in Virology*, v. 1, n. 4, p. 310-317, 2011.
- UCHIME, Onyinyechukwu *et al.* The role of E3 in pH protection during alphavirus assembly and exit. *Journal of Virology*, v. 87, n. 18, p. 10255-10262, 2013.
- VALASEK, Mark A.; REPA, Joyce J. The power of real-time PCR. *Advances in Physiology Education*, v. 29, n. 3, p. 151-159, 2005.
- VAN GENDEREN, Farah T. *et al.* First chikungunya outbreak in Suriname; clinical and epidemiological features. *PLoS Negl Trop Dis*, v. 10, n. 4, p. e0004625, 2016.
- VAZEILLE, Marie *et al.* Chikungunya: a risk for Mediterranean countries?. *Acta tropica*, v. 105, n. 2, p. 200-202, 2008.
- VEGA-RÚA, Anubis *et al.* High level of vector competence of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from ten American countries as a crucial factor in the spread of Chikungunya virus. *Journal of Virology*, v. 88, n. 11, p. 6294-6306, 2014.
- WAGGONER, Jesse J. *et al.* Viremia and Clinical Presentation in Nicaraguan Patients Infected with Zika Virus, Chikungunya Virus, and Dengue Virus. *Clinical Infectious Diseases*, p. ciw589, 2016.
- WAUQUIER, Nadia *et al.* The acute phase of Chikungunya virus infection in humans is associated with strong innate immunity and T CD8 cell activation. *Journal of Infectious Diseases*, v. 204, n. 1, p. 115-123, 2011.
- WANG, Seok Mui *et al.* Detection and Quantification of Chikungunya Virus by Real-Time RT-PCR Assay. *Chikungunya Virus: Methods and Protocols*, p. 105-117, 2016.
- WEAVER, Scott C.; REISEN, William K. Present and future arboviral threats. *Antiviral Research*, v. 85, n. 2, p. 328-345, 2010.
- WEAVER, Scott C. *et al.* Chikungunya virus and prospects for a vaccine. *Expert Review of Vaccines*, v. 11, n. 9, p. 1087-1101, 2012.

WEAVER, Scott C. Urbanization and geographic expansion of zoonotic arboviral diseases: mechanisms and potential strategies for prevention. *Trends in Microbiology*, v. 21, n. 8, p. 360-363, 2013.

WEAVER, Scott. C. Arrival of chikungunya virus in the new world: prospects for spread and impact on public health. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 8, n. 6, e2921, 2014.

WEAVER, Scott C.; FORRESTER, Naomi L. Chikungunya: Evolutionary history and recent epidemic spread. *Antiviral Research*, v. 120, p. 32-39, 2015.

WÖLFEL, Silke *et al.* Complete genome sequence of a Chikungunya virus imported from Bali to Germany. *Genome Announcements*, v. 3, n. 2, p. e00164-15, 2015.

World Health Organization-WHO, Regional Office for South-East Asia. Guidelines for prevention and control of chikungunya fever. Indraprastha, Índia: WHO, p. 42, 2009.

YASEEN, H. M. *et al.* Estimation of lasting impact of a Chikungunya outbreak in Reunion Island. *Epidemiol S2*, v. 3, p. 2161-1165, 2012.

ZEANA, Cosmina *et al.* Post-chikungunya rheumatic disorders in travelers after return from the Caribbean. *Travel Medicine and Infectious Disease*, v. 14, n. 1, p. 21-25, 2016.

ANEXO – APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Identificação e Genotipagem do Vírus Chikungunya em Indivíduos dos Estados de Amapá e Goiás

Pesquisador: ROSEMARY KOGA

Área Temática:

Versão: 5

CAAE: 46073815.9.0000.0037

Instituição Proponente: Pontifícia Universidade Católica de Goiás - PUC/Goias

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.362.875

Apresentação do Projeto:

Trata-se de resposta a pendência.

Objetivo da Pesquisa:

Trata-se de resposta a pendência.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Trata-se de resposta a pendência.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de resposta a pendência.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Trata-se de resposta a pendência.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A pendência foi sanada.

Projeto de pesquisa aprovado.

Endereço: Av. Universitária, N.º 1.069
Bairro: Setor Universitário **CEP:** 74.605-010
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3946-1512 **Fax:** (62)3946-1070 **E-mail:** cep@pucgoias.edu.br



Continuação do Parecer: 1.362.875

Considerações Finais a critério do CEP:

A aprovação deste, conferida pelo CEP, não isenta o Pesquisador de prestar satisfação sobre sua Pesquisa em casos de alteração de amostra ou centros de coparticipação. O pesquisador responsável deverá encaminhar ao CEP/PUC Goiás, via Plataforma Brasil, relatórios semestrais do andamento do protocolo aprovado, quando do encerramento, as conclusões e publicações.

O CEP PUC Goiás poderá realizar escolhas aleatórias de protocolos de pesquisa aprovados para verificar o cumprimento da Resolução CNS 466/12 e complementares.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_533868.pdf	10/12/2015 17:55:53		Aceito
Outros	Justificativa_orcamento_Dra_Araci.pdf	10/12/2015 17:55:10	ROSEMARY KOGA	Aceito
Outros	Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos_Lattes_Rosemary_de_Carvalho_Rocha_Koga.pdf	10/12/2015 17:39:32	ROSEMARY KOGA	Aceito
Outros	Curriculo_do_Sistema_de_Curriculos_Lattes_Irmtraut_Araci_Hoffmann_Pfrimer.pdf	10/12/2015 15:42:13	ROSEMARY KOGA	Aceito
Outros	AUTORIZACAO_PARA_PESQUISA.pdf	04/11/2015 14:09:34	ROSEMARY KOGA	Aceito
Outros	AUTORIZACAO_CVS_AP.pdf	04/11/2015 14:08:04	ROSEMARY KOGA	Aceito
Outros	AUTORIZACAO_PRONTUARIOS_HDT.pdf	04/11/2015 14:05:44	ROSEMARY KOGA	Aceito
Outros	AUTORIZACAO_PRONTUARIOS_CRDT.pdf	04/11/2015 14:04:28	ROSEMARY KOGA	Aceito
Outros	ANUENCIA_HDT.pdf	04/11/2015 08:10:22	ROSEMARY KOGA	Aceito
Outros	JUSTIFICATIVADEORCAMENTO.pdf	10/09/2015 23:08:10	ROSEMARY KOGA	Aceito
Outros	FICHA_DE_INVESTIGACAO_DE_FEBRE_E_CHIKUNGUNYA.pdf	10/09/2015 22:46:18	ROSEMARY KOGA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO_DE_CONSENTIMENTO_LIVRE_E_ESCLARECIDO.pdf	10/09/2015 22:41:42	ROSEMARY KOGA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura	Projeto.pdf	10/09/2015 22:41:20	ROSEMARY KOGA	Aceito

Endereço: Av. Universitária, N.º 1.069
 Bairro: Setor Universitário CEP: 74.605-010
 UF: GO Município: GOIANIA
 Telefone: (62)3946-1512 Fax: (62)3946-1070 E-mail: cep@pucgoias.edu.br



Continuação do Parecer: 1.362.875

Investigador	Projeto.pdf	10/09/2015 22:41:20	ROSEMARY KOGA	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto_Assinada.pdf	10/09/2015 22:39:10	ROSEMARY KOGA	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

GOIANIA, 11 de Dezembro de 2015

Assinado por:
NELSON JORGE DA SILVA JR.
(Coordenador)

Endereço: Av. Universitária, N.º 1.069
Bairro: Setor Universitário **CEP:** 74.605-010
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3946-1512 **Fax:** (62)3946-1070 **E-mail:** cep@pucgoias.edu.br



**Plataforma
Brasil**

Saúde
Ministério da Saúde

Público
Pesquisador
Alterar Meus Dados

Cadastros
ROSEMARY KOGA - Pesquisador | V3.0

principal
SAIR

Sua sessão expira em: 30min 16

DETALHAR PROJETO DE PESQUISA

- DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Identificação e Genotipagem do Vírus Chikungunya em Indivíduos dos Estados de Amapá e Goiás
Pesquisador Responsável: ROSEMARY KOGA
Área Temática:
Versão: 5
CAAE: 46073815 9 0000 0037
Submetido em: 10/12/2015
Instituição Proponente: Pontifícia Universidade Católica de Goiás - PUC/Goiás
Situação da Versão do Projeto: Aprovado
Localização atual da Versão do Projeto: Pesquisador Responsável
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

Comprovante de Recepção:



PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_533868





APÊNDICE 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
Pró-reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado (a) para participar, como voluntário, em uma pesquisa. Meu nome é Irmtraut Araci Hoffmann Pfrimer, sou a pesquisadora responsável pelo projeto e minha área de atuação é Imunologia de doenças infecciosas. Após ler com atenção este documento e ser esclarecido (a) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, **assine em todas as folhas e ao final deste documento**, que está em duas vias e também será assinado por mim, pesquisadora, em todas as folhas. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de dúvida sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato com o pesquisador responsável, Dra Irmtraut Araci Hoffmann Pfrimer, no telefone: (62) 3946-1346. Em caso de dúvidas sobre os seus direitos como participante nesta pesquisa, você poderá entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica de Goiás pelo telefone (62) 3946-1071.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA

Título do Projeto: “Aspectos Clínicos e Sorológicos de Indivíduos com sinais e sintomas de Febre Chikungunya ”

O vírus Chikungunya (CHIKV) apresenta-se como um único tipo, porém sob quatro subtipos diferentes, é transmitido pela picada de mosquitos Aedes.

Nesse projeto pretendemos estudar aspectos clínicos e sorológicos em indivíduo com Febre Chikungunya.

Assim, nossa hipótese é que a população dos Estados de Amapá e Goiás pode estar susceptível à infecção por CHIKV, dado às condições climáticas, densidade populacional e saneamento deficitário que favorecem a proliferação de mosquitos vetores e posterior propagação da arbovirose.

Acreditamos que esses Estados são detentores de características propícias à propagação da FCHIK. No que diz respeito ao diagnóstico sorológico da arbovirose no Brasil, nosso estudo é o primeiro a relatar as imunoglobulinas M e G em zona de transmissão autóctone do país, Amapá e Goiás.

Objetivos da pesquisa:

- Descrever características dos participantes do estudo;
- Realizar sorologia para pesquisa de anticorpos contra o vírus Chikungunya;
- Comparar as informações contidas no questionário com o resultado dos testes laboratoriais.

Duração do estudo: Esse estudo está previsto para durar 2 anos. A sua participação nessa pesquisa será o tempo gasto no momento da coleta de sangue e coleta de informações para o preenchimento da ficha de investigação, com duração de 15 a 20 minutos.

Procedimentos a serem seguidos durante o estudo: Será preenchido um questionário e, se for necessário, seu prontuário médico também poderá ser observado, para que os resultados de

todos os exames que você já realizou sejam avaliados pelos pesquisadores. Serão colhidos 10 mL de sangue de sua veia para realização de testes que avaliarão se você está com Febre Chikungunya, quanto de vírus há em seu organismo, para que possamos compreender como o vírus age e como pode ser combatido.

Desconfortos e riscos potenciais: Esta pesquisa por necessitar da obtenção de amostras de sangue, é considerada de risco médio, porque gera desconforto, dor durante a coleta, formação de manchas roxas no local da coleta de sangue e, ainda, tonturas. Para minimizar tais problemas, será utilizada nesta pesquisa, sala reservada para entrevista e coleta de amostra; o profissional que realizará a coleta de sangue é muito experiente e trabalha somente com coleta de sangue; todo o procedimento antes e após a coleta seguirá os padrões de segurança e Boas Práticas Laboratoriais.

Benefícios que poderão ser obtidos: Você receberá os resultados dos exames laboratoriais sem qualquer custo. Também será orientado quanto ao curso e desenvolvimento da doença, será aconselhado sobre como proceder após o recebimento dos resultados. Sua participação beneficiará outras pessoas por promover melhor entendimento de fatores relacionados com a origem, ao curso da Febre Chikungunya, tratamento e desenvolvimento de vacinas, combate ao mosquito.

Compensações e custos: Todas as consultas, procedimentos e testes laboratoriais feitos especificamente para este estudo serão fornecidos a você sem nenhum custo. A equipe pesquisadora se dispõe em oferecer a você assistência integral e gratuita por danos diretos e indiretos, imediatos ou tardios em função da sua participação no estudo, afim de minimizar os transtornos causados.

Descontinuação do Estudo: Você poderá deixar de participar deste estudo ou retirar seu consentimento a qualquer momento que achar necessário sem prejuízos em seu atendimento hospitalar e sem nenhum dano moral, ético, social, financeiro, etc.

Esclarecimentos dados sobre garantias do participante da pesquisa:

- ✓ Você terá a garantia, a qualquer tempo de que receberá as informações sobre os procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive sobre o esclarecimento de qualquer dúvida;
- ✓ Você tem liberdade para se recusar a participar ou retirar seu consentimento e descontinuar sua participação a qualquer tempo. A participação é voluntária e a recusa em participar não envolverá nenhuma penalidade ou perda de benefícios. Recusa ou descontinuação não irão de nenhuma forma colocar em risco seu direito de receber tratamento.
- ✓ Seu médico e os demais investigadores desse estudo tratarão sua identidade com padrões profissionais de confidencialidade. Seus registros permanecerão confidenciais. Nomes de participantes ou materiais identificando participantes não serão publicados. Os participantes não serão identificados em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo. Uma cópia deste consentimento ficará com esta equipe de pesquisa e uma será dada a você.
- ✓ Todos os procedimentos e consultas deste estudo lhe serão fornecidos sem nenhum custo. Assistência médica por danos causados direta e indiretamente relacionados com este estudo serão de responsabilidade desta equipe pesquisadora.

Eu, _____,
RG/ CPF/ nº de prontuário/ nº de matrícula _____,
abaixo assinado, concordo em participar do estudo “Aspectos Clínicos e Sorológicos em Indivíduos com Sinais e Sintomas de Febre Chikungunya ”, sob a responsabilidade da Dr^a. Irmtraut Araci Hoffmann Pfrimer, como sujeito voluntário. Fui devidamente informado e esclarecido pela pesquisadora Irmtraut Araci Hoffmann Pfrimer sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade.

Local e data: _____

Nome e Assinatura do participante:

Assinatura Dactiloscópica:



Nome e assinatura do Pesquisador Responsável:

APÊNDICE 2 – QUESTIONÁRIO DE FEBRE CHIKUNGUNYA

N. _____
Data: __/__/__

QUESTIONÁRIO de FEBRE CHIKUNGUNYA

CASO SUSPEITO: Paciente com febre de início súbito (temperatura maior de 38,5 C⁰) e poliartralgia intensa não explicada por outras condições. Residir ou ter visitado áreas endêmicas (ou epidêmicas) até 2 semanas antes do início dos sintomas ou vínculo epidemiológico com caso confirmado são informações relevantes para a suspeita.

DADOS GERAIS	Nome:	
	Município:	UF:
	Unidade de saúde:	Data do início dos sintomas: ____/____/____
	Data de Nasc.:	Sexo: <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> Ignorado
	Se Gestante: <input type="checkbox"/> 1º Trim. <input type="checkbox"/> 2º Trim. <input type="checkbox"/> 3º Trim.	Viajem anterior a 30 dias:
	Escolaridade:	Ida __/__/__ Volta __/__/__
	Nome da mãe:	Local:
	Zona de Residência: <input type="checkbox"/> Urbana <input type="checkbox"/> Periurbana <input type="checkbox"/> Rural <input type="checkbox"/> Ignorado	
DADOS CLÍNICOS-LABORATORIAIS	Exame para dengue: <input type="checkbox"/> Positivo <input type="checkbox"/> Negativo	
	Exame para Malária: <input type="checkbox"/> Positivo <input type="checkbox"/> Negativo	
	Teste rápido para CHIKV: <input type="checkbox"/> Reagente <input type="checkbox"/> Não reagente <input type="checkbox"/> Indeterminado	
	Exames adicionais:	
	Antecedentes prévios de comorbidade: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim ()	
	Apresentação clínica: <input type="checkbox"/> Aguda(até 10 dias) <input type="checkbox"/> Subaguda (até 3 meses) <input type="checkbox"/> Crônica (+3 meses)	
	Hospitalização: <input type="checkbox"/> Não <input type="checkbox"/> Sim (Data Internação: __/__/__ Alta: __/__/__)	
	Sinais e sintomas:	
	<input type="checkbox"/> Febre <input type="checkbox"/> Artralgia intensa <input type="checkbox"/> Cefaléia <input type="checkbox"/> Náuseas <input type="checkbox"/> Diarréia <input type="checkbox"/> Vômitos <input type="checkbox"/> Exantema <input type="checkbox"/> Mialgia <input type="checkbox"/> Edema (identificar o local): <input type="checkbox"/> Mãos <input type="checkbox"/> Punhos <input type="checkbox"/> Joelhos <input type="checkbox"/> Tornozelos <input type="checkbox"/> Pés <input type="checkbox"/> Gânglios enfiados <input type="checkbox"/> Hiperemia conjutival <input type="checkbox"/> Dor nas costas <input type="checkbox"/> Outro ()	
	OBS: Marcar na figura abaixo as articulações afetadas, de acordo com o seguinte: <u>D</u> : dor; <u>E</u> : edema; <u>Ar</u> : Derrame articular; <u>V</u> : vermelhidão (uma mesma articulação pode ser marcada com mais de uma letra).	
	