



Memorando

Data: 7 de fevereiro de 2016

De: CDC, Divisão de doenças transmitidas por vetores

Assunto: Testes de diagnóstico revistos para os vírus que causam zika, chikungunya e dengue em laboratórios de saúde pública dos EUA

Histórico

Muitos países das Américas têm atualmente transmissão local de vários arbovírus que podem causar doença febril com erupção cutânea, mialgia ou artralgia. Portanto, os testes de laboratório tornaram-se ainda mais importantes para confirmar a etiologia dessas doenças. Infecções por vírus que causam zika, chikungunya e dengue devem ser consideradas para pacientes com febre aguda, erupção cutânea, mialgia ou artralgia que viajaram nas últimas 2 semanas para uma área com transmissão ativa ou que vivem em uma área com transmissão ativa. De acordo com as Orientações provisórias atualizadas para profissionais de saúde que cuidam de mulheres grávidas e a mulheres em idade reprodutiva durante um período de transmissão ativa do zika vírus – Estados Unidos, 2016 (<http://www.cdc.gov/mmwr/volumes/65/wr/mm6505e2er.htm>), esse algoritmo de teste agora inclui a recomendação de oferecer teste sorológico para gestantes que não apresentam sintomas com histórico de viagem para as áreas com transmissão local do zika vírus ou que vivem em uma área com transmissão ativa. Evidências laboratoriais de infecção recente pelos vírus da chikungunya, dengue ou zika geralmente são obtidas por testes de soro para detectar ácido nucleico viral ou imunoglobulina (Ig) M e anticorpos neutralizadores específicos do vírus. No entanto, pode haver reatividade cruzada serológica entre o zika e outros flavivírus (por exemplo, dengue, febre amarela, encefalite de St. Louis, encefalite japonesa, vírus do Nilo Ocidental), de modo que deve ser dada ênfase ao teste molecular (RT-PCR) em amostras agudas recebidas de indivíduos com doença clinicamente compatível. Testes de laboratório para os vírus que causam zika, chikungunya e dengue estão atualmente disponíveis no CDC e em vários departamentos de saúde estaduais e territoriais.

Testes de laboratório para amostras agudas

Durante os 7 primeiros dias dessas doenças, o RNA viral geralmente pode ser identificado no soro, e o RT-PCR é o teste preferido para os vírus que causam zika, chikungunya e dengue. Além disso, para os vírus de dengue, o antígeno NS1 pode ser detectado por ELISA em amostras de fase aguda, mas este teste não está amplamente disponível nos EUA. Como a viremia diminui ao longo do tempo, um RT-PCR negativo coletado de 5 a 7 dias após o início dos sintomas não elimina a possibilidade de infecção por flavivírus e deve ser realizado um teste sorológico.

Anticorpos IgM específicos do vírus podem ser detectados com 4 dias ou mais após o início da doença. No entanto, o soro coletado no prazo de 7 dias do início da doença pode não ter anticorpos IgM específicos do vírus detectáveis. Anticorpos IgM contra o zika vírus, os vírus da dengue e outros flavivírus têm forte reatividade cruzada, o que pode gerar resultados falso-positivos em testes sorológicos.

Testes de laboratório para amostras convalescentes

Os anticorpos IgM normalmente persistem por aproximadamente 2 a 12 semanas. Em pacientes com síndrome clínica compatível, o soro coletado até 4 dias após o início da doença pode ser testado por ELISA de IgM específico para os vírus que causam zika, chikungunya e dengue e os resultados positivos podem ser confirmados por testes de anticorpos neutralizadores (Figura 1).

Devido à reatividade sorológica cruzada entre flavivírus, os testes atuais de anticorpos IgM não podem distinguir de forma confiável entre infecções virais por zika e dengue. Portanto, um resultado IgM positivo em um teste ELISA de IgM de dengue ou zika deve ser considerado indicativo de uma infecção recente por flavivírus. Testes de neutralização para redução de placas (PRNT) podem ser realizados para medir anticorpos neutralizadores específicos para os vírus e podem ser capazes de determinar a causa da infecção primária por flavivírus. Em pacientes que receberam a vacina da febre amarela ou da encefalite japonesa ou que foram infectados por outro flavivírus no passado, anticorpos de reação cruzada, tanto em testes IgM quanto em testes de anticorpos neutralizadores, podem dificultar a identificação de qual flavivírus está causando a doença atual do paciente.

O teste sorológico para a infecção por zika vírus pode ser realizado em amostras de soro de mulheres grávidas que não apresentam sintomas (Figura 2). A interpretação do teste sorológico é complexa; um resultado de IgM positivo pode ser difícil de interpretar, pois pode ocorrer reatividade cruzada com flavivírus relacionados. Testes PRNT podem ser capazes de discriminar entre anticorpos de reação cruzada em infecções por flavivírus primárias. Além disso, um resultado IgM negativo para zika obtido de 2 a 12 semanas após uma viagem sugere que não houve infecção. Com base na experiência com outros flavivírus, estimamos que os anticorpos estarão presentes pelo menos 2 semanas após a exposição ao vírus e persistirão durante pelo menos 12 semanas. As informações sobre o desempenho do teste sorológico em indivíduos assintomáticos são limitadas.

Como acontece com qualquer teste de diagnóstico, embora um resultado de teste negativo de IgM ou RT-PCR para zika sugira que não houve infecção, um resultado negativo em teste IgM ou RT-PCR não descarta a infecção por zika vírus.

Para obter mais informações, consulte Atualização: Orientações provisórias para profissionais da saúde que cuidam de mulheres grávidas e mulheres em idade reprodutiva com possível exposição ao zika vírus - Estados Unidos, 2016 (<http://www.cdc.gov/mmwr/volumes/65/wr/mm6505e2er.htm>).

Segurança de laboratório

Os vírus da dengue e zika são classificados como patógenos de nível de segurança biológica (BSL) 2, ao passo que o vírus da chikungunya é classificado como um agente BSL-3. Todos devem ser manipulados de acordo com as orientações de biossegurança em laboratórios microbiológicos e biomédicos (BMBL) e deve ser realizada uma avaliação de riscos para cada laboratório com relação aos procedimentos específicos utilizados. Até que a associação entre a infecção por zika vírus e microcefalia congênita seja melhor entendida, a gravidez deve ser considerada um fator significativo na avaliação de riscos para indivíduos que trabalham com o zika vírus, e o envolvimento de mulheres grávidas em estudos com o zika vírus deve ser minimizado. Recomendamos aos laboratórios realizar uma avaliação de riscos ao introduzir novos testes, e precauções de segurança devem ser baseadas na avaliação de riscos de cada laboratório. Particularmente, como o vírus chikungunya produz altos níveis de viremia, o soro de casos com suspeita de vírus chikungunya devem ser tratados como potencialmente infectantes mesmo para procedimentos sorológicos. Para obter mais informações, consulte: BMBL <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmbl5/index.htm> e

Norma de Precauções Padrão do Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (http://www.cdc.gov/hicpac/2007IP/2007ip_part3.html)

Opções para a obtenção/realização de testes de diagnóstico para os vírus da dengue, zika e chikungunya

CDC

RT-PCR, ELISA IgM e PRNT são realizados no CDC para os vírus da dengue, zika e chikungunya. Os testes específicos realizados dependerão do momento de coleta das amostras em relação ao início da doença e das informações clínicas, conforme descrito na figura do algoritmo. Para determinar o algoritmo de teste adequado e interpretar seus resultados, forneça a data de início da doença, as datas de coleta de amostras, o tipo de amostra, a descrição da doença clínica, histórico de viagens, histórico de vacinação contra flavivírus e as informações de contato do remetente. O teste será realizado principalmente em soro ou LCR, mas outros tipos de amostra, incluindo urina, líquido amniótico e tecidos, podem ser apresentados juntamente com uma amostra de soro do paciente para avaliação da utilidade desses tipos de amostra.

Em Porto Rico, ligue para 787-706-2399 para perguntas sobre testes. Para o envio de amostras, envie um relato de investigação de caso de dengue (DCIR) para cada amostra. O modelo está disponível para download em: <http://www.cdc.gov/dengue/clinicalLab/index.html>

Para todos os outros estados e territórios, os departamentos de saúde estaduais devem entrar em contato com a divisão de arboviroses do CDC pelo telefone 970-221-6400. Um formulário DASH preenchido deve acompanhar as amostras apresentadas. Mais informações sobre o envio de amostras para o CDC estão disponíveis em:

<http://www.cdc.gov/ncezid/dvbd/specimensub/arboviral-shipping.html>.

Laboratórios dos departamentos de saúde estaduais e territoriais

RT-PCR: Os protocolos de RT-PCR do CDC para o vírus chikungunya e o zika vírus seguem essencialmente o mesmo protocolo que o teste RT-PCR do CDC para o vírus do Nilo Ocidental. O CDC fornecerá sequências de iniciador/sonda para chikungunya e zika vírus, um controle positivo de RNA e painéis de proficiência RT-PCR para laboratórios estaduais e territoriais que demonstraram proficiência no teste RT-PCR do CDC para o vírus do Nilo Ocidental. Kits RT-PCR para o vírus da dengue podem ser encomendados on-line usando o seguinte link: <http://www.cdc.gov/dengue/clinicalLab/realTime.html>

ELISA IgM para zika vírus: O ELISA IgM do CDC para o zika vírus é semelhante ao teste ELISA IgM do CDC para o vírus do Nilo Ocidental. Laboratórios estaduais e territoriais que demonstraram proficiência na realização do ELISA IgM para o vírus do Nilo Ocidental durante a avaliação de 2015 podem solicitar o antígeno do zika vírus, anticorpo conjugado e soro de controle positivo para uso no ELISA IgM do CDC para o zika vírus.

O CDC está trabalhando em um caminho regulatório para fabricar e distribuir testes para apoiar a resposta de laboratório ao zika. Mais detalhes serão compartilhados quando as informações estiverem disponíveis.

Para os departamentos de saúde estaduais e territoriais interessados em obter os materiais descritos acima, entre em contato com eoevent278@cdc.gov. Caso o laboratório do departamento de saúde de seu estado ou território não realize o teste RT-PCR do CDC ou o teste ELISA IgM para o vírus do Nilo Ocidental, considere enviar as amostras para o CDC ou usar uma das opções comerciais descritas abaixo.

Testes comercialmente disponíveis

Não há no momento testes de diagnóstico ou kits para infecção por zika vírus autorizados pela FDA disponíveis comercialmente nos Estados Unidos.

Os seguintes laboratórios comerciais de referência realizam testes para os vírus da dengue e chikungunya, mas nenhum dos testes é aprovado pela FDA.

- Focus Diagnostics (<http://www.focusdx.com/>) realiza os testes RT-PCR e IFA IgM e IgG para vírus chikungunya, assim como um ELISA IgM anti-DENV.
- ARUP Laboratories (<http://www.aruplab.com/>) realiza testes ELISA IgG e IgM para os vírus da dengue e chikungunya.
- Quest Diagnostics (<http://www.questdiagnostics.com>) realiza imunoensaios IgG e IgM para o vírus da dengue.

Existe um kit aprovado pela FDA para anticorpos IgM anti-DENV que pode ser comprado (InBios, EUA).

Os seguintes kits de teste de anticorpos IgM para o vírus chikungunya estão disponíveis para compra nos Estados Unidos e fornecem sensibilidade e especificidade comparável à dos testes do CDC, mas podem não ser aprovados pela FDA:

- Kit ELISA humano de IgM anti-CHIKV (Abcam, Reino Unido)
- ELISA anti-CHIKV (IgM) (Euroimmun, Alemanha)
- IIFT anti-CHIKV (IgM) (Euroimmun, Alemanha)

Coleta e envio de amostras

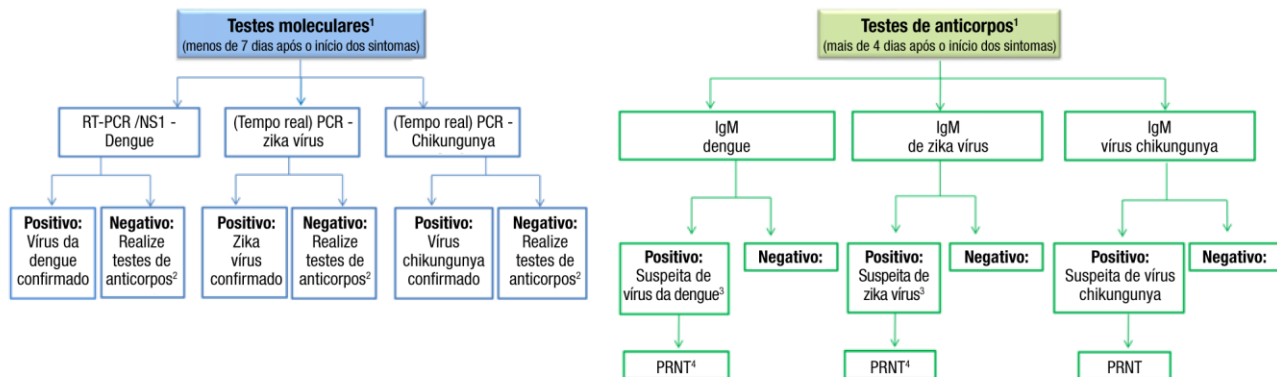
Em caso de suspeita de infecção de um paciente por zika, chikungunya ou dengue, uma amostra de soro precisa ser coletada. Além da amostra de soro, outras amostras também podem ser coletadas para os testes, inclusive LCR, urina, líquido amniótico e tecidos. Informações sobre o paciente, incluindo a data de início da doença, descrição da doença clínica, histórico de viagens e histórico de vacinação contra flavivírus devem ser documentadas. Informações adicionais sobre a coleta de amostras podem ser encontradas em: <http://www.cdc.gov/ncezid/dvbd/specimensub/arboviral-shipping.html>

Amostras coletadas de indivíduos para estudos do zika vírus podem ser transferidas dentro dos EUA como substâncias biológicas categoria B, de acordo com os regulamentos para materiais perigosos do Departamento de Transporte (49 CFR Parte 171-180). Orientações para o acondicionamento de amostras em conformidade com os requisitos para substâncias biológicas categoria B podem ser encontradas na publicação do CDC/NIH Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5ª edição. Informações adicionais sobre os regulamentos para transporte de materiais perigosos do Departamento de Transporte estão disponíveis em <https://www.transportation.gov/pipelines-hazmat>.

Relatório

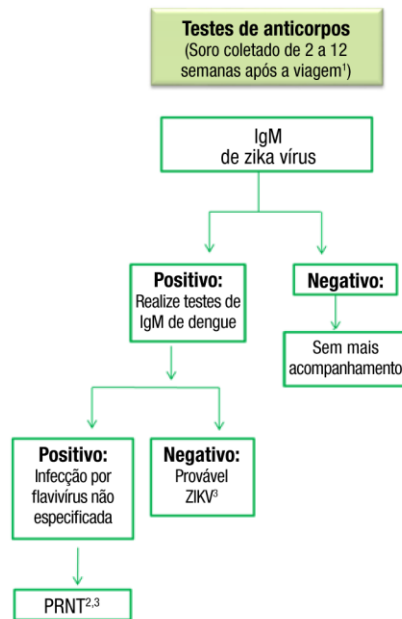
Zika, dengue e chikungunya são condições que devem ser notificadas em âmbito nacional. Os departamentos de saúde estaduais e territoriais devem informar casos ao CDC de acordo com as definições de caso padrão do CSTE. Os departamentos de saúde estaduais e territoriais devem informar ao CDC os casos confirmados em laboratório de qualquer arbovírus, por meio do ArboNET, o sistema nacional de vigilância de arbovirose.

Algoritmo em camadas para detecção de arbovírus em casos de suspeita de chikungunya, dengue ou zika.
(Os testes só foram realizados se os sintomas do paciente e o histórico de viagens indicou a passagem por áreas afetadas).



- ¹ Devido à ampla reatividade cruzada nos testes sorológicos de flavivírus das amostras coletadas menos de 7 dias após o início da doença, a detecção molecular deve ser realizada primeiro.
- ² Realizar se a amostra tiver mais de 4 dias após o início dos sintomas
- ³ Ampla reatividade cruzada seria esperada em amostras de áreas de circulação de DENV/ZIKV. Um teste de IgM positivo com qualquer dos antígenos deve ser confirmado usando PRNT em comparação com ZIKV e DENV, assim como com quaisquer outros flavivírus (p. ex.: SLEV, ZIKV, WNV, etc.) que podem ser encontrados em qualquer área geográfica (incluindo as áreas de viagem).
- ⁴ PRNT deve incluir qualquer flavivírus (p. ex.: SLEV, ZIKV, WNV, etc.) que podem ser encontrados em qualquer área geográfica (incluindo as áreas de viagem).

Os algoritmos de testes para a detecção de zika vírus gestantes que não apresentam sintomas



- ¹ Para mulheres vivendo em áreas com transmissão ativa do zika vírus, consulte as Orientações provisórias para profissionais de saúde que cuidam de mulheres grávidas e mulheres em idade reprodutiva durante transmissão ativa do zika vírus — Estados Unidos, 2016 para o momento certo da coleta de amostras.
- ² Ampla reatividade cruzada seria esperada em amostras de áreas de circulação de DENV/ZIKV. Um teste IgM positivo com ambos os antígenos deve ser acompanhado usando PRNT em comparação com ZIKV e DENV, assim como com quaisquer outros flavivírus (p. ex.: SLEV, ZIKV, WNV, etc.) que podem ser encontrados em qualquer área geográfica (incluindo as áreas de viagem). Dependendo da exposição anterior do flavivírus, a resolução da infecção por flavivírus pode não ser possível.
- ³ Os cuidados de acompanhamento devem ser realizados conforme especificado nas Orientações provisórias para mulheres grávidas durante um surto de zika vírus - Estados Unidos, 2016.