

Investigando arbovirus, se hace camino al andar

Jesse Waggoner, MD

Profesor asistente

Departamento de Medicina, División de Enfermedades Infecciosas

Escuela de Medicina de la Universidad de Emory

Departamento de Salud Global

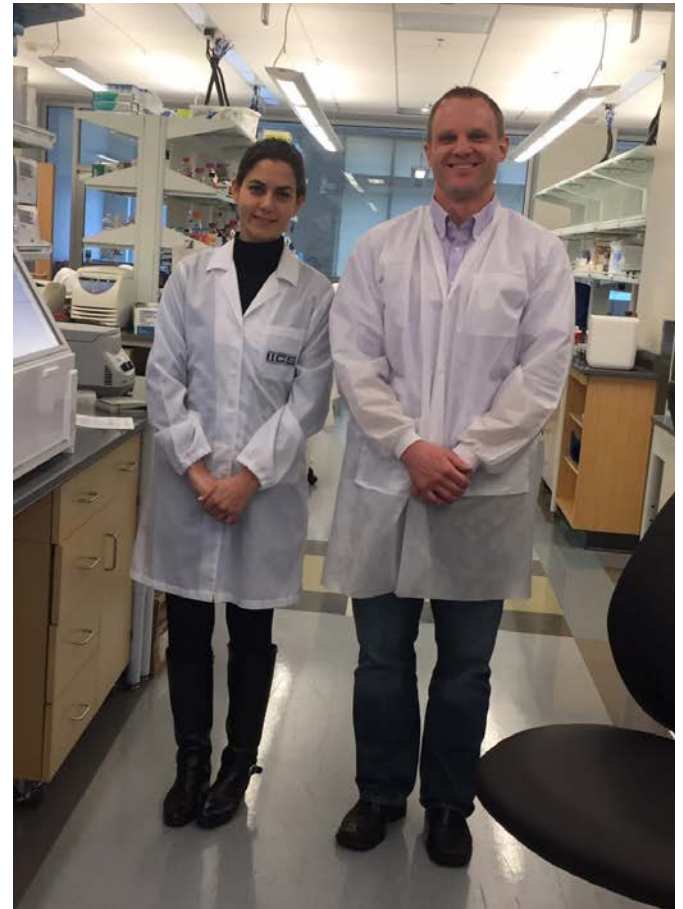
Escuela de Salud Pública de Rollins

¡Gracias!

- Primero, por favor permítanme decir gracias
- Gracias por la invitación a visitar y presentar
- También debo disculparme por mi incapacidad para presentar en español
 - Mi objetivo es remediar esto para visitas futuras

Un gran agradecimiento específico...

- Sería negligente si no doy las gracias específicamente a Alejandra Rojas
- Sin su dedicación, tiempo y esfuerzo, nada de esto hubiera sido posible
- Muchas gracias por todo



Esquema – General

- Presentación/Biografía
- Proyectos realizados y en desarrollo
- Estudio clínico de arbovirus (Py)
- Otras investigaciones en Paraguay
- Oportunidades para colaboración en EE.UU. y Latinoamérica
- Consideraciones para fondos
- Discusión y preguntas

Presentación

- Nací y me crié en Green Bay, Wisconsin



- Más conocido por
 - Queso
 - La nieve y
 - Los Green Bay Packers



- Donde decimos cosas como ...
 - "Hace demasiado frío para nevar"
 - (Técnicamente ... esto no es verdad)



Biografía

- Asistí a la Universidad de Wisconsin - Madison
- Escuela de Medicina de la Universidad de Duke
 - Completé la escuela de medicina
 - Entrenamiento en medicina interna
- Universidad de Stanford
 - Entrenamiento en enfermedades infecciosas
- Comencé mi puesto actual en Emory en julio de 2016



Ensayos

- Mi investigación se centra en
 - Desarrollo de métodos diagnósticos para enfermedades infecciosas
 - Implementación de nuevos diagnósticos para abordar preguntas importantes de investigación y mejorar la atención clínica.

- Flaviviruses

- DENV*
 - Pan-DENV assay*
 - “DENV multiplex” – serotype specific*
 - Revised pan-DENV assay to lower-cost*
- Zika*
- Yellow Fever*
- West Nile*
- Japanese Encephalitis†
- HCV

- Alphaviruses

- Chikungunya*
- O'nyong-nyong*
- Mayaro*
- VEEV †
 - Detection/quantitation

- Bunyaviruses

- Rift Valley Fever†
- La Crosse Virus
- Oropouche Virus†
- Tahyna
- Bunyamwera
- Ngari
- Ilesha
- Shokwe
- Bwamba
- Pongola

* Datos clínicos y analíticos
† Solo datos analíticos
[Ensayo publicado](#)

- Patógenos no virales

- Leptospira*
 - Todas las especies*
 - Especies patógenas*
- Pan-Malaria* & P. falciparum*

Ensayos



- Flaviviruses

- **DENV***
 - Pan-DENV assay*
 - “DENV multiplex” – serotype specific*
 - Revised pan-DENV assay to lower-cost*
- Zika*
- **Yellow Fever***
- **West Nile***
- Japanese Encephalitis†
- HCV

- Alphaviruses

- Chikungunya*
- O’nyong-nyong*
- **Mayaro***
- **VEEV †**
 - Detection/quantitation

- Bunyaviruses

- Rift Valley Fever†
- La Crosse Virus
- **Oropouche Virus†**
- Tahyna
- Bunyamwera
- Ngari
- Ilesha
- Shokwe
- Bwamba
- Pongola

* Datos clínicos y analíticos
† Solo datos analíticos
Ensayo publicado
En el IICS

- Patógenos no virales

- Leptospira*
 - Todas las especies*
 - Especies patógenas*
- Pan-Malaria* & P. falciparum*

Ensayo para la detección de MAYV

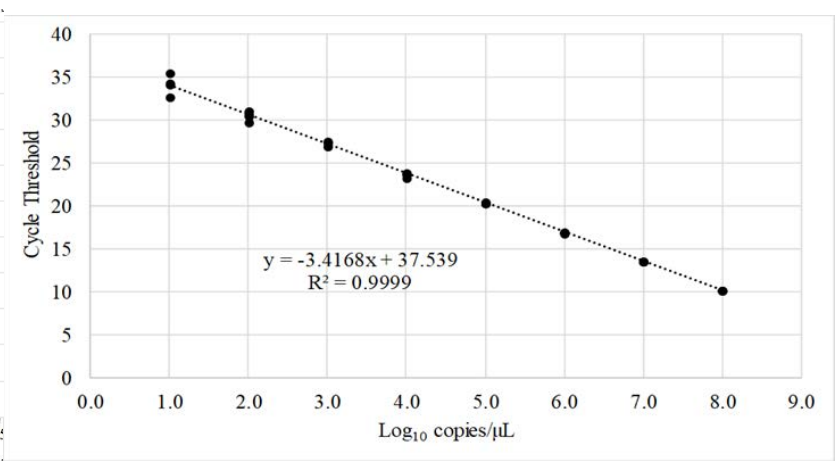
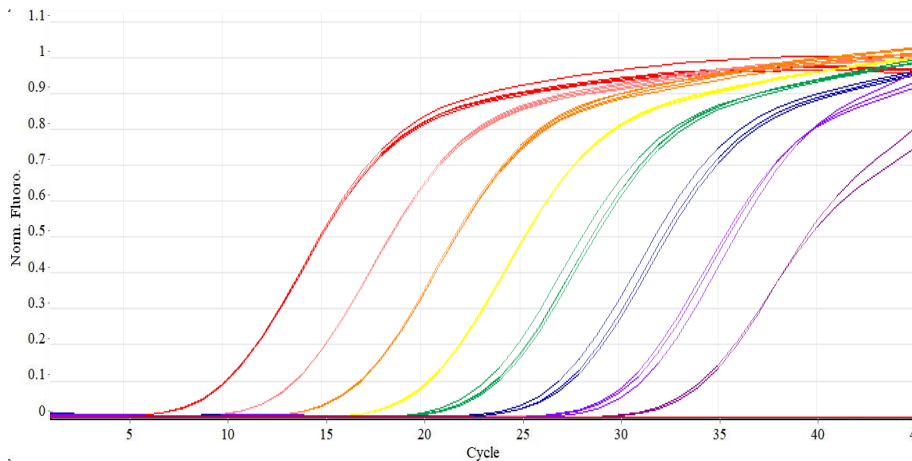
- Recientemente publicado
- La colaboración comenzó en diciembre de 2016



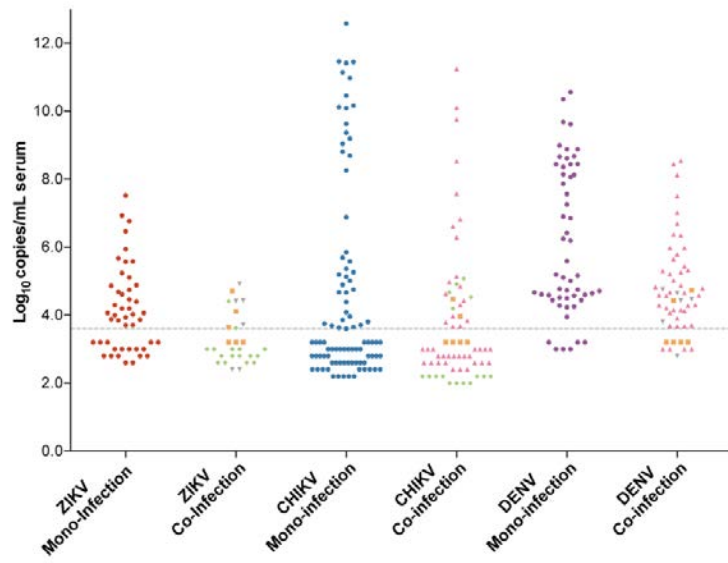
Short communication

Real-time RT-PCR for Mayaro virus detection in plasma and urine

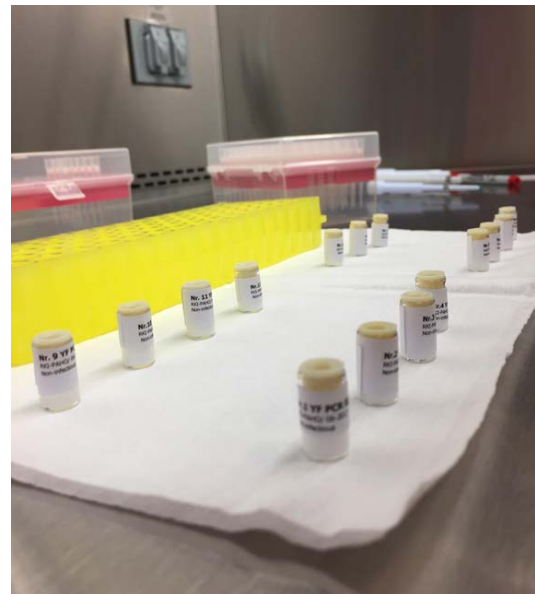
Jesse J. Waggoner^{a,b,*}, Alejandra Rojas^c, Alisha Mohamed-Hadley^d, Yvalena Arévalo de Guillén^c, Benjamin A. Pinsky^{d,e}



Proyectos



Estudio en Nicaragua
2015-2016



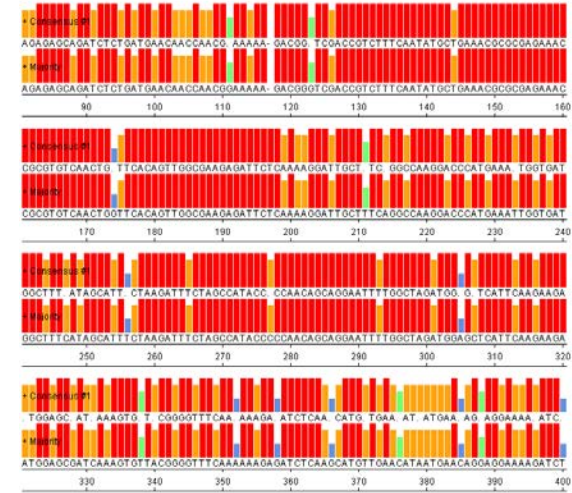
YFV



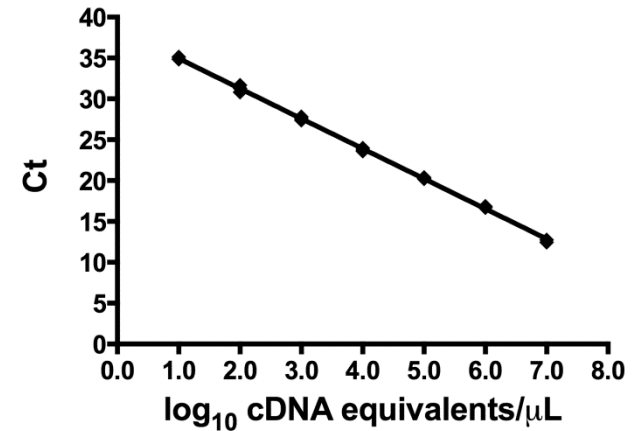
pGold

Desarrollo de ensayos para DENV

- Los primeros ensayos que diseñamos fueron para el virus del dengue (DENV)
 - Ensayo multiplex y serotipo-específico
 - Un ensayo para la detección pan-DENV
 - Mantuvo la sensibilidad
 - Podría incluirse en ensayos multiplex para otros patógenos



DENV-1



Single-Reaction, Multiplex, Real-Time RT-PCR for the Detection, Quantitation, and Serotyping of Dengue Viruses

Jesse J. Waggoner¹, Janaki Abeynayake², Malaya K. Sahoo², Lionel Gresh³, Yolanda Tellez⁴, Karla Gonzalez⁴, Gabriela Ballesteros⁴, Anna M. Pierro⁵, Paolo Gaibani⁵, Frances P. Guo², Vittorio Sambri⁶, Angel Balmaseda⁴, Kumudu Karunaratne⁶, Eva Harris⁷, Benjamin A. Pinsky^{1,2*}

Development of an Internally Controlled Real-Time Reverse Transcriptase PCR Assay for Pan-Dengue Virus Detection and Comparison of Four Molecular Dengue Virus Detection Assays

Jesse J. Waggoner,^a Janaki Abeynayake,^b Malaya K. Sahoo,^b Lionel Gresh,^c Yolanda Tellez,^d Karla Gonzalez,^d Gabriela Ballesteros,^d Angel Balmaseda,^d Kumudu Karunaratne,^e Eva Harris,^f Benjamin A. Pinsky^{a,b}

Rendimiento clínico

	Ensayo DENV Multiplex	Hemi-Nested RT-PCR	p=
Sensibilidad clínica	154/160 (96.2%)	120/160 (75.0%)	<0.0001
Especificidad clínica	38/39 (97.4%)	38/39 (97.4%)	1.0

Identificación de serotipos: Concordancia 100%

La sensibilidad mejorada se debió a la detección tardía en la enfermedad

Días de síntomas	Ensayo DENV Multiplex	Hemi-Nested RT-PCR	p=
<5	61/62 (98.4%)	59/62 (95.2%)	0.62
≥5	82/83 (98.3%)	51/83 (61.4%)	<0.0001

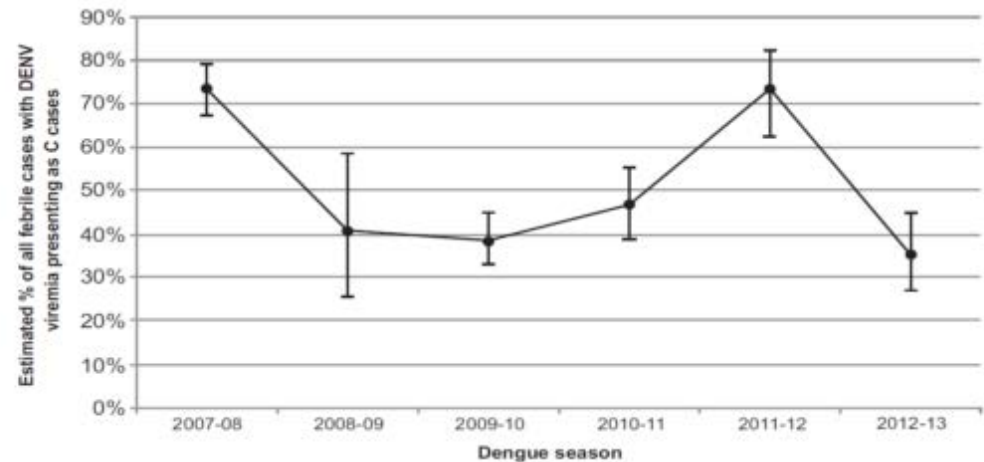
Hallazgos iniciales

- Los ensayos DENV se implementaron en el Estudio de Cohorte de Dengue Pediátrico, en Managua, Nicaragua
- Estudiamos las infecciones DENV en niños febriles que fueron diagnosticados clínicamente con una enfermedad que no era dengue
 - En el estudio, se llama “C casos”
- Probamos 2,892 casos que se recolectaron durante 6 años
 - Estudiamos carga viral
 - Evaluamos las respuestas de anticuerpos anti-DENV

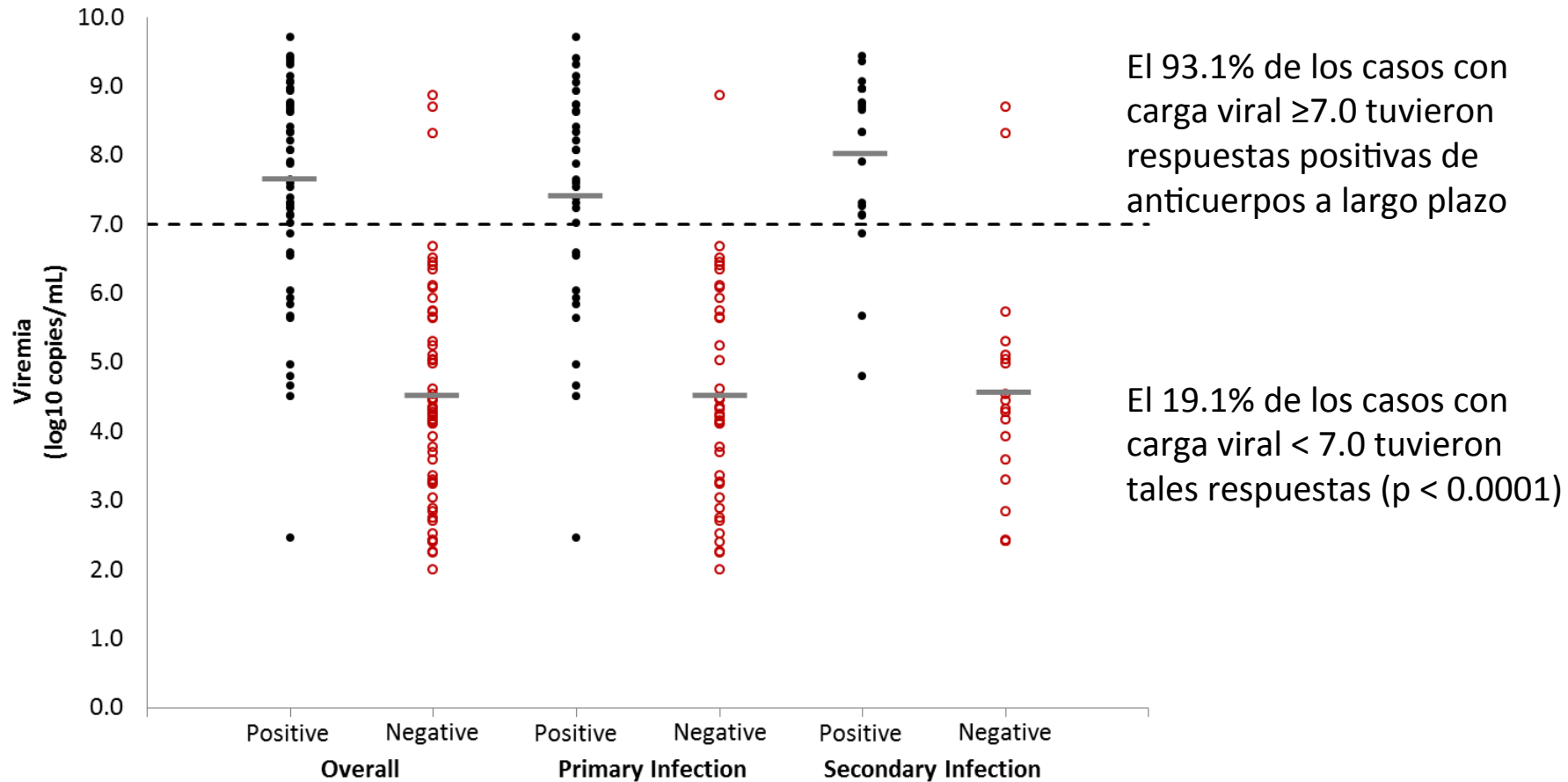


Infecciones del DENV

- Estos casos representaron $\frac{1}{2}$ de los pacientes febriles que tengan viremia de DENV
 - La incidencia varió, pero la incidencia más alta ocurrió después de que un serotipo particular había circulado durante algunos años.
 - Los casos DENV-positivos y DENV-negativos fueron indistinguibles clínicamente
- En 4/29 pacientes (13 **mismo serotipo** de DENV)
 - Desafían un principio
 - Tales casos nunca ha
 - Tienen implicancias para evaluación de vacuna



Las respuestas de anticuerpos anti-DENV dependen de la carga viral (visita aguda)



CHIKV y luego Zika en las Américas



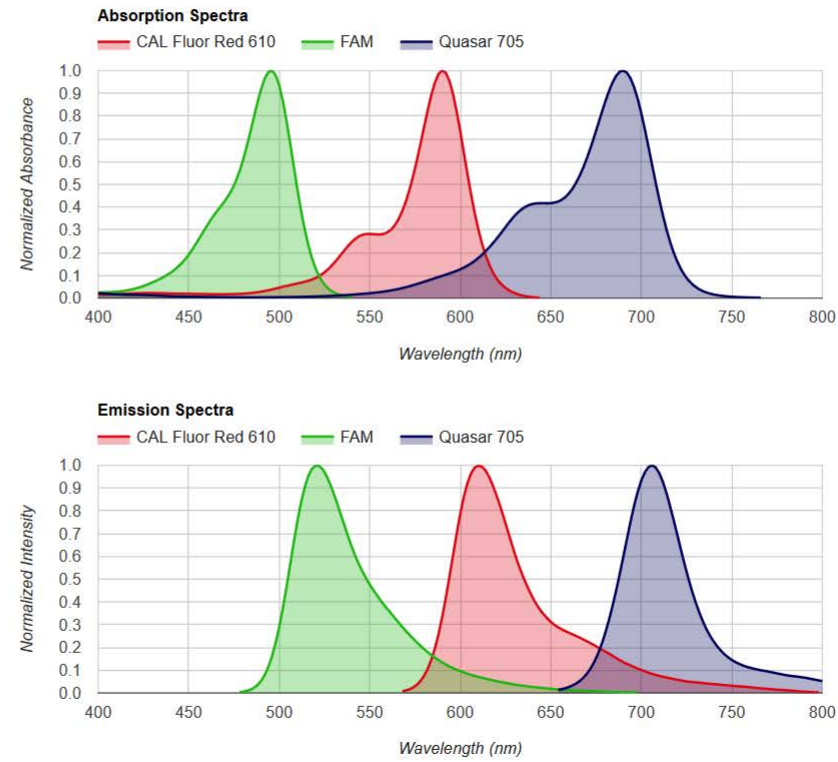
- Chikungunya
 - Primeros casos a fines de 2013
- Zika
 - Los primeros casos fueron reportados en Brasil en mayo de 2015
 - En enero de 2017, todos los países habían notificado casos



El ensayo ZCD

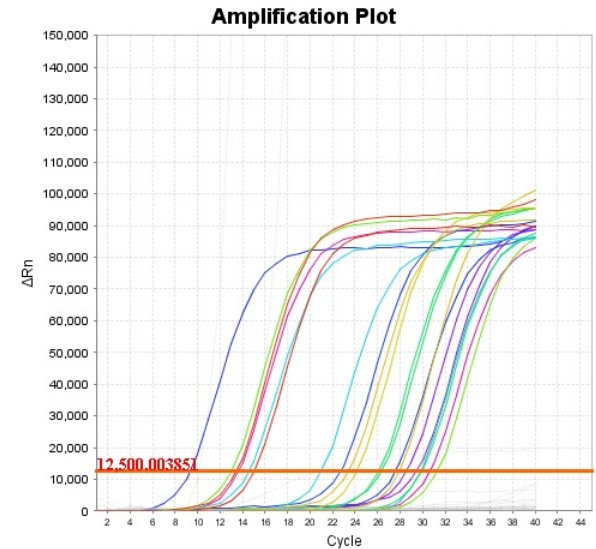
- Reacción única de RT-PCR en tiempo real para la detección y diferenciación de:
- **DENV**
 - Objetivo: región 5' UTR-capsid
 - Detecta, pero no distingue, los cuatro serotipos de DENV
- **Chikungunya Virus (CHIKV)**
 - Objetivo: una región de nsp2
 - Se puede realizar para cuantificar la carga viral CHIKV
- **Zika Virus (ZIKV)**
 - Objetivo: una región de NS4B
 - Se puede realizar para cuantificar la carga viral ZIKV

SPECTRAL OVERLAY CHARTS



El ensayo ZCD

- En uso en varios sitios y se ha adaptado para múltiples instrumentos en tiempo real
- Demostró una sensibilidad mejorada para la detección de ARN de ZIKV frente a una rRT-PCR monoplex de ZIKV publicada



	ZIKV rRT-PCR		
	Positive	Negative	Total
ZCD Assay	25	31	56
	1*	76	77
Total	26	107	133

Resultados iniciales del ensayo ZCD

- Probamos pacientes nicaragüenses con sospecha de ZIKA, CHIKV y/o DENV
 - 346 muestras de suero agudas
 - < 7 días después del inicio de síntomas
 - Fueron recolectadas para la Vigilancia Nacional de Arbovirus
 - Fechas: 1 sept 2015 a 3 abril 2016
- Pacientes con Zika
 - Mayores > 36 años
 - Más probabilidad de tener rash
 - Menos probabilidad de tener fiebre o requerir hospitalización



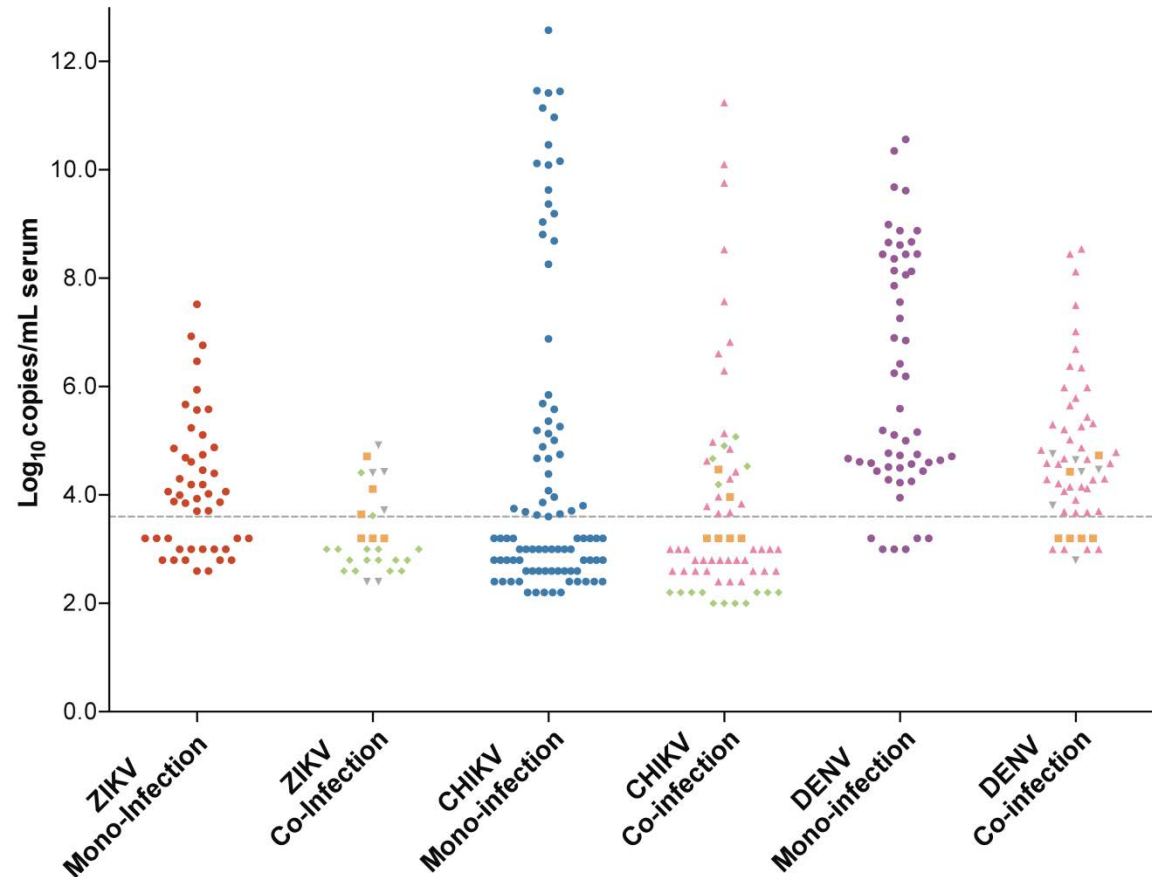
ZCD Assay Result	Number, n (% of all Samples)
Positive	263 (76.0)
<i>Monoinfections</i>	192 (55.5)
ZIKV	47 (13.6)
CHIKV	91 (26.3)
DENV ^a	54 (15.6)
<i>Coinfections</i>	71 (20.5)
ZIKV-CHIKV	16 (4.6)
ZIKV-DENV ^a	6 (1.7)
CHIKV-DENV ^a	43 (12.4)
ZIKV-CHIKV-DENV ^a	6 (1.7)
Negative	83 (24.0)

Abbreviations: CHIKV, chikungunya virus; DENV, dengue virus; ZCD, multiplex real-time reverse-transcription polymerase chain reaction for the detection and differentiation of ZIKV, CHIKV, and DENV; ZIKV, Zika virus.

^a Serotypes of 109 DENV-positive samples: DENV-2, 107; DENV-1, 1; DENV-4, 1.

Co-infecciones: 27% de pacientes con un resultado positivo

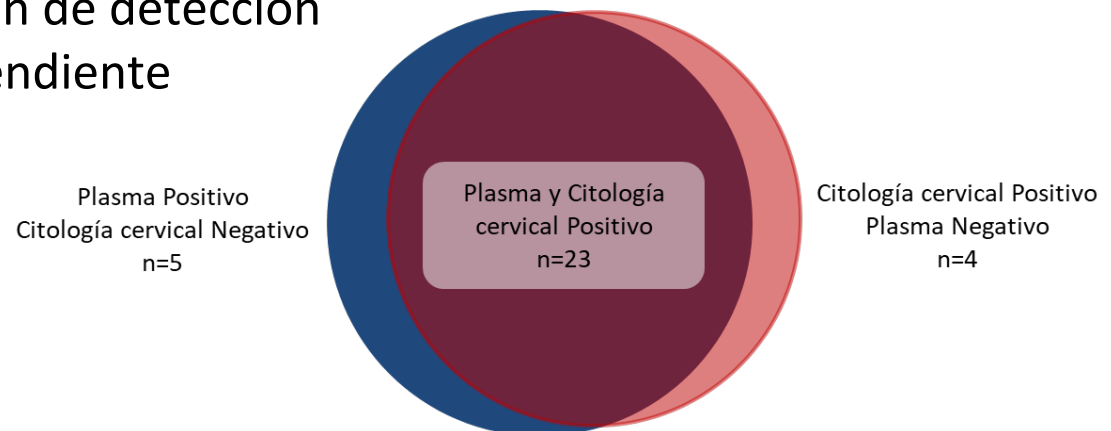
Co-infecciones y carga viral



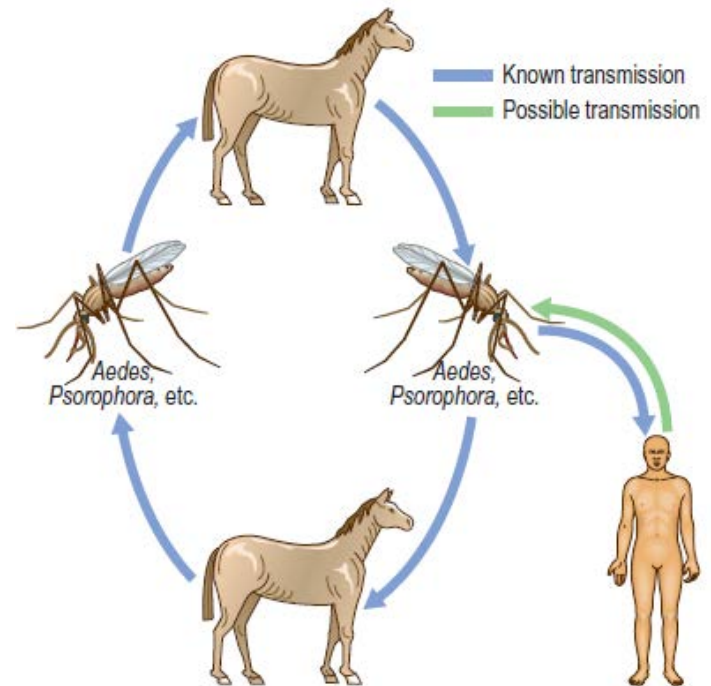
- La carga viral media fue menor en ZIKV que CHIKV o DENV
 - ZIKV: $4.7 \pm 1.0 \log_{10} \text{ c/mL}$
 - CHIKV: $6.4 \pm 2.7 \log_{10} \text{ c/mL}$
 - DENV: $5.84 \pm 1.8 \log_{10} \text{ c/mL}$
- La carga viral fue significativamente menor en las co-infecciones que las mono-infecciones
- Seis mujeres embarazadas fueron diagnosticadas con ZIKV
 - Las cargas virales medias fueron más altas que las pacientes no embarazadas

El ensayo ZCD: hallazgos adicionales

- Incluido en una gran comparación de métodos para la detección de ZIKV
 - Desempeño similar al CDC Trioplex
 - Sensibilidad 96.1%, Especificidad 100%
- Evaluado usando otros tipos de especímenes
 - **Fluido cerebroespinal:** alta incidencia de coinfecciones
 - **Citología cervical:** buen acuerdo con el suero
 - **Saliva:** alta sensibilidad para la detección de Zika en muestras agudas
 - **Orina:** mayor duración de detección
 - **Sangre completa** - pendiente



Colaboraciones para desarrollar nuevos ensayos de arbovirus



Tropical Infectious Diseases, 3rd edition. Guerrant, et al.

Fiebre Amarilla

- Creciente preocupación por los brotes de fiebre amarilla
 - Grandes brotes en Angola y la DRC en 2016, y Brasil 2016-2017
- Estimación reciente de que 400 millones de personas requieren vacunación en áreas endémicas
- El diagnóstico es desafiante
 - Los primeros síntomas son inespecíficos
 - Pruebas serológicas tienen limitaciones



Países con casos notificados de fiebre amarilla, 2017

Brasil

Bolivia

Guayana Francesa

Suriname

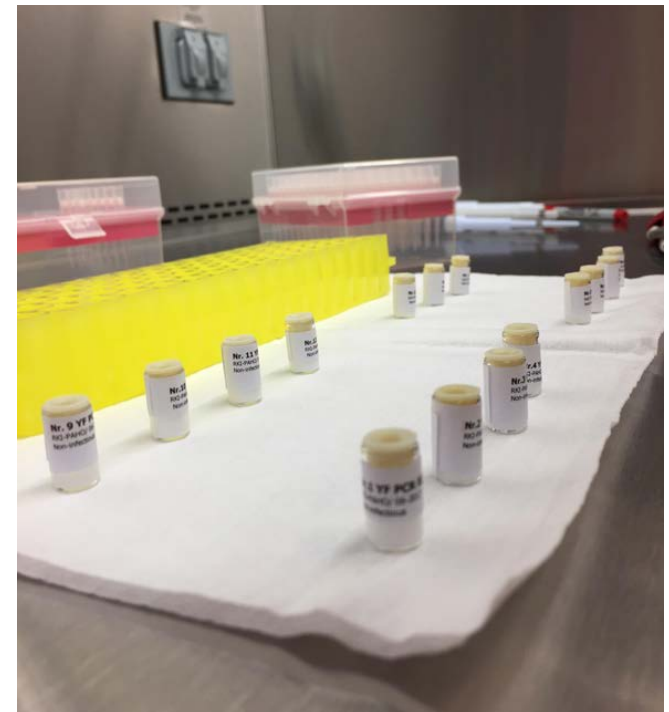
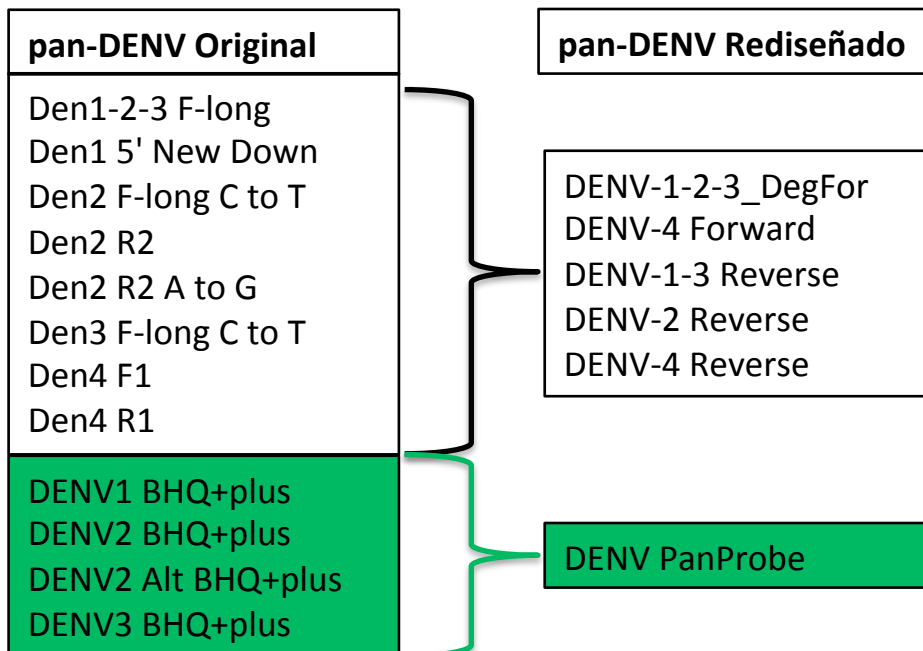
Perú

Nigeria

Costa de Marfil

Desarrollo del ensayo DENV-YFV

- Objetivos del diseño
 - Ensayo pan-DENV más económico
 - Evaluar un nuevo YFV rRT-PCR

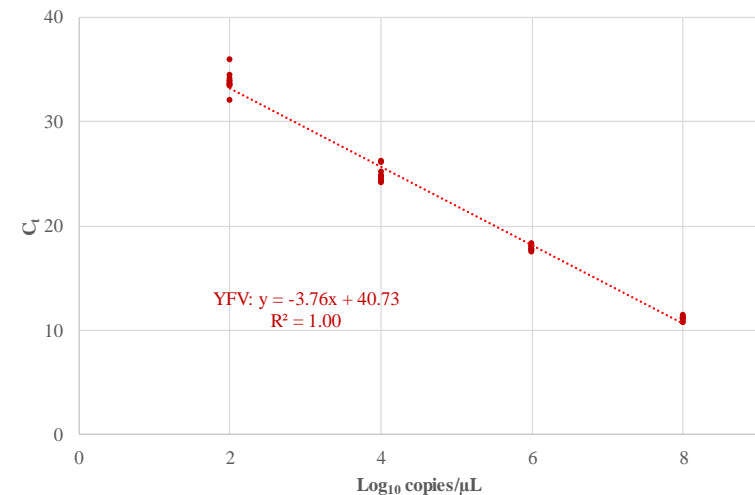
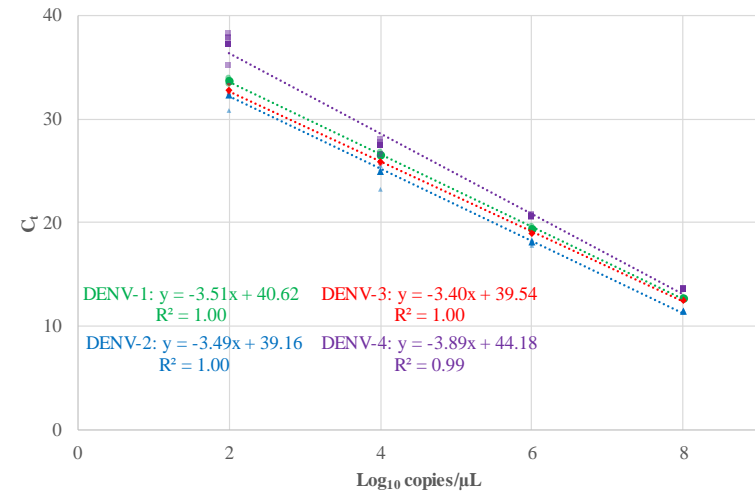


Panel de control de calidad externo para YFV

Proporcionado por Cristina Domingo, Instituto Robert Koch, Alemania

Evaluación del ensayo de DENV-YFV

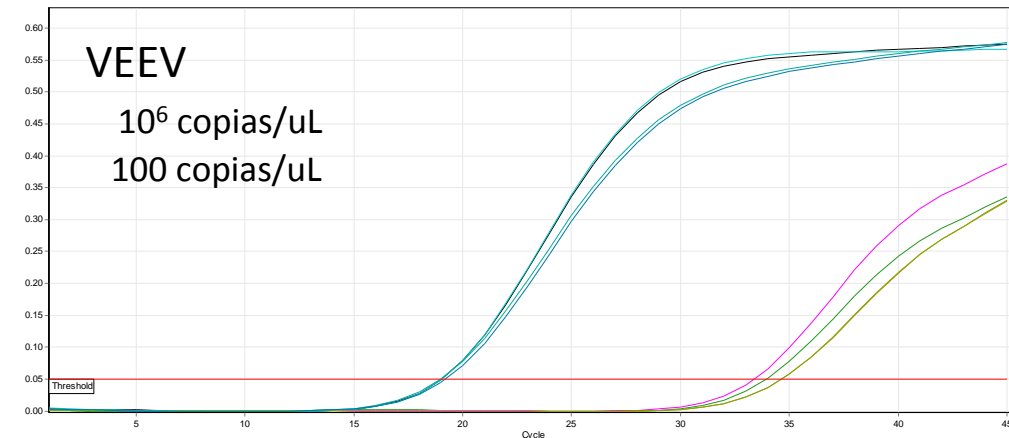
- El ensayo fue tan sensible como
 - **DENV:** el ensayo pan-DENV original utilizando muestras clínicas de DENV-1, -2 y -3 y ARN de DENV-4
 - **YFV:** ensayo de YFV rRT-PCR recomendado por la OMS usando 19 cepas de YFV
- También incluye la detección de Rnase P como *control interno*
- Se espera que proporcione un diagnóstico útil para la detección y diferenciación de DENV y YFV



Virus de la encefalitis equina venezolana (VEEV)

- Podría constituir una proporción significativa entre las enfermedades similares a DENV
- Pacientes pueden desarrollar viremia suficiente para infectar a los mosquitos
- **Desafíos**
 - Múltiples subtipos
 - No todos los subtipos están bien representados en GenBank
- **Progreso**
 - Ensayo diseñado y rediseñado utilizando todos los genomas completos disponibles
 - Evaluado usando secuencias de cepas IAB, IC y IV
 - Parece específico

Venezuelan equine encephalitis (VEE)	Venezuelan equine encephalitis (VEEV)	I	AB	Febrile illness, encephalitis	North, Central, South America
			C	Febrile illness, encephalitis	South America
			D	Febrile illness, encephalitis	South America, Panama
			E	Febrile illness, encephalitis	Central America, Mexico
	Mosso das Pedras virus (MDPV)		F (strain 78V3531)	None recognized	Brazil
	Everglades (EVEV)	II		Febrile illness, encephalitis	Florida (USA)
	Mucambo (MUCV)	III	A	Febrile illness, myalgia	South America, Trinidad
			C (strain 71D1252)	None recognized	Peru
			D (strain 407660)	Febrile illness	Peru
	Tonate (TONV)	III	B	Febrile illness, encephalitis	Brazil, Colorado (USA)
	Pixuna (PIXV)	IV		Febrile illness, myalgia	Brazil
	Cabassou (CABV)	V		None recognized	French Guiana
	Rio Negro (RNV)	VI		Febrile illness, myalgia	Argentina

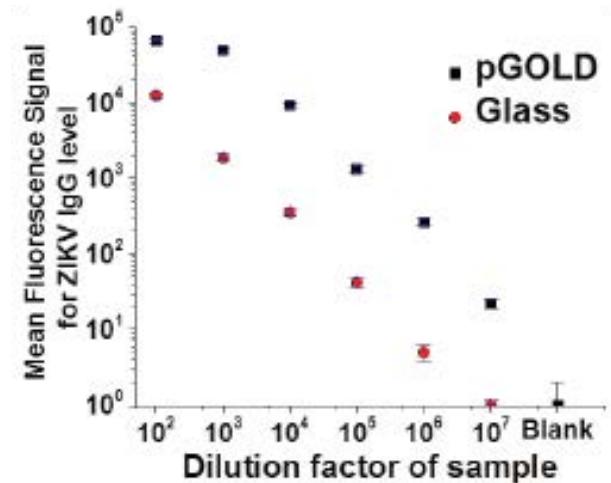


pGOLD (de Nirmidas, Inc)



Pruebas serológicas pGOLD

- Ensayo serológico multiplex en una plataforma nanoestructurada de oro plasmónico (pGOLD)
- La plataforma pGOLD es capaz de amplificar la fluorescencia del infrarrojo cercano en hasta ~ 100 veces, lo que permite el análisis sensible de múltiples analitos en un rango dinámico de 6-7 log



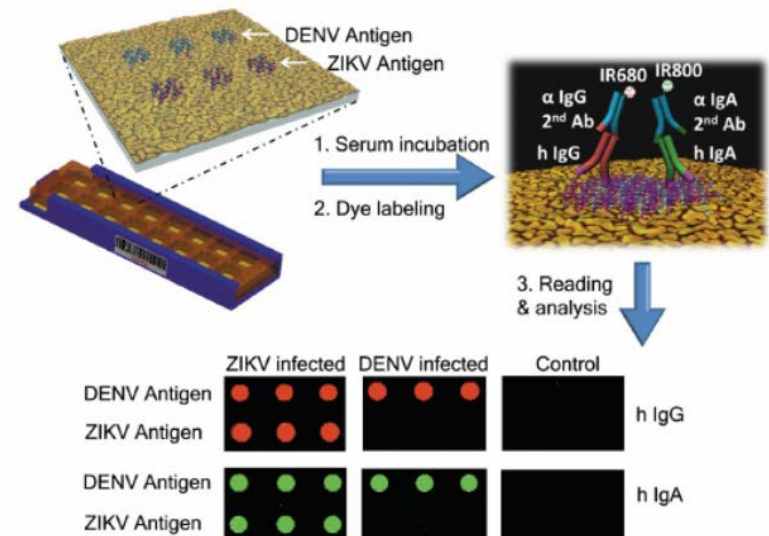
Duplex de DENV y ZIKV

- Desarrollado para la detección de IgM, IgA, IgG y la avidéz de IgG contra los antígenos ZIKV y DENV-2
 - ZIKV NS1 (Suriname)
 - DENV-2 virus total
- Evaluado usando muestras clínicas de pacientes en Colombia, República Dominicana, Honduras y Sri Lanka
 - Muestras de conveniencia
 - Solo una muestra individual de cada paciente
 - La detección de IgG (con o sin IgA) pareció funcionar mejor para el diagnóstico



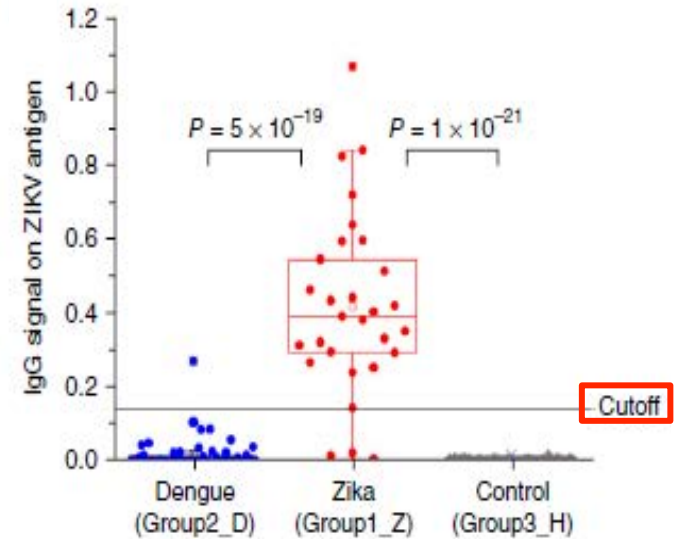
Análisis e interpretación

- Los antígenos se detectan por triplicado
- Los valores promedio de fluorescencia se utilizan para los cálculos
- Los resultados se informan como la proporción entre la fluorescencia en la muestra del paciente y un calibrador
- Actualmente, los resultados de ZIKV se interpretan en relación con DENV
 - Utiliza un *threshold* más alto en pacientes DENV+ versus DENV-

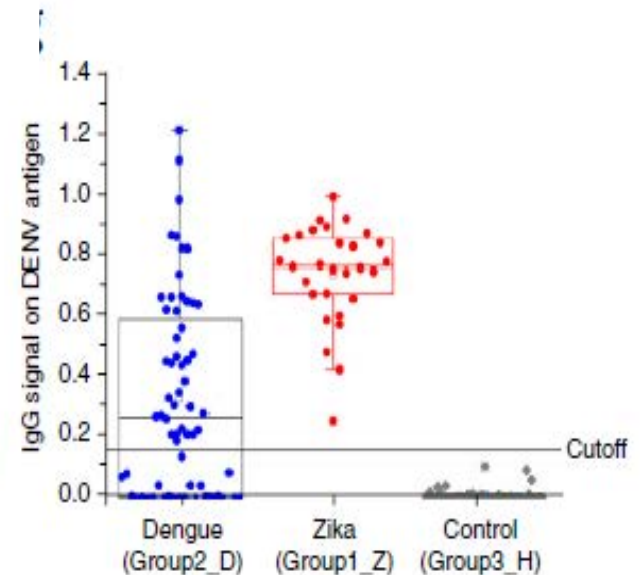


Detección de IgG

- Anti-ZIKV IgG (NS1 antígeno)
 - Detección específica: solo 1 caso de DENV con reacción cruzada y resultados negativos en pacientes control
 - Detectó 26/29 casos de Zika en Colombia

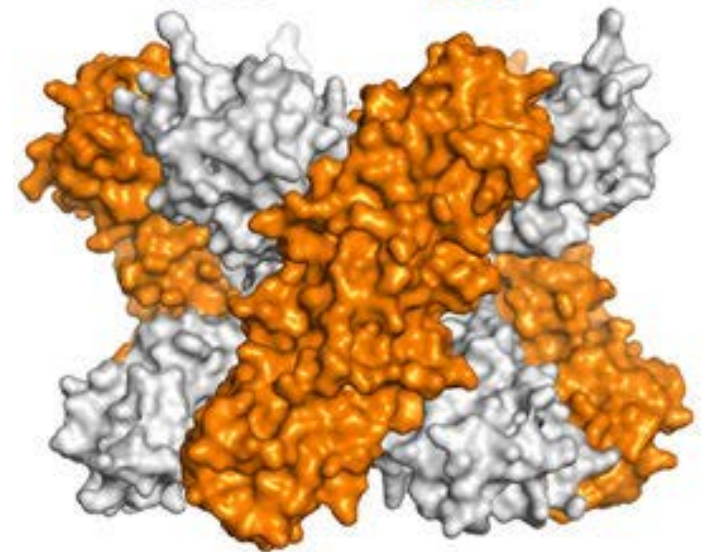


- Anti-DENV IgG (virus total)
 - Los casos de Zika tenían anticuerpos que causaban reacción cruzada
 - IgM fue difícil de interpretar (datos no mostrados)



Ensayo Arbovirus de pGOLD

- El chip más reciente incluye
 - Antígenos de NS1
 - ZIKV: cepas de Suriname y Uganda
 - YFV, WNV, JEV y TBEV
 - Virus completo de DENV-2
 - Proteína E de CHIKV



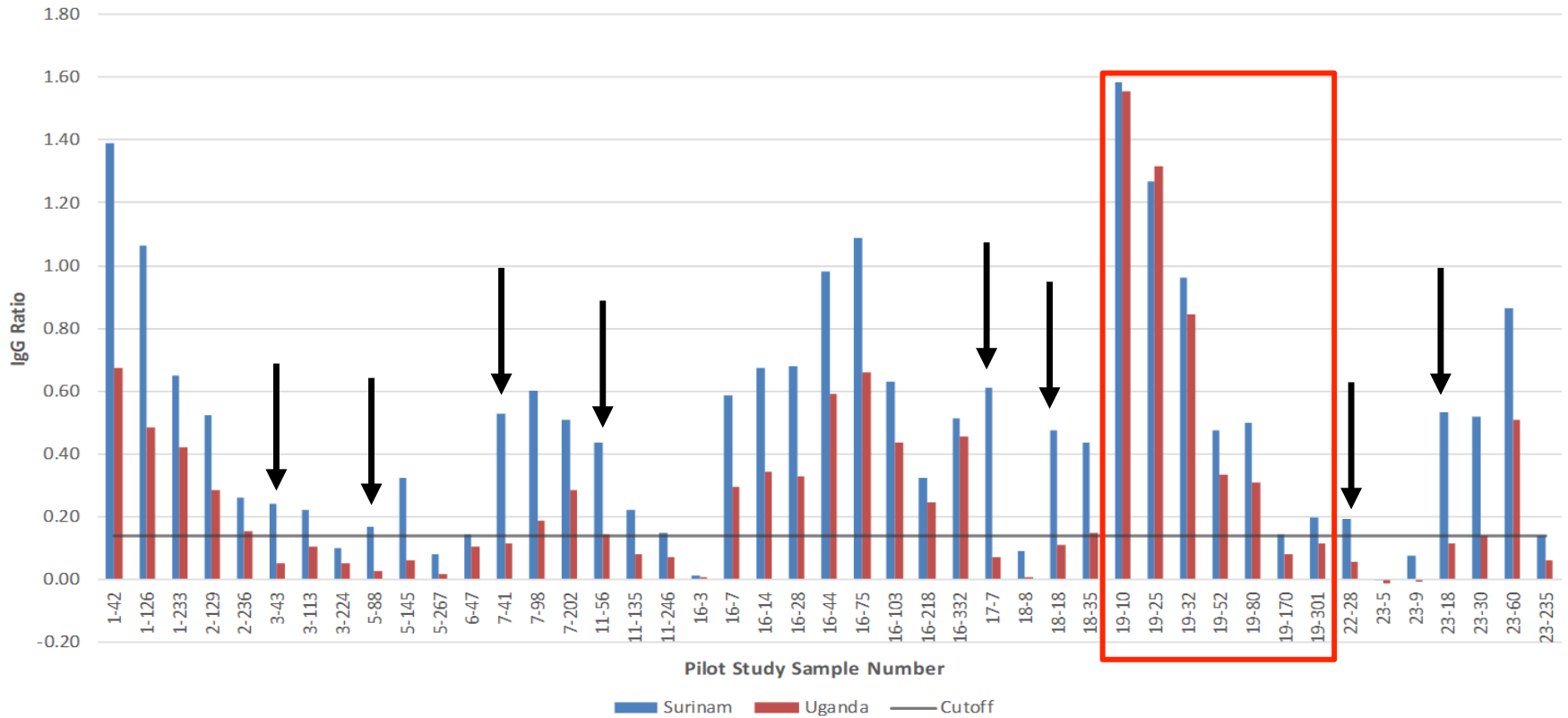
Nature Structural & Molecular Biology 23, 456–458 (2016)

- Evaluado usando muestras de un pequeño estudio de Zika en viajeros que regresan de países tropicales



Michael Tompsett, Fine Art America

Anti-ZIKV NS1 IgG Surinam vs Uganda Strains



- Antígenos de cepas africanas y asiáticas colocados en el chip
- Se habría perdido una cantidad de casos con la cepa de Uganda
- Para todos los pacientes, a excepción del #19, el antígeno de Surinam funcionó mejor

Los próximos pasos para pGOLD

- Evaluar el rendimiento de otros antígenos: CHIKV, YFV, WNV
 - Considerar otros virus ... ¿por qué incluir JEV y TBEV? (incluidos en una propuesta de subvención)
- Comparar los resultados usando NS1 de DENV y/o virus completo de ZIKV
 - Recomendamos esto
- Evaluar el rendimiento utilizando muestras pareadas ... se adquirirán como parte del estudio de arbovirus en Paraguay

**Detección y caracterización de infecciones
por arbovirus en pacientes con
enfermedad aguda del Departamento
Central, Paraguay**

Desarrollo del proyecto prospectivo de arbovirus

???: Necesidad de una mejor detección de arbovirus

Dic 2016: Visita exitosa de Alejandra Rojas a Emory

Enero-Mayo 2017: Desarrollo del protocolo de arbovirus.
Aprobación: IICS 18 mayo
Emory 27 junio

Oct 2017: Contrato firmado con CONACYT para mi visita
Nov-Dic: Ahora

Enero-Feb 2018: Inicio propuesto para el proyecto

Evaluación y optimización de nuevos ensayos para

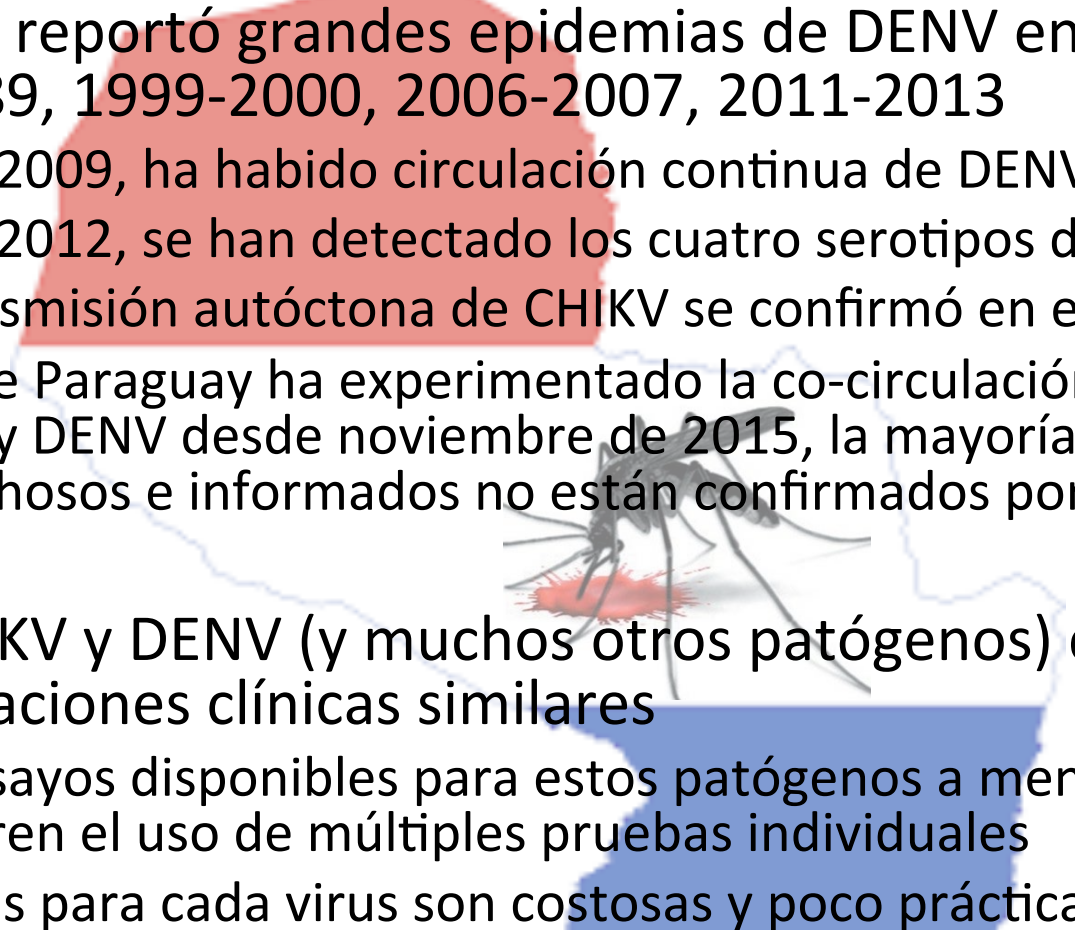
- DENV
- CHIKV
- ZIKV
- VEEV
- MAYV
- YFV



EMORY
UNIVERSITY
SCHOOL OF
MEDICINE

Department of Medicine

Antecedentes

- Paraguay reportó grandes epidemias de DENV en 1988-1989, 1999-2000, 2006-2007, 2011-2013
 - Desde 2009, ha habido circulación continua de DENV
 - Desde 2012, se han detectado los cuatro serotipos de DENV
 - La transmisión autóctona de CHIKV se confirmó en enero de 2015
 - Aunque Paraguay ha experimentado la co-circulación de ZIKV, CHIKV y DENV desde noviembre de 2015, la mayoría de los casos sospechosos e informados no están confirmados por laboratorio.
 - ZIKV, CHIKV y DENV (y muchos otros patógenos) causan manifestaciones clínicas similares
 - Los ensayos disponibles para estos patógenos a menudo requieren el uso de múltiples pruebas individuales
 - Pruebas para cada virus son costosas y poco prácticas
- 
- A map of Paraguay is shown in the background, with the northern region highlighted in red and the southern region in blue. A detailed illustration of a mosquito is overlaid on the map, positioned over the red region.

Objetivos

- **Objetivo 1:** Evaluar y optimizar nuevas pruebas para la detección de ARN y anticuerpos antivirales en el IICS-UNA. Se implementarán pruebas para
 - ZIKV, CHIKV y DENV (el ensayo ZCD)
 - Así como para los arbovirus relacionados, que incluyen, entre otros, YFV, MAYV y VEEV

Objetivos

- **Objetivo 1:** Evaluar y optimizar nuevas pruebas para la detección de ARN y anticuerpos antivirales para su uso en el IICS-UNA. Se implementarán pruebas para
 - ZIKV, CHIKV y DENV (el ensayo ZCD)
 - Así como para los arbovirus relacionados, que incluyen, entre otros, YFV, MAYV y VEEV
- **Objetivo 2:** Utilizar estas pruebas para detectar infecciones arbovirales en muestras clínicas, que servirán como base para caracterizar las manifestaciones clínicas y la epidemiología de tales infecciones en esta población de pacientes.

Objetivos

- **Objetivo 1:** Evaluar y optimizar nuevas pruebas para la detección de ARN y anticuerpos antivirales para su uso en el IICS-UNA. Se implementarán pruebas para
 - ZIKV, CHIKV y DENV (el ensayo ZCD)
 - Así como para los arbovirus relacionados, que incluyen, entre otros, YFV, MAYV y VEEV
- **Objetivo 2:** Utilizar estas pruebas para detectar infecciones arbovirales en muestras clínicas, que servirán como base para caracterizar las manifestaciones clínicas y la epidemiología de tales infecciones en esta población de pacientes.
- **Objetivo 3:** Secuenciar cepas de arbovirus para confirmar subtipos virales, identificar relaciones genéticas entre cepas virales en Paraguay y comparar secuencias virales paraguayas con secuencias disponibles públicamente en GenBank.

Sitios de estudio

- **Hospital de Villa Elisa**
 - Hospital distrital
 - Muchas visitas de pacientes con sospecha de enfermedades de arbovirus
- **IICS-UNA**
 - Ubicación principal del estudio
 - Todas las pruebas de laboratorio primarias
 - Recogida y análisis de datos
- **Emory**
 - Desarrollo y optimización de ensayos
 - Diseño del estudio y análisis de datos
 - Sitio potencial para futuros estudios inmunológicos
- **Stanford University, Benjamin A. Pinsky**
 - Desarrollo e implementación pGOLD
 - Sitio potencial para la futura secuenciación de patógenos

Criterios de inclusión

- Inscribir pacientes, de todas las edades, que presenten una enfermedad aguda (≤ 7 días) caracterizada por 2 o más de los siguientes:
 - Fiebre: medida o subjetiva
 - Ojos rojos o conjuntivitis
 - Rash (involucra más de una parte del cuerpo)
 - Dolor en las articulaciones (más de una)
 - Dolor muscular difuso



Criterios de exclusión

- Dolor al orinar o con mal olor
- Infección cutánea localizada (celulitis o absceso)
- Tos con producción de esputo
- Vómitos y / o diarrea más de 3 veces al día



Programa de visitas de estudio, toma de muestras y pruebas de arbovirus

Procedimientos	Visita Aguda	Visita Convaleciente	Visita – 3 meses
Timing	Presentación	14-21 días después	90 días después
Consentimiento	●		
Cuestionario	●	●	
Toma de Muestras			
Suero	●	●	●
Sangre	●	●	●
Orina	●	●	
Probar			
Molecular	S, WB, O	S, WB O	S, WB
Serología	S	S	S
Revisión de historia médica	↔		

Abreviaciones : S, suero; WB, sangre; O, orina



Información clínica y análisis de datos

- Información clínica
 - Cuestionarios en visitas agudas y convalecientes
 - Datos adicionales de la historia clínica
 - Datos de geolocalización para residencias y lugares de trabajo/escuela
- Análisis de datos
 - Caracterizar la incidencia de enfermedades y la epidemiología de las infecciones detectadas
 - Describir los hallazgos de las diferentes infecciones virales según la edad del paciente, la gravedad de la enfermedad y la carga viral
 - Evaluar las respuestas de anticuerpos a cada infección

Detección y caracterización de infecciones por arbovirus en pacientes con enfermedad aguda del Departamento Central, Paraguay Código del estudio: _____

Cuestionario de la Visita de Aguda

Para completar este cuestionario, marque la casilla de "Sí" o "No" que mejor le describa (o el paciente) o escriba su respuesta en la línea proporcionada.

En los últimos 7 días, ¿ha tenido alguno de los siguientes síntomas? Marque todo lo que corresponda:

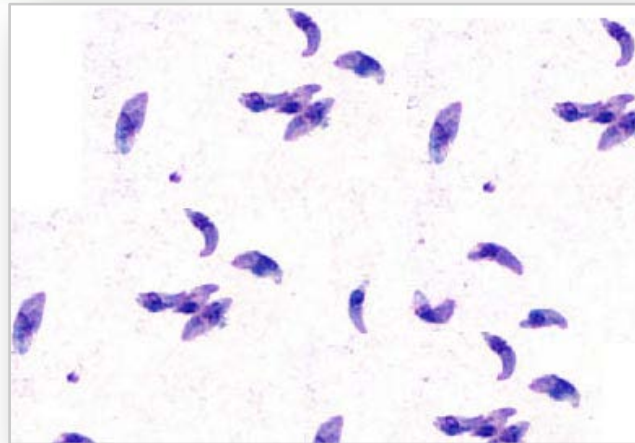
Dolor de cabeza	<input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No
Tos	<input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No
Dificultad para respirar	<input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No
Dolor de garganta	<input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No
Dolor abdominal	<input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No
Náuseas y / o vómitos	<input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No
Diarrea	<input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No
Hinchazón/Edema	<input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No
Ubicación de la hinchazón:	_____	
Sangrado	<input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No
Ubicación del sangrado:	_____	

¿Cuál fue el primer síntoma que notó? _____

Otras líneas de investigación



Varsovia Cevallos, CIREV-INSPI, Quito, Ecuador



Prueba de Vectores

- Área importante para entender la transmisión y persistencia de arbovirus en una población
- Podemos analizar mosquitos recogidos previamente para detectar patógenos específicos
 - Mosquitos colectados en el campo
 - Ordenado por especie y sexo
 - Adultos y etapas larvarias
- Es posible orientar colecciones en torno a casos conocidos para aumentar el rendimiento



Patógenos adicionales

- Toxoplasmosis
 - Considerar la implementación de un protocolo utilizado en el Laboratorio Clínico de Stanford
 - Compartido previamente con el equipo
- Virus de la encefalitis de San Luis
 - Se diseñó un ensayo multiplex ...con malos resultados
 - Considerar rediseñar o utilizar ensayos existentes de la literatura
- Virus Oropouche
 - Se encontró intermitentemente que es una causa común de enfermedad de arbovirus
 - Un nuevo ensayo ha sido diseñado y evaluado
 - Puede ser usado para probar casos agudos de arbovirus en Paraguay



Investigación cualitativa

- Colaboración con Karen Andes en la Escuela de Salud Pública Rollins
 - Ha trabajado en Paraguay durante 15 años
 - Visitó IICS-UNA en junio
 - Su investigación se ha centrado en infecciones de transmisión sexual
- Las consideraciones para los proyectos de arbovirus incluyen
 - Entender las barreras para regresar a las visitas convalecientes
 - Mejorar las pruebas para el VPH y otras ITS
 - Aumento de la aceptación de intervenciones para la prevención de enfermedades



EMORY

ROLLINS
SCHOOL OF
PUBLIC
HEALTH



Oportunidades para colaboración en los EE.UU. y Latinoamérica



Universidad de Emory

- Unidad de Evaluación de Vacunas y Tratamiento de Emory (VTEU) y Hope Clinic
 - Soy un miembro del equipo de laboratorio de la VTEU
 - Proporcionar una oportunidad única para la presentación de propuestas y financiación
 - Con mucha experiencia en la realización de ensayos clínicos, incluidos ensayos internacionales y multicéntricos



Otros Grupos de Emory

- Escuela de Salud Pública Rollins
 - Departamentos de Salud Global y Epidemiología, entre otros
 - Investigadores con una amplia gama de experiencia
- Estudios de vectores - Uriel Kitron
- Centro de resistencia a antibióticos
 - Grupo multidisciplinario de investigadores que estudian los mecanismos, detección y tratamiento de bacterias resistentes a múltiples antibióticos
- VIH - Ensayos clínicos e investigación básica
 - Centro para la Investigación del SIDA (Center for AIDS Research, CFAR)
 - Participar en y coordinar estudios en:
 - HIV Prevention Trials Network (HPTN)
 - HIV Vaccine Trials Network (HVTN)



EMORY

ROLLINS
SCHOOL OF
PUBLIC
HEALTH



EMORY
UNIVERSITY
SCHOOL OF
MEDICINE

Department of Medicine

Oportunidades educativas

- Oportunidades de intercambio
 - Estudiantes de medicina
 - Rotaciones externas / Electivas
 - Oportunidades de investigación
 - Estudiantes de salud pública
 - Estudiantes de maestría y doctorado
 - Otros
 - Estudiantes universitarios
 - Residentes médicos y becarios



EMORY
UNIVERSITY
SCHOOL OF
MEDICINE

Department of Medicine



EMORY
ROLLINS
SCHOOL OF
PUBLIC
HEALTH

Universidad de Stanford

- Benjamin A. Pinsky
 - Profesor Asociado en Patología y Medicina - Enfermedades Infecciosas
 - Colaborador en nuestra investigación actual
- División de Enfermedades Infecciosas
- Líder mundial en investigación en bioinformática y microbioma
- Conexiones con la industria biotecnológica



Instituto de Ciencias Sostenibles

(Sustainable Sciences Institute, SSI)

- Contactos:
 - Josefina Coloma, PhD, UC Berkeley
 - Maria Elena Peñarada, PhD, SSI
 - Eva Harris, PhD, UC Berkeley
- Josefina Coloma colabora con investigadores de la UCA
 - Estudio de DengueChat
 - Aplicación de teléfono inteligente para motivar la participación de la comunidad en la disminución de criaderos de *Aedes*
- SSI ha realizado entrenamientos en IICS en el pasado (~ 15 años atrás)



Sustainable
Sciences
Institute

Latinoamérica

- UNAH en Tegucigalpa
 - Conexiones existentes con IICS-UNA
- Organizaciones gubernamentales
 - SSI/MINSA en Managua
 - INSPI en Quito (vectores)
- Colaboraciones potenciales en Guatemala con la Universidad de Colorado (EE.UU.)

Investigación veterinaria

- Centros de primates e investigación de vectores
 - Emory, con un nuevo insectario
 - Trabaja con el Emory Vaccine Center
 - UC Davis, Lark Coffey
 - Universidad de Wisconsin
 - Gregory Ebel, Colorado State University
(no confundir con la Universidad de Colorado)

Consideraciones para fondos



National Institutes
of Health



BILL & MELINDA
GATES *foundation*



FUNDACIÓN
Carlos Slim

Consideraciones Generales

- Para las propuestas de investigación científica (a diferencia del desarrollo), debemos considerar por qué Paraguay es único ... o ... ¿qué preguntas se pueden responder aquí pero no en otro lado?
- Esto puede incluir
 - Población de pacientes
 - Incidencia de enfermedades específicas
 - Ubicación (el borde de los trópicos)
 - Personal y capacidad de investigación
- A menudo es insuficiente para decir que algo no se ha estudiado en Paraguay



National Institutes of Health (NIH)

- Sigue siendo el mayor financiador de investigaciones en EEUU
- Las propuestas suelen centrarse en investigación (en lugar de desarrollo)
- Financiamiento basado en:
 - Relevancia e Innovación
 - Viabilidad y Diseño
- Cuenta con convocatorias tipo “ventanilla abierta” y convocatorias de propuestas específicas
- Siempre se puede justificar trabajar con una institución extranjera
 - Algunas convocatorias permiten aplicaciones de instituciones extranjeras

Fogarty Center

- Un centro específico de NIH centrado en la salud internacional
- Las oportunidades a menudo permiten a instituciones extranjeras aplicar o participar en colaboraciones
- También financia proyectos de desarrollo o administrativos en sitios extranjeros



Centers for Disease Control

- Ofrece premios relativamente enfocados en
 - Áreas específicas de interés
 - Puede indicar un país o una pequeña región de interés
- Colaboración con los investigadores de CDC



Fundaciones

- Muchas fundaciones ofrecen premios de tamaños diferentes
 - Gates, Keck, Doris Duke, Coke, Carlos Slim, Thrasher
- Enfoque
 - Las propuestas deben alinearse con los objetivos de la fundación
 - Las grandes propuestas que no coinciden con los objetivos fundamentales no serán financiadas
- El proceso de financiación para las fundaciones es variable y menos claro que el NIH

Otras fuentes

- Fuentes no estadounidenses
 - Fuentes canadienses y europeas financian investigaciones en otros países
- Industria
 - BioFire, Inc.
 - Colaboraciones como la de Nirmidas
- Donantes privados o empresas
 - Poco común pero es posible

Elegibilidad

- Tener en cuenta los lineamientos en los Anuncios de Oportunidad de Financiamiento (FOA)
 - Si hay preguntas, los contactos generalmente responden
- Para una colaboración, debe quedar claro lo que cada institución proporcionará
- Una institución debe estar registrada para recibir directamente fondos del NIH
 - Esto es predominantemente un proceso administrativo
 - <https://grants.nih.gov/grants/how-to-apply-application-guide/prepare-to-apply-and-register/register.htm>

The screenshot displays the NIH Grants & Funding website. The header includes the NIH logo, the text 'National Institutes of Health Office of Extramural Research', and 'Grants & Funding NIH's Central Resource for Grants and Funding Information'. There is a search bar and navigation links for 'eRA', 'Glossary & Acronyms', 'FAQs', and 'Help'. The main navigation bar has tabs for 'HOME', 'ABOUT GRANTS', 'FUNDING', 'POLICY & COMPLIANCE', 'NEWS & EVENTS', and 'ABOUT OER'. The breadcrumb trail reads 'Home > About Grants > How to Apply - Application Guide > Registration > Register'. The left sidebar contains a menu with 'About Grants' (Grants Process Overview, Get Started), 'How to Apply' (Prepare to Apply, Systems and Roles, Register, Understand Funding Opportunities, Types of Applications, Submission Options, Obtain Software), 'Write Application', and 'Submit'. The main content area is titled 'Register' and states: 'NIH typically awards grants to organization, not individuals.*' and 'You must complete multiple registrations in order to submit a grant application.' It explains that most registrations pertain to the organization and its representative, while investigators and others must also be registered in eRA Commons. Two bullet points are listed: 'Organization/Organization Representative Registration' and 'Investigators and Other Individual User Registration'.

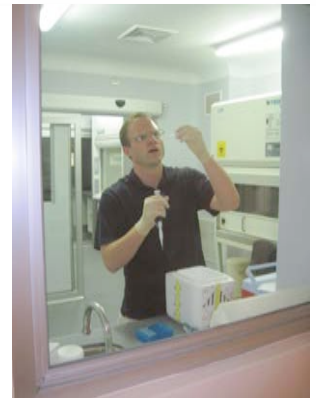
Consideraciones Especiales

- Equipo

- Típicamente definido como algo > \$ 5,000 USD
- Muchos premios no serán compatibles con los costos de los equipos nuevos
- Si está permitido, esto debe estar justificado para un proyecto en particular, no para uso general

- Personal

- La mayoría de los premios permitirán el apoyo salarial
- Algunos premios más pequeños solo admiten reactivos



Acknowledgements

- Emory
 - Monica Farley
 - Mark J. Mulligan
 - Karen Andes
 - Victoria Simmons
 - Muktha Natrajan
 - Lilin Lai
 - Sri Edupuganti
 - Vinit Karmali
 - Joanne Altieri-Rivera
- IICS-UNA
 - Alejandra Rojas
 - Yvalena de Guillen
- Stanford
 - Benjamin A. Pinsky
 - Malaya K. Sahoo
 - Alisha Mohamed-Hadley
- UC Berkeley
 - Eva Harris
 - Josefina Coloma
 - Leah Katzelnick
- MINSAs, CNDR, SSI en Managua
 - Angel Balmaseda
 - Raquel Burger-Calderon
 - Karla Gonzalez
 - Lionel Gresh



Agradecimiento especial a CONACYT por el apoyo a través del

Programa de Vinculación de Científicos y Tecnólogos del CONACYT

Este programa ha permitido

- La pasantía de Alejandra Rojas en Emory
 - Mi visita para el entrenamiento e implementación de ensayos



Muchas gracias!