



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DA
RELAÇÃO PARASITO-HOSPEDEIRO**

THAIS SANTANA DE OLIVEIRA

**Investigação de Zika vírus em gestantes exantemáticas:
Identificação de positividade viral prolongada**

**Goiânia
2018**

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE
TESES E
DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: Dissertação Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação:

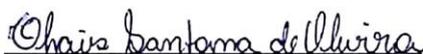
Nome completo do autor: Thais Santana de Oliveira

Título do trabalho: Investigação de Zika vírus em gestantes exantemáticas: identificação de positividade viral prolongada

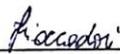
3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.


Assinatura do(a) autor(a)²

Ciente e de acordo:


Assinatura do(a) orientador(a)²

Data: 26 / 11 / 2018

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente
- Submissão de artigo em revista científica
- Publicação como capítulo de livro
- Publicação da dissertação/tese em livro

²A assinatura deve ser escaneada.

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR
VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES
NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o(a) autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico: Dissertação Tese

2. Identificação da Tese ou Dissertação:

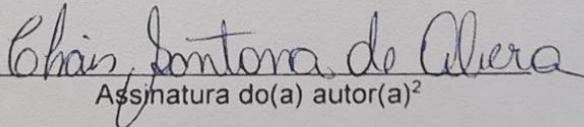
Nome completo do (a) autor(a): THAIS SANTANA DE OLIVEIRA

Título do trabalho: Investigação de Zika Vírus em gestantes exantemáticas: Identificação de positividade viral prolongada.

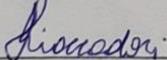
3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

Independente da concordância com a disponibilização eletrônica, é imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.


Assinatura do(a) autor(a)²

Ciente e de acordo:


Assinatura do(a) orientador(a)²

Data: 15/06 /2021

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante: a) consulta ao(a) autor(a) e ao(a) orientador(a); b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação. O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

² As assinaturas devem ser originais sendo assinadas no próprio documento. Imagens coladas não serão aceitas.

THAIS SANTANA DE OLIVEIRA

**Investigação de Zika vírus em gestantes exantemáticas:
Identificação de positividade viral prolongada**

Dissertação de Mestrado apresentado
ao Programa de Pós-Graduação em
Biologia da Relação Parasito-Hospedeiro
da Universidade Federal de Goiás para
obtenção do Título de Mestre

Orientador: Prof^a Dr^a Fabíola Souza
Fiaccadori

**Goiânia
2018**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Oliveira, Thais Santana de
Investigação de Zika vírus em gestantes exantemáticas: identificação de positividade viral prolongada [manuscrito] / Thais Santana de Oliveira. - 2018.
X, 81 f.: il.

Orientador: Profa. Dra. Dr^a Fabíola Souza Fiaccadori .
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP), Programa de Pós Graduação em Biologia da Relação Parasito-Hospedeiro, Goiânia, 2018.
Bibliografia. Anexos.
Inclui siglas, abreviaturas, símbolos, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Zika vírus. 2. Detecção prolongada. 3. Gestante . I. Fiaccadori , Dr^a Fabíola Souza, orient. II. Título.

CDU 578



ATA DA REUNIÃO DA BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE THAIS SANTANA DE OLIVEIRA. Aos vinte cinco dias do mês de outubro do ano de 2018 (25/10/2018), às 14:30 horas, reuniram-se os componentes da Banca Examinadora: Profas. Dras. FABIOLA SOUZA FIACCADORI, MENIRA BORGES DE LIMA DIAS E SOUZA e MARCELLE FIGUEIRA MARQUES DA SILVA para, sob a presidência da primeira, e em sessão pública realizada no INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA, procederem à avaliação da defesa de dissertação intitulada: **“INVESTIGAÇÃO DE ZIKA VÍRUS EM GESTANTES EXANTEMÁTICAS: IDENTIFICAÇÃO DE POSITIVIDADE VIRAL PROLONGADA”**, em nível de **MESTRADO**, de autoria de **THAIS SANTANA DE OLIVEIRA**, discente do PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DA RELAÇÃO PARASITO-HOSPEDEIRO, da Universidade Federal de Goiás. A sessão foi aberta pela Orientadora, Profa. Dra. FABIOLA SOUZA FIACCADORI, que fez a apresentação formal dos membros da Banca e orientou a Candidata sobre como utilizar o tempo durante a apresentação de seu trabalho. A palavra a seguir, foi concedida à autora da dissertação que, em 30 minutos procedeu à apresentação de seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da Banca arguiu a Candidata, tendo-se adotado o sistema de diálogo sequencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se à avaliação da defesa. Tendo-se em vista o que consta na Resolução nº. 1492/2017 do Conselho de Ensino, Pesquisa, Extensão e Cultura (CEPEC), que regulamenta o Programa de Pós-Graduação em Biologia da Relação Parasito-Hospedeiro a Banca, em sessão secreta, expressou seu Julgamento, considerando a candidata **Aprovada ou Reprovada:**

Banca Examinadora

Aprovada / Reprovada

Profa. Dra. FABIOLA SOUZA FIACCADORI

Aprovada

Profa. Dra. MENIRA BORGES DE LIMA DIAS E SOUZA

Aprovada

Profa. Dra. MARCELLE FIGUEIRA MARQUES DA SILVA

faculdebio - aprovada

Em face do resultado obtido, a Banca Examinadora considerou a candidata Habilitada (**Habilitada ou não Habilitada**), cumprindo todos os requisitos para fins de obtenção do título de **MESTRE EM BIOLOGIA DA RELAÇÃO PARASITO-HOSPEDEIRO**, pela Universidade Federal de Goiás. Cumpridas as formalidades de pauta, às 16 h 40 min, a presidência da mesa encerrou esta sessão de defesa de dissertação e para constar eu, POLLYANA REZENDE AQUINO, secretária do Programa de Pós-Graduação em Biologia da Relação Parasito-Hospedeiro, lavrei a presente Ata que depois de lida e aprovada, será assinada pelos membros da Banca Examinadora e por mim em duas vias de igual teor.

A Banca Examinadora aprovou a seguinte alteração no título da Dissertação:

Profa. Dra. Fabíola Souza Fiaccadori (IPTSP/UFG)

Assinatura

Fiaccadori

Profa. Dra. Menira Borges de Lima Dias e Souza (IPTSP/UFG)

Menira

Profa. Dra. Marcelle Figueira Marques da Silva (IPTSP/UFG)

Marcelle

Secretário da Pós-Graduação:

Pollyana Rezende Aquino

**Programa de Pós-Graduação em Biologia da Relação Parasito-Hospedeiro
da Universidade Federal de Goiás**

BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Aluno (a): Thais Santana de Oliveira

Orientador (a): Profª Drª Fabíola Souza Fiaccadori

Membros:

1. Profª Drª Fabíola Souza Fiaccadori

2. Profª Drª Menira Borges de Lima Dias e Souza

3. Profª Drª Marcelle Figueira Marques da Silva

Data: 25/10/2018

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por permitir concluir mais essa etapa em minha vida, me mantendo forte e perseverante em todos os momentos difíceis.

Aos meus pais, Silvério Gomes e Carmezita Froes, por todo cuidado, carinho, amor e apoio nessa etapa tão importante.

Agradeço a minha irmã, Tatiane, pelo apoio e sacrifícios realizado em prol da minha conquista.

Aos familiares que me ajudaram nessa conquista, em especial, a tia Nilzete e a Naiane, pelo acolhimento e apoio nos momentos necessários.

Aos amigos e companheiros que fazem e fizeram parte do Laboratório de Virologia Humana, “minha galera da virologia” - Gabriela, Amanda, João Paulo, Paulo, Gessyka, Juliana, Izabela, Deborah, Pedro, Brunno, João Paulo Gomes e Thairiny, pelo apoio, amizade, companheirismo e ensinamentos. Vocês ajudaram a transformar essa caminhada mais leve e alegre.

À minha orientadora, Prof^ª Dr^ª Fabíola Souza, pela oportunidade concedida para este trabalho, pelo aprendizado e ensinamentos. Agradeço pela orientação durante todos esses anos, pela convivência diária. A senhora é um grande exemplo para mim, não apenas profissional, mas também como pessoa. Muito grata por ter feito parte da minha história.

As professoras do LabVICC, Prof^ª Dr^ª Marcelle e Prof^ª Dr^ª Menira, por todos ensinamentos, aprendizado e pela convivência. Vocês são grandes exemplos. Muito obrigada.

À professora Dr^ª Valéria Christina de Rezende Feres e Prof^ª Dr^ª Marília Dalva Turchi, pela valorosa contribuição científica desde a elaboração do projeto que deu origem a esta dissertação bem como a análise dos resultados. Muito obrigado.

À querida técnica do LabVicc, Dr^ª Fernanda, por todo aprendizado e convivência maravilhosa e principalmente pelos conselhos de positividade.

À Nathânia Dabilla, pela ajuda durante toda minha trajetória, companheira não apenas no laboratório, mas na vida. Obrigada pelos consolos e apoio nos momentos difíceis e complicados.

À Lucélia, companheira de mestrado, juntas enfrentamos diversos desafios. Obrigada por toda ajuda durante essa caminhada. Sei que aprendemos muito trabalhando juntas.

Ao meu companheiro, Lucas Eugênio, por todos esses anos juntos, permanecendo sempre ao meu lado, me apoiando e incentivando durante toda a trajetória. Pela compreensão, amor durante a realização dessa etapa.

À Fundação de Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia da Relação Parasito Hospedeiro (PPGBRPH) pela oportunidade.

SUMÁRIO

TABELAS, FIGURAS E ANEXOS	viii
SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS	ix
RESUMO.....	xi
ABSTRACT	xii
1 INTRODUÇÃO	1
1.1. Vírus Zika	1
1.1.1. Histórico	1
1.1.2. Contexto Atual.....	2
1.1.3. Classificação e Estrutura viral	3
1.1.4. Organização Proteica	6
1.1.4.1. Proteínas Estruturais.....	6
1.1.4.2. Proteínas Não Estruturais	7
1.1.5. Ciclo Replicativo	9
1.2. Vias de Transmissão ZIKV.....	10
1.2.1. Transmissão Vetorial.....	10
1.2.2. Transmissão Sexual	12
1.2.3. Transmissão Materno-Infantil	13
1.3. Infecção pelo ZIKV	14
1.3.1. Patogenia	14
1.3.2. Manifestações Clínicas	16
1.3.2.1. Síndrome Congênita do ZIKV	18
1.3.3. Diagnóstico Laboratorial	19
1.3.4. Tratamento e Prevenção	21
1.3.5. Epidemiologia.....	24
2 JUSTIFICATIVA	26
3 OBJETIVOS	27
4 METODOLOGIA.....	28
4.1. Delineamento e População do Estudo	28
4.2. Coleta e Processamento de amostras	30
4.3. Detecção Molecular	31
4.3.1. Extração do material genético	31
4.3.2. Detecção do material genético por RT-PCR em tempo real	31

4.4. Análise de Dados	32
5 RESULTADOS	33
5.1. Características da População de Estudo.....	33
5.2. Acompanhamento das Gestantes	35
6 DISCUSSÃO	39
7 CONCLUSÕES	45
REFERÊNCIAS	46
ANEXOS	65
Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética.....	65
Anexo 2 – TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	70
Anexo 3 – TALE –Termo de Assentimento Livre e Esclarecido.....	78

TABELAS, FIGURAS E ANEXOS

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Características da população de estudo e positividade para marcadores de infecção para o ZIKV (N=68).	34
------------------	---	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Estrutura dos <i>Flavivírus</i>	5
Figura 2.	Representação esquemática da organização do genoma do vírus Zika.	6
Figura 3.	Representação esquemática do ciclo de transmissão dos flavivírus.	12
Figura 4.	Fluxograma delineamento e população do estudo.	29
Figura 5.	Distribuição dos casos exantemático em relação ao período anual e frequência da positividade em cada período.	34
Figura 6.	Casos Positivos e Acompanhados com detecção viral prolongada.	36
Figura 7.	Distribuição do número de casos ZIKV positivos acompanhados em relação ao período gestacional e frequência dos casos de detecção prolongada.	37

LISTA DE QUADROS

Quadro 1.	Oligonucleotídeos e sonda utilizados para reação em cadeia pela polimerase pós transcrição reversa em tempo real	32
------------------	--	----

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1.	Parecer do Comitê Ética	65
Anexo 2.	TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.	70
Anexo 3.	TALE - Termo de Assentimento Livre e Esclarecido	78

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

Ae - Aedes

CDC - *Centers for Disease Control and Prevention*

CEP - Comitê de Ética

CHIKV - Chikungunya vírus

DNA - *Deoxyribonucleic acid* – ácido desoxirribonucléico

EDTA - Ácido etilenodiaminotetracético x

FAM - corante reporter 6-carboxifluoresceína

SGB - Síndrome de Guillian-Barré

HMI - Hospital Materno Infantil

ICTV - Comitê Internacional de Taxonomia Viral

IF - Imunofluorescência

IgG - Imunoglobulina G

IgM - Imunoglobulina M

IPTSP - Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública

JEV – *Japanese Encephalitis*- Vírus da Encefalite Japonesa

Kb - Quilobases

kDa - Quilodaltons

Kg - Quilogramas

L - litro

mL - Mililitro

MS - Ministério da Saúde

NCR - *Non Coding Region* - Região não codificante

nM - Nanômetro

nM - nanomolar

nº - número

NR - não realizado

NS - *Nonstructural Protein* – Proteína nãoestrutural

NT- Não testado

nt - nuclotídeo

NTPase - nucleosídeo trifosfatase

ORF - *Open Reading Frame* - Região de leitura aberta

Pb - Pares de bases

PCR - Reação em Cadeia da Polimerase

Pos - Positivos

RE - Retículo endoplasmático

RNA - acidoribonucléico

rpm - Rotações por minuto

RT-PCR - reação em cadeia pela polimerase pós-transcrição reversa

SCZ - Síndrome Congênita do Zika Vírus

TALE - Termo de Assentimento Livre e Esclarecido

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UFG - Universidade Federal de Goiás

WHO - *World Health Organization* – Organização Mundial de Saúde

WNV - *West Nile virus* – Vírus do Oeste do Nilo

YFV - *Yellow Fever viurs* – Vírus da Febre Amarela

ZIKV - Zika vírus

RESUMO

O Zika vírus (ZIKV) emergiu recentemente causando epidemias de impacto nas Américas, África e Ásia e, apesar da transmissão por vetores artrópodes, a transmissão sexual e materno-infantil já foram relatadas. A infecção durante a gestação tem sido associada a quadros de malformações congênitas, entre elas a microcefalia. Embora tenhamos avançado no estudo do ZIKV, ainda permanecem lacunas a respeito da patogenia desta infecção. O presente estudo objetivou investigar a ocorrência do ZIKV em casos de gestantes exantemáticas avaliando a detecção viral prolongada em amostras de urina e sangue. A população foi constituída por 68 gestantes, das quais 57 foram acompanhadas por meio de consultas periódicas, sendo coletadas amostras de sangue e/ou urina em cada consulta. Amostras foram submetidas a detecção do RNA-viral por RT-PCR em tempo real, utilizando o kit comercial, iniciadores e sonda específicos para região alvo a proteína estrutural E. Foi observada uma positividade para o ZIKV de 51,5% (35/68). A partir do acompanhamento, diferentes padrões de detecção viral prolongada no sangue e/ou urina foram identificados em 19,3% das gestantes. Em amostras de urina, o RNA viral foi detectado por até 147 dias após o início dos sintomas e no sangue por até 187 dias após o início do quadro exantemático. Entre as gestantes com perfil de detecção prolongada a maioria apresentou o quadro exantemático quando no primeiro e segundo trimestre gestacional. A detecção prolongada para ZIKV já foi relatada em outros espécimes clínicos embora muitos questionamentos permaneçam. Neste cenário, as informações obtidas no presente estudo contribuem para o conhecimento a respeito do processo da patogenia da infecção pelo Zika vírus em gestantes infectadas.

Palavras-chave: Zika vírus, detecção prolongada, gestante.

ABSTRACT

Zika virus (ZIKV) has recently emerged causing epidemics that impacted in the Americas, Africa and Asia and, despite transmission by arthropod vectors, sexual and maternal-child transmission have already been reported. Infection during pregnancy has been associated with congenital malformations, including microcephaly. Although we have advanced in ZIKV study, there are still gaps regarding the pathogenesis of this infection. The present study objected to investigate the occurrence of ZIKV in cases of exanthematic pregnant women evaluating prolonged viral detection in urine and blood samples. The population consisted of 68 pregnant women, of whom 57 were followed up through periodic consultations, and blood and/or urine samples were collected at each visit. Samples were subjected to detection of viral RNA by real-time RT-PCR using the commercial kit, primers and probe specific for the target region to structural protein E. Positivity rate of 51.5% for ZIKV was observed (35/68). The samples collected of follow up patients, different patterns of prolonged viral detection in the blood and/or urine were identified in 19.3% of pregnant women. In urine samples, viral RNA was detected up to 147 days after onset of symptoms and in the blood up to 187 days after the onset of rash. Among the pregnant women with prolonged detection profile, the majority presented the exanthematic episode at the first and second gestational trimester. Prolonged detection for ZIKV has been reported in other clinical specimens although many questions remain. In this scenario, the information obtained in the present study contributes to the knowledge about the process of the pathogenesis of Zika virus infection in infected pregnant women.

Keywords: Zika virus, prolonged detection, pregnant.

1 INTRODUÇÃO

1.1. Zika Vírus

1.1.1. Histórico

O Zika vírus (ZIKV) foi identificado durante uma pesquisa desenvolvida pelo *Yellow Fever Research Institute* em Entebbe (Uganda), no período de 1937-1947 (Dick et al. 1952). Na ocasião da pesquisa foram identificados 10 vírus diferentes, sendo dois deles previamente descritos, o vírus da Febre Amarela (*Yellow Fever – YFV*) e o vírus da Febre do Vale do Rift. Os demais vírus identificados receberam o nome da região geográfica onde foram inicialmente detectados: vírus do Oeste do Nilo (WNV) e vírus Bwamba em 1937, vírus da Floresta Semliki em 1942, vírus Bnyamwera e vírus Natya em 1943, vírus Mengo em 1946 e vírus Uganda S e ZIKV em 1947 (Dick 1952, Dick et al. 1952).

Durante o estudo, macacos sentinelas foram alocados em gaiolas suspensas na floresta de Zika e periodicamente o sangue dos mesmos era coletado e testado para identificação do YFV. Em um determinado período, um dos macacos sentinelas, Rhesus 766, apresentou um quadro febril, tendo sido coletada uma amostra sanguínea no terceiro dia do episódio, a qual foi inoculada intracerebralmente em camundongos e subcutâneamente em outro macaco sentinela, Rhesus 711 (Dick 1952). Os camundongos inoculados intracerebralmente apresentaram sinais de doença e, a investigação a partir do tecido dos animais revelou a presença de um agente filtrável, que posteriormente foi neutralizado por meio do soro convalescente do macaco Rhesus 766. Este agente filtrável foi identificado como Zika vírus estirpe 766 (ZIKV 766) (Dick et al. 1952, Weinbren et al. 1958). Em seguida no ano de 1948, a partir de *pool* de mosquitos *Aedes africanus* coletados na floresta de Zika, uma nova estirpe foi identificada, denominada ZIKV E/1 (Dick 1952).

O primeiro relato da ocorrência de ZIKV em humanos foi em 1952, quando Smithburn descreveu a presença de anticorpos neutralizantes em soros de pacientes na África Oriental (Smithburn 1952). No entanto, a confirmação do primeiro caso de infecção pelo ZIKV ocorreu em Uganda, descrito por Simpson no ano de 1964 (Simpson 1964). A primeira evidência do ZIKV fora do continente africano ocorreu em 1969, na Malásia, com a identificação e isolamento do vírus em mosquitos *Ae. Aegypti* (Marchette et al. 1969, Musso & Gluber 2016).

Demais evidências sorológicas de infecção em humanos também foram relatadas na Tanzânia (Smithburn 1952), Nigéria (Dick 1953), Egito (Smithburn et al. 1954), Índia (Smithburn et al. 1954a), Malásia (Smithburn 1954, Pond 1963), Filipinas (Hammon et al. 1958), Tailândia e Vietnã (Pond 1963). Entre os anos de 1964-1972 autores identificaram o vírus em espécimes de pacientes que apresentaram febre e erupções cutâneas (Simpson 1964; Filipe et al. 1973, Moore et al. 1975).

Em 1975, na Nigéria, um estudo realizado por Fagbami sugeriu a transmissão do vírus, identificando anticorpos neutralizantes contra o vírus em 40% da população analisada (Fagbami 1979). Em Java na Indonésia, foi descrito um pequeno surto de febre aguda associada ao ZIKV entre 1977 e 1978 e, a primeira epidemia confirmada ocorreu nas Ilhas Yap, na Micronésia em 2007 (Olson et al. 1981, Lanciotti et al. 2008).

Na epidemia descrita nas Ilhas Yap, no Estado da Micronésia no Pacífico, foi estimado que aproximadamente 75% da população tenha-se infectado com o vírus, porém não houve nenhum relato de manifestações clínicas graves. A epidemia foi caracterizada por uma doença semelhante à infecção pelo vírus dengue (DENV) com sinais como erupções cutâneas, febre e artralgia descritos nos primeiros meses do ano de 2007 (Lanciotti et al. 2008, Duffy et al. 2009).

1.1.2. Contexto Atual

Nenhuma outra epidemia foi identificada até 2013 quando na Polinésia Francesa foram registrados os primeiros casos, em um surto que afetou aproximadamente 11% da população (Besnard et al. 2014, Cao-Lormenau et al. 2014). A origem do ZIKV na Polinésia Francesa é desconhecida, entretanto resultados filogenéticos demonstrou que os isolados estavam relacionados com os isolados no estado de Yap (Duffy et al. 2009, Musso et al. 2014). Durante o surto na Polinésia Francesa ocorreram os primeiros registros de manifestação clínica grave associada a infecção pelo ZIKV, a síndrome de Guillian-Barré (Musso et al. 2014, Oehler et al. 2014, Musso et al. 2017).

No início do ano de 2014, a Polinésia Francesa registrou o primeiro caso de transmissão autóctone (Cao-Lormenau et al. 2014, Musso & Gluber 2015). No mesmo ano foram observados pequenos surtos no Pacífico Sul, na Nova Caledônia e nas Ilhas Cook. O primeiro caso nas Ilhas Cook, foi de um viajante que retornava da Polinésia Francesa (ECDC 2014, Dupont-Rouzeyrol et al. 2015, Musso & Gluber 2016). Também

em 2014, a Ilha de Pascoa registrou um surto de infecção pelo ZIKV, sendo sugerida a introdução pela Polinésia Francesa, baseada na semelhança entre as sequências do genoma viral dos isolados de ambas localidades. No mesmo ano foi confirmado o primeiro caso de transmissão autóctone na região (Tognarelli et al. 2015, WHO 2015).

No Brasil, ao final do ano de 2014 e início de 2015 foram registrados, em várias cidades na região Nordeste, relatos de uma doença exantemática clinicamente semelhante da infecção pelo DENV. No entanto, o primeiro caso confirmado de infecção pelo ZIKV ocorreu apenas no início de 2015, assim como o registro de caso autóctone, caracterizando o primeiro surto documentado no país (Dyer 2015, WHO 2015, Zanluca et al. 2015, Gatherer et al. 2016).

Outros estados brasileiros confirmaram transmissão autóctone do vírus, tais: Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Mato Grosso, Pará, Paraíba, Paraná, Pernambuco, Piauí, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte e São Paulo (WHO 2016). Especula-se que o torneio da Copa do Mundo da FIFA de 2014, um evento internacional de canoagem ou imigrantes do Haiti sejam os prováveis eventos que tenham levado a introdução do vírus no Brasil (Musso 2015, Salvador & Fujita 2015, Campos 2018).

Nesse mesmo ano, houve um aumento no número de casos notificados de microcefalia neonatal em algumas cidades do nordeste brasileiro (Campos et al. 2015, Souza et al. 2018). Em novembro de 2015, foram notificados 739 casos suspeitos de microcefalia em municípios da região Nordeste, nesse mesmo período, o Ministério da Saúde declara situação de Emergência em Saúde Pública de Importância Nacional (ESPIN) em decorrência da alteração do padrão da ocorrência de microcefalia em neonatos (Ministério da Saúde 2015a, Souza et al. 2016).

Ao final do ano de 2015, o Ministério da Saúde confirma a relação entre a microcefalia e a infecção pelo ZIKV, a partir da pesquisa desenvolvida pelo Grupo de Pesquisa da Epidemia da Microcefalia (MERG). A confirmação ocorreu com a detecção do RNA viral em amostras clínicas (sangue e tecido) de um recém-nascido com malformações congênitas (Ministério da Saúde 2015b, Araujo et al. 2016).

1.1.3. Classificação e Estrutura viral

O ZIKV é um arbovírus (*arthopode borne virus*) classificado na família *Flaviviridae*, a qual é constituída por quatro gêneros: *Flavivirus*, *Pestivirus* e *Hepacivirus*

e um pequeno gênero proposto recentemente o *Pegivirus* (ICTV 2017). Os vírus pertencentes a família *Flaviviridae* compartilham propriedades semelhantes como a estrutura do *vírion*, organização genômica e estratégia de replicação, porém possuem propriedades biológicas diversas (Lindenbach & Rice 2003, Haddow et al. 2012).

O gênero *Flavivirus* está dividido em três grupos com base no modo de transmissão: vírus transmitidos por carrapatos, vírus transmitidos por mosquitos e vírus sem vetor descrito. Atualmente composto por 53 espécies, muitas das quais são transmitidas por artrópodes e patogênicas para humanos (ICTV 2017), sendo as de maior interesse para a saúde pública: vírus Dengue (DENV), vírus da Febre Amarela (YFV) e o vírus do Oeste do Nilo (WNV) (Lindenbach & Rice 2003).

Estudos genéticos apontam que o ZIKV tem evoluído e atualmente possui duas linhagens: a linhagem africana e a linhagem asiática (Faye et al. 2014, Lanciotti et al. 2016). A linhagem africana se divide em dois grupos distintos, o primeiro grupo África Oriental incluindo o protótipo MR766 isolado na Uganda, o segundo grupo África Ocidental inclui as cepas isoladas na Nigéria e no Senegal (Dick 1952, Diallo et al. 2014, Faye et al. 2014, Wang et al. 2016).

A linhagem asiática inclui o protótipo isolado na Malásia em 1966 e os isolados no Camboja, Micronésia e Polinésia Francesa (Marchette et al. 1969, Lanciotti et al. 2008, Heang et al. 2012, Oelher et al. 2014). Dentro da linhagem asiática uma nova linhagem emergiu com a introdução do vírus no hemisfério ocidental, a linhagem americana, a qual inclui isolados no Brasil, Estados Unidos, Porto Rico e Haiti (Zanluca et al. 2015, Lanciotti et al. 2016, Mlakar et al. 2016, Thomas et al. 2016).

A partícula viral do ZIKV apresenta uma morfologia esférica é envelopada medindo aproximadamente 50 nanômetros (nm) de diâmetro. O *vírion* maduro é constituído por três proteínas estruturais, a proteína C (capsídeo), a glicoproteína E (envelope) e a proteína M (membrana), entretanto a partícula imatura, intracelular, apresenta o precursor da proteína M (prM) que é clivado durante a sua maturação (Figura 1) (Chambers et al. 1990, Stadler et al. 1997, Zhang et al. 2017). O envelope viral apresenta uma bicamada lipídica derivada da célula hospedeira onde estão incorporadas glicoproteína E e a proteína M, que circunda o nucleocapsídeo de simetria icosaédrica formado por cópias da proteína C e uma molécula do RNA genômico (Chambers et al. 1990, Kuno & Chang 2007, Lindenbach 2007).

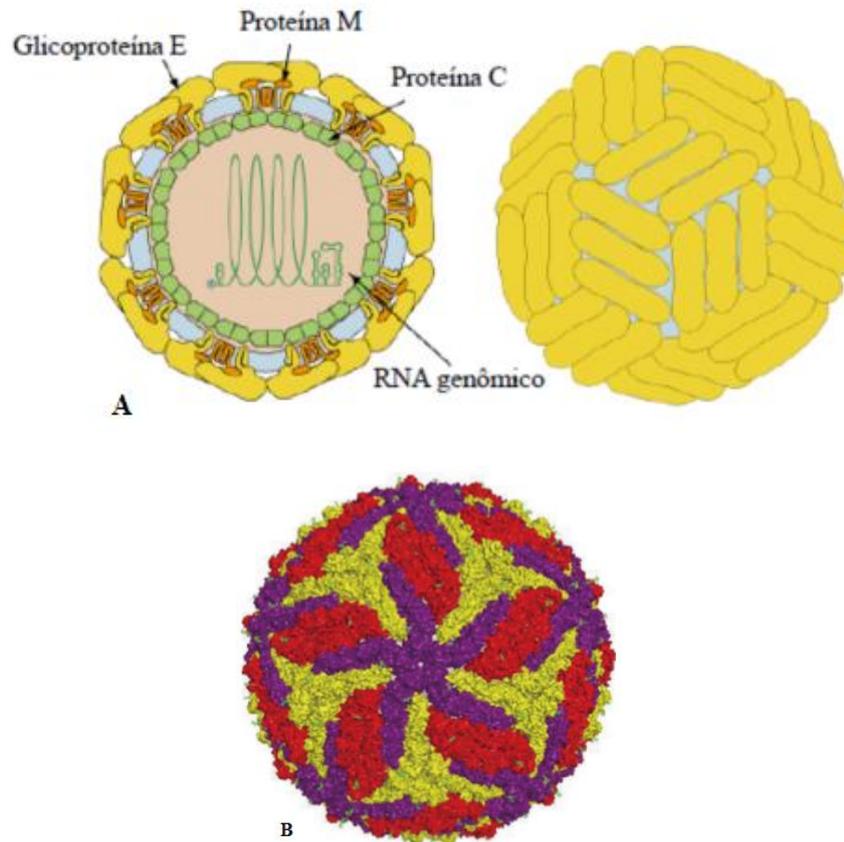


Figura 1. Estrutura dos *Flavivírus*. A) Representação esquemática da estrutura da partícula viral dos *Flavivírus*. Fonte: Viralzone 2016 com adaptação. B) Ilustração da partícula viral do Zika Vírus. (Blázquez et al. 2016 com adaptações). Disponível em < https://viralzone.expasy.org/24?outline=all_by_species>.

O genoma viral (Figura 2) é constituído por uma única molécula linear de RNA (ssRNA) polaridade positiva de aproximadamente 10,8 kilobases (kb). Compreende uma única região de leitura aberta (ORF – *Open Reading Frame*) flanqueada por duas regiões não-codificantes (5' e 3' NCR – *noncoding region*) (Lindenbach & Rice 2007, Faye et al. 2014, Yun et al. 2016, Shankar et al. 2017). A região 3' NCR contém 428 nucleotídeos (nt) enquanto a 5' NCR contém aproximadamente 106 nt e embora sem cauda poli (A), apresenta a região *cap* (m⁷GpppAmN), ambas desempenham um papel importante na tradução/replicação viral e são consideradas regiões conservadas entre as cepas de ZIKV (Kuno & Chang 2007, Ye et al. 2016, Yun et al. 2016, Zhu et al. 2016).

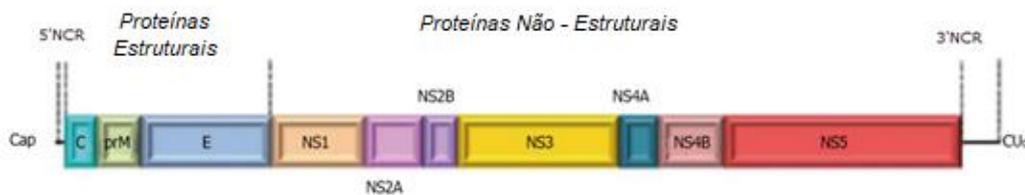


Figura 2. Representação esquemática da organização do genoma do vírus Zika. (Blázquez et al. 2016 com adaptações).

A ORF codifica uma poliproteína de aproximadamente 3400 aminoácidos (Figura 2) que posteriormente é clivada por proteases virais e celulares originando três proteínas estruturais (capsídeo, envelope e membrana) e sete proteínas não estruturais (NS1-NS5) (Saiz et al. 2016, Ye et al. 2016, Shankar et al. 2017). Conforme a estrutura de outros flavivírus, a codificação das proteínas está organizada na seguinte ordem: 5' – capsídeo (C) – pré-membrana (prM) – envelope (E) – NS1 – NS2a – NS2b – NS3 – NS4a – NS4b – NS5 – 3' (Yun et al. 2016).

OS GENES MAIS UTILIZADOS PARA DIAGNÓSTICO

1.1.4. Organização Proteica

1.1.4.1. Proteínas Estruturais

As proteínas estruturais do ZIKV apresentam semelhanças estrutural com as proteínas descritas para os demais vírus pertencentes ao gênero *Flavivírus*. A proteína C é uma proteína altamente básica com aproximadamente 12 kDa (quilodaltons) e constitui o capsídeo viral. Apresenta extremidades com resíduos hidrofílicos enquanto possui uma região interna hidrofóbica que está associada à membrana. O domínio hidrofóbico é clivado pela serina protease viral, a partir da proteína C madura, dobrando-se e compactando-se em dímeros, os quais se associam com o RNA viral formando o nucleocapsídeo (Chambers et al. 1990, Lindenbach & Rice 2007).

Participando da partícula viral madura, sendo processada durante a maturação, a proteína M apresenta um precursor, o prM de aproximadamente 26 kDa. Durante a via secretora ocorre a clivagem do precursor prM em duas frações: *pr* que será secretada e M que participará da estrutura viral. A principal função do precursor prM é evitar que a proteína E sofra rearranjos e alterações durante a via secretora (Nowak et al. 1989, Murray et al. 1993, Lindenbach et al. 2003).

A proteína de superfície, a proteína E (53 kDa), desempenha papel fundamental no processo de adsorção à célula hospedeira, fusão da membrana viral e montagem da partícula viral no fim do processo replicativo e assim, representa um alvo importante na indução de anticorpos neutralizantes (Lindenbach & Rice 2003, Harrison 2008, Zhang et al. 2017). A dimerização adequada, a estabilização em pH baixo e a secreção dessa proteína dependem da coexpressão com prM (Lindenbach & Rice 2003, Dasti et al. 2016).

A partícula viral madura é constituída por 180 cópias da proteína E, organizadas como 90 homodímeros antiparalelos em um padrão com simetria icosaédrica (Lindenbach & Rice 2003, Zhang et al. 2013). Cada monômero possui três domínios distintos: domínio I – DI, domínio II – DII e o domínio III – DIII (Heinz & Alisson 2003, White et al. 2010, Zhang et al. 2017). O domínio I está localizado na região N-terminal da proteína E, é predominantemente composto por epítomos não neutralizantes específicos, estabiliza a orientação geral da proteína E e participa das suas mudanças conformacionais. O domínio II é projetado ao longo da partícula viral, compreendendo uma região de dimerização onde está localizado o peptídeo de fusão que permite a adesão na membrana da célula alvo. O domínio III na porção C-terminal, está envolvido na ligação ao receptor celular (Heinz & Alisson 2003)

1.1.4.2. Proteínas Não Estruturais

As proteínas não-estruturais, como descrito para outros *Flavivírus*, desempenham funções importantes na replicação, montagem viral, clivagem da poliproteína e escape da resposta imune (Chambers et al. 1990, Lin et al. 2017).

A proteína NS1 (46 Kda) apresenta-se como um homodímero associado à membrana após ser translocada para dentro do retículo endoplasmático (RE) e desempenha um papel essencial na replicação viral. Também pode ser secretada pelas células infectadas como uma partícula lipoprotéica hexamérica (Westaway et al. 1997, Lindenbach et al. 2007, Muller & Young 2013). Acredita-se que NS1 secretada desempenha papel na evasão do sistema imune e interage com o sistema imune do hospedeiro (Young et al. 2000, Avirutnan et al. 2010). No entanto, o papel exato da NS1 na replicação viral não é bem descrito, acredita-se que desempenha um papel estrutural na ancoragem do complexo de replicação à membrana (Liu et al. 2006, Muller & Young 2013).

A estrutura da NS1 do ZIKV foi descrita por Song e colaboradores (2016), que sugeriram que tal proteína apresenta grande semelhança estrutural com as descritas para outros *Flavivírus*. Entretanto, descreveram algumas diferenças na interação com o hospedeiro, implicando que essas diferenças possam estar associadas aos diferentes perfis de patogênese dos *Flavivírus* (Song et al. 2016).

A proteína NS2a é uma pequena proteína hidrofóbica (22 Kda), resultante da clivagem NS1/NS2a por uma protease do RE não identificada ainda. Estudos sugerem que a NS2a desempenha função na montagem da partícula viral, participando do processo de empacotamento do RNA (Falgout & Markoff 1995, Liu et al. 2003, Lindenbach et al. 2007). A NS2b também considerada uma pequena proteína (14 KDa), associada à membrana, forma um complexo estável com a NS3 atuando como co-fator para a serina protease NS2b-NS3 (Lindenbach et al. 2007).

NS3 é uma grande proteína multifuncional (70 Kda), desenvolvendo diferentes atividades necessárias para o processamento da poliproteína. A proteína NS3 contém dois domínios, um domínio protease e um domínio helicase (Chambers et al. 1990, Lindenbach et al. 2007, Brand et al. 2017). A porção N-terminal é o domínio catalítico do complexo serina-protease que, para formar uma protease ativa é essencial um co-fator, a NS2b, formando assim a protease ativa NS2b-NS3, que clivará a poliproteína nas seguintes junções: NS2a/NS2b; NS2b/NS3; NS3/NS4a; NS4b/NS5 e a porção C-terminal da proteína do capsídeo (Chambers et al. 1991, Lin et al. 1993, Aleshin et al. 2007).

A porção C-terminal da NS3 é o domínio da helicase, dividido em três subdomínios e possuindo três atividades enzimáticas: RNA helicase, nucleosídeo trifosfatase (NTPase) e RNA trifosfatase (RTPase) (Wengler et al. 1993, Lindenbach & Rice 2003, Brand et al. 2017). Duas proteínas não-estruturais servem como co-fatores para o domínio da helicase, a NS4a e NS4b (Lindenbach & Rice 2003, Miller et al. 2006).

NS4a é uma pequena proteína hidrofóbica (16 Kda), apresenta interação com NS1. O seu papel é descrito nos complexos replicativos. A NS4b também considerada uma pequena proteína hidrofóbica (27 Kda) é apresentada como proteína de membrana (Lindenbach et al. 2007).

NS5 é a maior proteína multifuncional e altamente conservada (103 KDa), apresenta atividades de metiltransferase (MTase) e de RNA polimerase dependente de RNA (RdRp). A região N-terminal possui homologia com a *MTase* dependente de S-

adenosil-metionina (SAM), sugerindo que esta proteína está envolvida na modificação do *cap 5'* por meio da metilação (Lindenbach et al. 2007, Zhao et al. 2017).

1.1.5. Ciclo Replicativo

O ciclo replicativo do ZIKV ainda não está bem estabelecido, sendo o conhecimento extrapolado das informações dos demais vírus do gênero *Flavivirus*. O ZIKV pode infectar uma ampla diversidade de células e tecidos. Experimentalmente, foi demonstrada a capacidade de replicação em células do intestino médio e das glândulas salivares de diversos mosquitos do gênero *Aedes*, e também células de mamíferos tais como, células dendríticas, células neurais e macrófagos (Li et al. 2012; Saiz et al. 2016; Yun & Lee 2017).

A replicação inicia-se com a adesão viral à superfície celular, que ocorre por meio da ligação do vírus aos receptores da superfície da célula hospedeira, são descritos até o momento: DC-SIGN (molécula de adesão intercelular específica de células dendríticas não-integrina), AXL, TYRO 3 e TIM-1 (Hamel et al. 2015, Persaud et al. 2018).

Após a adsorção, a partícula viral é endocitada em vesículas endocíticas (endossoma), processo que ocorre mediado por clatrin. As partículas virais internalizadas se fundem com a membrana do endossoma, essa fusão ocorre devido ao baixo pH que provoca alterações conformacionais na glicoproteína E, expondo o epítipo que desencadeia a fusão (de Paula et al. 2016, Saiz et al. 2016, Shankar et al. 2017). Em seguida, o RNA genômico é liberado no citoplasma da célula hospedeira, onde funciona como um RNA mensageiro (RNAm,) que em associação ao retículo endoplasmático (RE) e por meio de ribossomos celulares é traduzido em uma poliproteína (Lindenbach et al. 2007, Lee et al. 2018).

A poliproteína é clivada por proteases celulares e virais resultando em proteínas estruturais e não-estruturais (NS). Todas as proteínas não-estruturais estão relacionadas diretamente ou indiretamente com a replicação viral do RNA (Yun e Lee 2006, Lindenbach et al. 2007, Olganier et al. 2016).

Após a tradução inicial as moléculas de RNA viral servem como molde para a síntese de umas fitas complementares RNA (RNAc) de polaridade negativa, as quais serão utilizadas como molde para a produção de novas fitas de RNA polaridade positiva que serão traduzidas em proteínas ou envelopadas. Todo o processo de replicação viral

ocorre nos complexos de replicação viral, que são compartimentos intracelulares associados à membrana localizados junto ao retículo endoplasmático (Yun & Lee 2017, Lee et al. 2018).

A montagem das partículas virais ocorre no RE, onde as unidades estruturais compostas por cópias da proteína C em associação ao RNA genômico interagem e formam o nucleocapsídeo, o qual irá adquirir o envelope pelo processo de brotamento, através do lúmen do RE. Os estágios posteriores da maturação viral incluem a clivagem da prM e a modificação da glicoproteína E, que acontece no percurso da via secretora para o complexo de Golgi (Mukhopadhyay et al. 2005, Lindenbach et al. 2007).

A clivagem não específica do prM impede a mudança conformacional na glicoproteína E durante o transporte, essa mudança é essencial para gerar partículas virais infecciosas. O transporte destas partículas até a membrana plasmática é realizado via vesículas que se fundem à membrana sendo as partículas maduras liberadas por exocitose (Zhang et al. 2004, Pierson & Diamond 2012, Yun & Lee 2017).

1.2. Vias de Transmissão ZIKV

1.2.1. Transmissão Vetorial

A transmissão natural do ZIKV, conforme descrito para outras arboviroses, ocorre por vetores artrópodes, principalmente os mosquitos do gênero *Aedes* (*Ae.*) (Diagne et al. 2015, Dasti et al. 2016, Dick 1952). O vírus foi identificado primeiramente em um pool de mosquitos *Ae. africanus* em 1948 por Dick e colaboradores (1952), e posteriormente foi isolado em mosquitos *Ae. aegypti* na Malásia em 1966 (Dick et al. 1952, Marchette et al. 1969, Musso & Gluber 2016, Saiz et al. 2016). Em 2007, o vírus foi identificado em um pool de mosquitos *Ae. Albopictus*, na África Central, sendo descrito como o responsável pelo surto em Gabão (Grard et al. 2014).

Estudos relataram a detecção do vírus em outras espécies de *Aedes*, incluindo: *Ae. furcifer*, *Ae. luteocephalus*, *Ae. africanus*, *Ae. taylori*, *Ae. dalzieli*, *Ae. hensili*. No entanto, os principais mosquitos vetores para a transmissão do ZIKV descritos são o *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* (Diallo et al. 2014, Ledermann et al. 2014, Diagne et al. 2015, Wang et al. 2016, Tham et al. 2018).

O *Ae. aegypti* originou-se na África, sua forma ancestral era um mosquito zoofílico chamado *Ae. aegypti formosus*. Acredita-se que sua forma domesticada, *Ae.*

aegypti, que se encontra em associação com habitats urbanos nas regiões subtropical e tropical, é geneticamente distinta com distribuições geográficas diferentes (Brown et al. 2014, Kraemer et al. 2015). O *Ae. albopictus* é uma espécie zoofílica originária da Ásia, de onde se espalhou para as Ilhas no Oceano Índico e Pacífico (Delatte et al. 2009, Brown et al. 2014).

Atualmente ambas espécies apresentam ampla distribuição geográfica, sendo encontradas na Ásia, Oceania, nas Américas, no sul da Europa e na África (Musso & Gluber 2015). O aumento dessa dispersão vetorial é resultado de vários mecanismos, entre eles a expansão geográfica mediada pelo transporte humano, globalização, o desmatamento, o crescimento da população humana e o aquecimento global (Weaver & Reisen 2010, Saiz et al. 2015, Kraemer et al. 2015). Tanto o *Ae. albopictus* quanto *Ae. aegypti* possuem hábitos diurnos e as fêmeas se alimentam de sangue, entretanto o *Ae. albopictus* diferentemente do *Ae. aegypti* pode sobreviver em regiões com temperaturas mais baixas (Thomas et al. 2012, Paupy et al. 2009, Saiz et al. 2016).

A circulação do ZIKV foi documentada em dois ciclos de transmissão: o ciclo enzoótico/silvestre, onde o vírus circula entre mosquitos *Aedes* spp e primatas não-humanos; e o ciclo humano (urbano/suburbano) entre humanos e mosquitos *Aedes* spp. domésticos, principalmente o *Ae. aegypti* (Dick et al. 1952, Haddock et al. 1964, Pettersen et al. 2016).

O ciclo inicia com o repasto sanguíneo feito pelas fêmeas em um hospedeiro em fase de viremia (Figura 3). Após o repasto sanguíneo, o vírus passa por um período de incubação extrínseco, que é determinado pelo intervalo entre o repasto sanguíneo e a capacidade do mosquito de transmitir o vírus a um hospedeiro susceptível. Ainda não é bem descrito o período de incubação extrínseco para o vírus ZIKV, acredita-se que segue o mesmo dos demais arbovírus, onde após o repasto o vírus passa por um período de incubação de oito a 12 dias, infectando células do intestino médio, intestino grosso e em seguida glândulas salivares (Gould et al. 1962, Tham et al. 2018). Nesta fase, o mosquito se torna apto a transmitir o vírus para um hospedeiro susceptível no momento de um novo repasto sanguíneo, quando, após a picada, tem início o período de incubação intrínseco no hospedeiro infectado, que dura entre três a 14 dias (Gubler 1998, Wang et al. 2000).

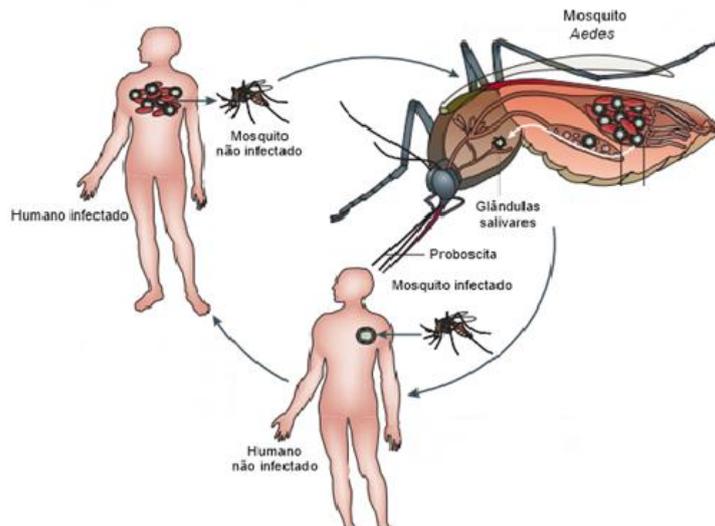


Figura 3. Representação esquemática do ciclo de transmissão dos flavivírus. (Guzman et al. 2016 – modificado).

1.2.2. Transmissão Sexual

A transmissão sexual do ZIKV foi inicialmente proposta por Foy e colaboradores (2008). Em 2008, um cientista americano que realizava um trabalho de campo no Senegal apresentou sintomas compatíveis com a infecção por ZIKV após retornar aos Estados Unidos. Após curto prazo do retorno do cientista, sua esposa apresentou sintomas de uma doença febril semelhante. Ambos pacientes foram diagnosticados com infecção por ZIKV por testes sorológicos. A transmissão sexual foi sugerida após o relato da esposa, que não apresentava histórico de viagens recentes para fora do seu país e que manteve relações sexuais com seu esposo sem fazer o uso de preservativos após seu regresso (Foy et al. 2008).

O primeiro relato de potencial transmissão sexual do ZIKV foi descrito no ano de 2013, quando um paciente com febre baixa, artralgia e hematoespermia apresentou positividade para o RNA viral nas amostras de sêmen e urina, no entanto a amostra de sangue foi negativa. Uma alíquota do sêmen foi inoculada em cultura demonstrando replicação do vírus sugerindo que tal replicação possa ter ocorrido no trato genital (Musso et al. 2015b).

Posteriormente, outros estudos relataram a transmissão sexual do vírus, principalmente de homens para mulheres parceiras (Musso et al. 2013, Atkinson et al. 2016, Harrower et al. 2016, Hills et al. 2016) mas também com relatos de transmissão

sexual entre homens (Deckard et al. 2016, Basile et al. 2017). No estudo desenvolvido por Prisant e colaboradores (2016) a presença do RNA viral foi detectado em amostra de esfregaço genital, mucocervical e endocervical de uma paciente que apresentava os sintomas: erupção maculopapular, febre e conjuntivite, característicos de uma infecção por um arbovírus. Embora não tenha sido analisada a infecciosidade das partículas virais encontradas na região genital, foi sugerida possível transmissão sexual de mulheres para homens (Prisant et al. 2016). Recentemente houve relato de caso único de transmissão sexual mulher para homem em Nova York nos Estados Unidos, neste caso a transmissão ocorreu pelo fluido vaginal e/ou sangue após a relação sexual. O relato foi confirmado pela presença do RNA viral por meio da RT-PCR em tempo real (reação em cadeia pela polimerase pós-transcrição reversa em tempo real) (Davidson et al. 2016; Basile et al. 2017).

A detecção prolongada do RNA viral em amostras de sêmen reforça o alto potencial de transmissão sexual. Relatos apontam a detecção do material genético viral em amostras de sêmen após 188 dias de início dos sintomas (Nicastri et al. 2016, Paz-Bailey et al. 2017). Assim a Organização Mundial de Saúde (OMS) e o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC- *Centers for Disease Control and Prevention*) divulgaram recomendações para a prevenção em relação a transmissão sexual. Orientando que mulheres e homens que estiveram em regiões consideradas endêmicas para casos de ZIKV, ficando expostos à infecção, que aguardem seis meses após a manifestação ou não dos sintomas para a concepção. Orienta-se também que mulheres grávidas mantenham relações com preservativos afim de se evitar a infecção (CDC 2016, OMS 2016a).

1.2.3. Transmissão Materno-Infantil

A transmissão materno-infantil do ZIKV pode ocorrer por via placentária ou por transmissão perinatal, ou seja, durante o parto. Casos de transmissão perinatal foram descritos para outros tipos de arbovírus, entre eles: DENV, WNV e CHIKV (Tan et al. 2008, Stewart et al. 2013). A transmissão materno-infantil também foi relatada em infecções pelo CHIKV e DENV o que acarretou em consequências graves como encefalopatia para a infecção pelo CHIKV e parto prematuro para infecção pelo DENV (Fritel et al. 2006, Basurko et al. 2009, Gerardin et al. 2014). Para o ZIKV, a transmissão perinatal foi descrita no ano de 2014 na Polinésia Francesa durante um surto, onde

Besnard e colaboradores relataram dois casos de mulheres gestantes que apresentaram infecção por ZIKV no final da gestação, ambas apresentaram positividade para o ZIKV por testes moleculares. Nos dois casos, em um curto período após o parto, foi identificada positividade para o vírus nos recém-nascidos, os quais apresentaram apenas manifestação de erupção cutânea (Besnard et al. 2014).

A transmissão vertical, via placentária, foi confirmada no final do ano de 2015, no Brasil, a partir da observação de casos de malformações severas em neonatos de mulheres com relato de quadro exantemático durante a gravidez, no período do surto no Nordeste brasileiro (PAHO 2015, Araujo et al. 2016, Musso & Gluber 2016, Basile et al. 2017). Estudos investigaram os casos microcefálicos e identificaram o RNA viral no líquido amniótico, placenta, amostras de sangue e tecido dos recém-nascidos microcefálicos de mães com infecção por ZIKV (Oliveira et al. 2015, Calvet et al. 2016, Musso & Gluber 2016, Mlakar et al. 2016, Basile et al. 2017).

Acredita-se que a transmissão do vírus ao feto ocorra pela via transplacentárias, atravessando a barreira placentária mediado por anticorpos não neutralizantes, visto que as células primárias da placenta humana foram susceptíveis à infecção pelo ZIKV e vias paraplacentárias ou direta (Adibi et al. 2016, Quicke et al. 2016, Tabata et al. 2016).

Estudos também detectaram a presença do RNA viral no leite materno de mães que apresentaram quadro exantemático e foram positivas para a infecção, no entanto, não foi comprovada a transmissibilidade do vírus através do leite materno (Besnard et al. 2014, Dupont-Rouzeyrol et al. 2016, Sotelo et al. 2017). Devido a ausência de estudos que comprovam a transmissão viral via amamentação e considerando os benefícios que a amamentação acarreta aos recém-nascidos, a OMS recomenda que, mulheres que tiveram a suspeita ou infecção confirmada pelo ZIKV durante gestante, não suspendam a amamentação (WHO 2016).

1.3. Infecção pelo ZIKV

1.3.1. Patogenia

A patogenia do ZIKV não está totalmente esclarecida, com o objetivo de melhorar a compreensão da mesma, estudos utilizando modelos animais e células *in vitro* vêm sendo desenvolvidos (Lazear et al. 2016, Musso & Gluber 2016, Krause et al. 2017). Modelos primatas não humanos são utilizados para a compreensão da patogenia na

infecção fetal devido às semelhanças com os humanos na gestação e no desenvolvimento fetal (Krause et al. 2017). Macacos Rhesus infectados pelo ZIKV apresentaram a viremia e o quadro febril entre dois a seis dias após infecção e o vírus pôde ser detectado em vários espécimes como: urina, líquido cefalorraquidiano, saliva e em diversos órgãos incluindo o trato urinário (Dudley et al. 2016, Li et al. 2016).

Como referido, a principal via de transmissão do ZIKV é através da picada do mosquito infectado durante o repasto sanguíneo, o qual inocula vírus na derme e epiderme (Hamel et al. 2015, Abushouk et al. 2016). Estudos relataram que as células dentrídicas, fibroblastos dérmicos e queratinócitos são células susceptíveis e permissíveis ao vírus, permitindo que ocorra a replicação viral no local da infecção, seguindo disseminação para os nódulos linfáticos e a corrente sanguínea, instalando-se o período de viremia (Lim et al. 2011, Hamel et al. 2015, Musso & Gluber 2016).

A entrada do vírus nas células do hospedeiro ocorre por meio de endocitose dependente de clatrina, que é resultante da interação da proteína E com receptores da superfície celular (Smit et al. 2011, Li et al. 2016, Lee et al. 2018). Vários receptores foram descritos para a entrada do ZIKV, incluindo AXL, TYRO 3, DC-SIGN e TIM-1 (Hamel et al. 2015, Persaud et al. 2018). Os receptores AXL, TYRO -3 e DC-SIGN foram descritos inicialmente para a entrada do vírus nas células da pele por Hamel et al. (2015). Posteriormente, foi demonstrado que o receptor AXL, pertencente à família de receptores TAM (proteínas tirosina-quinase), é um importante alvo de ligação do vírus, visto que o mesmo é expresso em diversos tipos celulares incluindo células gliais, astrócitos, micróglia e células progenitoras neurais demonstrando o neurotropismo viral (Nowakowski et al. 2016, Meertens et al. 2017, Hamel et al. 2016).

Estudos *in vitro* utilizando células progenitoras neurais e organoides cerebrais demonstraram que a infecção pelo ZIKV ocasiona uma inflamação seguida de redução da proliferação e morte celular (Quicke et al. 2016). O estudo desenvolvido por Tang et al. em 2016, forneceu a primeira evidência que as células neurais (células progenitoras corticais neurais) são susceptíveis a infecção do vírus. Cugola et al. (2016), demonstrou que o vírus infecta células progenitoras corticais humanas, reduzindo as zonas proliferativas, induzindo morte celular por apoptose e autofagia, prejudicando o desenvolvimento neurológico.

A patogenia da infecção congênita ainda não está bem elucidada, porém estudos afirmam que a placenta é susceptível a infecção pelo vírus (Miner et al. 2016). As células

primárias da placenta humana como células epiteliais amnióticas, células endoteliais do cordão umbilical, células Hofbauer (macrófagos placentários) e citotrofoblasto (CTBs) são permissíveis a replicação viral (Quicke et al. 2016, Tabata et al. 2016). Estudo desenvolvido com modelos animais prenhas demonstrou a infecção da placenta, que ocasionou dano à barreira placentária resultando em restrição do crescimento intrauterino e morte fetal (Miner et al. 2016).

Devido ao alto grau de semelhança estrutural entre os vírus DENV e ZIKV, os anticorpos produzidos para estes *Flavivírus* podem reagir de forma cruzada (Charles & Christofferson 2016, Stetler et al. 2016, Miner & Diamond 2017). O fenômeno conhecido como ADE (*antibody dependent enhancement –ADE*), que caracteriza a facilitação da penetração viral em macrófagos mediada por anticorpos, está bem estabelecida em casos de infecção secundária por DENV com um sorotipo heterólogo (Kliks et al. 1988).

A partir deste conhecimento e considerando a existência de reatividade cruzada para anticorpos induzidos nas infecções por ZIKV e DENV, estudos *in vitro* demonstraram que infecções prévias pelo DENV induziram maior replicação do ZIKV e que infecções prévias pelo ZIKV induziram maior replicação do DENV. Estudos *in vivo*, demonstraram que soro imunes pelo ZIKV exacerbaram a gravidade da doença em camundongos quando infectados por DENV e nos estudos em primatas não humanos, a viremia por DENV foi aumentada por soro imunes ao ZIKV (Dejnirattisai et al. 2016, George et al. 2017, Kawircki et al. 2016, Priyamvada et al. 2016, Stettler et al. 2016). Entretanto, estudos realizados em camundongos previamente imunes ao DENV, não relataram nenhum efeito após infecção pelo ZIKV e nos estudos com primatas não humanos com infecção prévia por DENV não foi descrita qualquer alteração na patogenia ou viremia (Pantoja et al. 2016, McCracken et al. 2017).

1.3.2. Manifestações Clínicas

Nas infecções pelo ZIKV, menos de 20% dos indivíduos infectados apresentam evolução clínica com manifestação de sintomas, o que dificulta o diagnóstico. O período de incubação sugerido é de três a 12 dias seguido por um período com o aparecimento de sintomas inespecíficos (Duff et al. 2009, Musso et al. 2014, Dasti et al. 2016, Staples et al. 2016).

Durante o episódio sintomático os sintomas mais comuns são: febre leve, presença de erupção maculopapular, dores de cabeça, dor retro-orbital, edema das extremidades, conjuntivite, mialgia e artralgia (Hamel et al. 2016, Dasti et al. 2016). A erupção maculopapular está presente em mais de 80% dos pacientes sintomáticos, sendo o principal sintoma clínico que caracteriza a infecção pelo ZIKV, geralmente pruriginosa e tem disseminação centrípeta com resolução espontânea após quatro dias. O ZIKV não foi descrito como associação a quadros de febre hemorrágica ou com evolução para o óbito como observado na infecção por DENV (Simpson 1954, Fauci & Morens 2016, Hamel et al. 2016, Basile et al. 2017).

Em comparação com a infecção por DENV, a febre apresenta temperaturas mais baixas (37,5°C - 38°C), embora em casos no Brasil tenham sido observadas temperaturas mais elevadas (39 °C) (Zanluca et al. 2015). As dores musculares e articulares são menos intensas que nas infecções pelo CHIKV e geralmente afetam as mãos, joelhos e as articulações do tornozelo. A conjuntivite foi frequentemente descrita e na maioria dos casos não purulenta (Duff et al. 2009, Cao-Lormenau et al. 2014). Outras manifestações inespecíficas podem ocorrer incluindo náuseas, vômitos e tonturas (Olson et al. 1981, Pinto-Júnior et al. 2015).

Na Polinésia Francesa, durante um surto foram relatados os primeiros casos de pacientes sintomáticos para a infecção por ZIKV com sintomas da Síndrome de Guillian-Barré (GBS). Outros estudos também demonstraram esta síndrome em paciente com ZIKV, entretanto a relação direta da infecção com a síndrome não está bem estabelecida (Oehler et al. 2013, Abushouk et al. 2016, Plourde & Bloch 2016, WHO 2016). Sequelas não neurológicas foram observadas em pacientes com a infecção do ZIKV, incluindo perda auditiva transitória, hipotensão e hematospérmia (Musso et al. 2015, Plourde & Bloch 2016).

Complicações neurológicas como: microcefalia, atrofia cerebral, aumento ventricular, calcificações intracranianas, anormalidades oculares e auditivas foram descritas para neonatos que foram expostos a infecção pelo ZIKV durante a gestação, resultantes da transmissão materno-infantil. Essas anormalidades foram denominadas como Síndrome Congênita do ZIKV (SCZ) (Besnard et al. 2013, Mlakar et al. 2015, Ventura et al. 2016, Oliveira et al. 2016).

1.3.2.1. Síndrome Congênita do ZIKV

A Síndrome Congênita do Zika Vírus (SCZ), é atribuída as anormalidades ao conjunto de complicações neurológicas tardias ou não ocorridas em neonatos que foram expostos à infecção por ZIKV durante a gestação. As características clínicas da síndrome são consequências de danos neurológicos diretos. Além do quadro mais frequentemente identificado, a microcefalia congênita, outras manifestações incluindo desproporção craniofacial, convulsões, problemas de deglutição, contraturas de membros, anormalidades auditivas e oculares, hipoplasia do tronco cerebral e ventriculomegalia têm sido relatadas em neonatos com SCZ (Culjat et al. 2016, Ministério da Saúde – MS 2017, Miranda-Filho et al. 2016, PAHO 2016,).

São descritas outras infecções congênitas que podem levar à danos neurológicos severos, comumente denominada STORCH (sífilis, toxoplasmose, rubéola, citomegalovírus e herpes vírus). Dados sugerem que a infecção pelo ZIKV não causa a hepatoesplenomegalia nem petéquias ou púrpuras como no caso de infecções pelo vírus da Rubéola e o Vírus Herpes simplex, no entanto, as calcificações presentes nas infecções por Citomegalovírus e Toxoplasmose se assemelham as calcificações presentes na infecção pelo ZIKV (Neu et al. 2015, Miranda-Filho et al. 2016, Moore et al. 2018).

A microcefalia congênita é uma condição descritiva, uma anomalia onde a circunferência frontal occipital da cabeça do recém-nascido fica abaixo da circunferência normal para a idade gestacional, sexo e etnia. O tamanho reduzido é o resultado de uma desordem do desenvolvimento neurológico, que ocorre quando o cérebro fetal não desenvolve normalmente o tamanho, resultando no fechamento de suturas que compõem o crânio prematuramente (ECDC 2015). São varias etiologias que tem relação com a microcefalia entre elas: mutações genéticas herdadas, lesões cerebrais devido a drogas teratogênicas, toxinas, síndrome do álcool fetal, doenças metabólicas, desnutrição materna, deficiência de folato materna e infecções (STORCH) (ECDC 2015).

A relação entre a infecção por ZIKV e anormalidades neurológicas no feto, incluindo a microcefalia, foi estabelecida no final do ano de 2015, com a confirmação da detecção do genoma viral em amostras de líquido amniótico coletados de duas gestantes com neonatos microcefálicos no nordeste brasileiro. Ambas as gestantes relataram sintomas compatíveis com a infecção por ZIKV no início da gestação (Brasil - MS 2015).

Posteriormente, o RNA viral foi detectado no tecido cerebral, líquido amniótico e placenta de fetos microcefálicos, cujas mães apresentaram infecção ou sintomas

compatíveis entre o primeiro e segundo trimestre de gestação (Calvet et al. 2016, Mlakar et al. 2016). No estudo de Bhatnagar (2017), é reportada a replicação e persistência viral no cérebro e placenta de crianças natimortas microcefálicas associando diretamente a microcefalia com a infecção por ZIKV.

Dados apontam que casos de mulheres que apresentam sintomas compatíveis à infecção por ZIKV nos primeiros meses de gestações apresentaram maior associação aos casos de anormalidades congênitas fetais severas (Noronha et al. 2016, Sheridan et al. 2017, Zanluca et al. 2018). Concluiu-se que as células gestacionais iniciais, incluindo células da placenta, são mais susceptíveis a infecção pelo ZIKV em comparação com os meses finais da gestação (Tabata et al. 2016, Weisblum et al. 2017). As infecções intrauterinas que ocorram em um estágio avançado da gestação em geral apresentam formas menos graves como problemas de sucção e surdez (Besnard et al. 2016, Chan et al. 2016, Moghadam et al. 2016).

Ventura (2016) descreveu achados oculares envolvendo a região macular de três crianças com microcefalia após o surto no Brasil. Foram descritos achados oculares em neonatos expostos à infecção por ZIKV na gestação, anomalias estruturais, calcificações intraoculares, manchas pigmentares focais na retina e atrofia/anomalias do nervo óptico. A patogênese de como ocorre a infecção ocular ainda não está descrita (Calvet et al. 2016, de Paula Freias et al. 2016, Oliveira et al. 2016, Ventura et al. 2016b).

1.3.3. Diagnóstico Laboratorial

Em regiões endêmicas para ZIKV e outras arboviroses como DENV e CHIKV, o diagnóstico baseado na avaliação clínica torna-se difícil pela similaridade de sintomas, fazendo-se necessária a confirmação com o diagnóstico laboratorial (Roth et al. 2014; Basile et al. 2015, Wang et al. 2016). Assim, para o diagnóstico laboratorial são recomendados o isolamento viral, técnicas moleculares e sorologia para detecção de anticorpos específicos (Long et al. 2016, Sharma et al. 2017). Embora estudos tenham relatado a detecção do RNA viral em diferentes espécimes clínicos como saliva, leite materno e semên (Gourinat et al. 2015, Harrower et al. 2016, Nicastri et al. 2016, Sotelo et al. 2017), para a realização dessas técnicas, os espécimes clínicos utilizados e recomendados são sangue total, soro/plasma e urina (CDC 2016, Lazear et al. 2016, Basile et al. 2017).

De acordo com o observado em outras arboviroses, a viremia do ZIKV inicia-se com o aparecimento dos sintomas, podendo permanecer por sete dias (Musso et al. 2014). Na urina, a virúria tem sido descrita para o ZIKV sendo indicada a detecção do material genético por um período de até oito dias após o início dos sintomas (Gourinat et al. 2016, Paiz-Bailey et al. 2017). No período de viremia e virúria, são recomendadas as técnicas de isolamento viral e/ou testes moleculares (reação em cadeia pela polimerase pós transcrição reversa - RT-PCR) para a detecção de antígenos virais ou RNA viral.

O isolamento viral é considerado o padrão ouro para detecção e identificação de infecções virais. Para o isolamento viral são utilizados métodos de inoculação em ovos embrionários e culturas celulares, tais como as linhagens células Vero, *Rhesus Monkey Kidney* (LLC-MK2) e C6/36 (Digoutte et al. 1992, Alera et al. 2012). O vírus foi cultivado com sucesso a partir de amostras de sangue humano, sêmen e urina (Cao-Lormenau et al. 2014, Fonseca et al. 2014, Musso et al. 2015). A técnica costuma não ser de fácil execução sendo necessários laboratórios especializados e profissionais qualificados, assim não apresenta muita aplicabilidade no diagnóstico de rotina, embora constitua importante ferramenta na determinação de infecciosidade e caracterização de variantes virais (Dick 1952, Musso & Gluber 2015).

O diagnóstico molecular consiste na pesquisa do ácido nucleico viral, uma ferramenta mais específica e sensível. As principais técnicas realizadas são: reação em cadeia pela polimerase pós-transcrição (RT-PCR) e a RT-PCR - em tempo real, sendo está mais sensível e específica. As principais regiões alvo utilizadas nas técnicas de amplificação são os genes que codificam a proteína E, NS1, NS3 e a NS5, tais regiões são consideradas mais conservadas entre todos os genótipos do ZIKV (Lanciotti et al. 2008, Faye et al. 2014, Cao-Lormenau et al. 2015, Plourde & Bloch 2016, Basile et al. 2017).

Considerando a identificação do material em outros espécimes clínicos, foi observado em alguns casos padrão diferenciado de detecção viral prolongada. Para estes casos, a detecção prolongada foi estabelecida como a identificação do material genético por mais de oito dias após o início dos sintomas. Como Gourinat e colaboradores (2015), em seu estudo relata a detecção prolongada do vírus na urina por até 20 dias após o início dos sintomas. No sêmen, Oliveira Souto et al. (2016) relataram a persistência viral por 188 dias após o início dos sintomas (Oliveira Souto et al. 2016).

Após cinco dias do início dos sintomas, a resposta imune pode ser observada, indicando-se a utilização de testes sorológicos para detecção de anticorpos específicos contra o ZIKV (CDC 2016). O diagnóstico sorológico é baseado na detecção de anticorpos específicos de classe M ou G (IgM e IgG), induzidos pela infecção. A detecção de anticorpos específicos pode ser realizada pela técnica de ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), sendo possível detectar anticorpos IgM podendo durar até três meses, entretanto anticorpos IgG são detectados após o IgM na soroconversão podendo durar por alguns meses a anos (Hayes et al. 2009, Shama & Lal 2017).

Entretanto, o diagnóstico sorológico apresenta reatividade cruzada com outros flavivírus, particularmente o DENV (Van Meer et al. 2017). O teste de neutralização de redução de placa (*PRNT - Plaque Reduction Neutralization Test*) é utilizado para a titulação de anticorpos neutralizantes específicos para o vírus. Constitui alternativa na confirmação da possibilidade de reações cruzadas em testes sorológicos. Considerado padrão-ouro para diagnóstico sorológico de infecções por flavivírus, no entanto sua aplicação à laboratórios de rotina clínica apresenta dificuldades em razão do tempo que leva para obter resultados e a necessidade de laboratórios equipados e técnicos qualificados. A técnica baseia-se na interação específica entre o vírus e os anticorpos, que posteriormente demonstra inibição da infecciosidade viral por uma redução na ligação do vírus às células em cultivo (Lanciotti et al. 2008, Maeda et al. 2012, Rabe et al. 2016).

A OMS recomenda a realização de testes moleculares (RT-PCR), para pacientes em fase aguda, no prazo de até sete dias após o início dos sintomas. Amostras de urinas podem ser utilizadas para testes moleculares podendo ser coletadas até oito dias após o início dos sintomas. Períodos superiores a sete dias de sintomas, recomenda-se a realização dos testes sorológicos, se atentando ao diagnóstico diferencial em áreas endêmicas para outras arboviroses, evitando assim possibilidades de reações cruzadas (WHO 2016).

1.3.4. Tratamento e Prevenção

Até o momento não existe indicação de medicação terapêutica ou preventiva para o ZIKV. Não há o conhecimento de antivirais específicos ou vacinas contra a infecção pelo ZIKV (Pinto-Júnior et al. 2015, Musso & Gluber 2015).

O tratamento tem indicação para minimizar a sintomatologia, sendo utilizados analgésicos e antipiréticos para febre, dores e erupção cutânea, porém devem ser utilizados com cautela, a fim de evitar efeitos adversos, incluindo hepatopatia e nefropatia. Recomenda-se também reidratação adequada em função da possibilidade de perda de fluídos (Pinto-Júnior et al. 2015, Pettersen et al. 2016).

O ácido acetilsalicílico e antiinflamatórios não esteroides devem ter o uso evitado devido ao risco aumentado de síndrome hemorrágica como descrito para outros flavivírus (Musso & Gluber 2015, Chang et al. 2016). Possíveis complicações neurológicas especialmente a Síndrome de Guillian-Barré, deve ser diagnosticada para o acompanhamento médico e tratamento efetivo com imunoglobulinas intravenosas ou plasmáferese.

Em casos de infecção em gestantes, o MS definiu um protocolo de acompanhamento para gestantes e recém-nascidos que foram confirmados com infecção por ZIKV. Durante a gestação, após a confirmação laboratorial da infecção, todas as gestantes devem ser acompanhadas durante o pré-natal para investigações de anormalidades neurológicas fetais. Após o parto, o soro deve ser coletado do cordão umbilical ou diretamente do recém-nascido dentro 48 horas para o diagnóstico (Pettersen et al. 2016, Staples et al. 2016).

Os recém-nascidos devem fazer o exame físico completo incluindo: medida da circunferência occipitofrontal, comprimento e peso, avaliação de anormalidades neurológicas, características dismórficas, hepatoesplenomegalia, erupção cutânea, lesões oftalmológicas e defeitos auditivos (Staples et al. 2016). Seguindo o protocolo do MS, recém-nascidos que apresentarem microcefalia confirmada por infecção congênita por ZIKV devem ser acompanhados pela Atenção Básica de Saúde (MS-2017).

As recomendações da Organização Mundial de Saúde e do *Center for Disease Control and Prevention* –CDC para a prevenção do ZIKV são divididas em: prevenção contra o vetor transmissor, prevenção durante a gravidez e prevenção da transmissão sexual (CDC 2016).

Para evitar o risco de transmissão via vetor transmissor, é indicado o uso de camisas e calças longas, o uso do repelente, proteção de telas nas janelas. Com o risco de transmissão sexual, aconselha-se o uso de preservativos masculinos e femininos durante as relações, prevenção em sexo anal e não compartilhar instrumentos sexuais. Mulheres

que desejam engravidar ou grávidas devem ser consideradas as mesmas orientações para evitar a transmissão sexual (CDC 2016).

O maior risco e a maior preocupação de infecção por ZIKV são as mulheres gestantes, pois como já visto o ZIKV pode ser transmitido por via vertical. Devido aos desfechos graves para os fetos, as gestantes devem seguir rigorosamente as orientações para evitar picada do mosquito e da transmissão sexual (CDC 2016).

Em decorrência dos surtos de infecção por ZIKV e a recente associação do vírus aos casos de microcefalia, a Organização Mundial de Saúde propôs o desenvolvimento de vacinas como prioridade (WHO 2017). Embora atualmente não existam vacinas disponíveis contra o ZIKV aprovadas, mais de 50 candidatas a vacina do ZIKV estão em vários estágios de pesquisa e desenvolvimento, e outras candidatas estão em diferentes fases de ensaios clínicos, incluindo vacinas de vírus inativados, vacinas recombinantes, vacinas de DNA e mRNA e uma vacina de peptídeo (Tripp & Ross 2016, Beaver et al. 2018, Lin et al. 2018).

Em modelos animais primatas não-humanos e camundongos, várias estratégias de vacinas foram consideradas protetivas, incluindo, vacinas de DNA, vacinas de RNA, vacinas de vírus atenuado, vacinas de vírus inativados e partículas virais (Dowd et al. 2016, Boigard et al. 2017, Chahal et al. 2017, Sumathy et al. 2017). No estudo de Richner e colaboradores (2017), observou-se proteção da transmissão vertical do ZIKV ao feto em camundongos gestantes com vacinas de mRNA encapsuladas em nanopartículas lipídicas e vírus atenuado (Richner et al. 2017).

Outras estratégias são as vacinas de plasmídeos de DNA e vacinas de vírus atenuados, no entanto, essas vacinas apresentaram ser menos imunogênicas quando comparadas as vacinas de vírus atenuados (Culshaw et al, 2018, Diamond et al. 2018). Entretanto, em um estudo a vacina inativada demonstrou conferir a proteção contra a infecção pelo ZIKV em camundongos BALB/c e macacos Rhesus (Abbink et al. 2016, Larocca et al. 2016).

Entre as preocupações no desenvolvimento de vacinas seguras e eficazes, está a pergunta se as vacinas atenuadas poderão ser utilizadas em mulheres gestantes e indivíduos imunocomprometidos, bem como análise da reatividade cruzada entre o ZIKV e outros flavivírus, como exemplo DENV (Priyamvada et al. 2017, Culshaw et al. 2018).

1.3.5. Epidemiologia

Como já descrito, o primeiro surto registrado do ZIKV ocorreu em 2007, nas Ilhas Yap na Micronésia. Estudos estimaram que em um período de quatro meses, 73% da população foi infectada, com o maior percentual de pacientes assintomáticos (Lanciotti et al. 2008, Musso & Gluber 2015, Hamel et al. 2016). Não foram registrados outros surtos de infecção pelo ZIKV até 2014, onde foram registrados surtos na Polinésia Francesa, Ilhas Cook, e Ilha de Pascoa (Cao-Lormenau et al. 2014, ECDC 2014, Tognarelli et al. 2014, Musso & Gluber 2015)

Nas Américas, casos autóctones vêm sendo registrados desde 2014. No Brasil o primeiro registro de caso autóctone ocorreu em 2015, na região nordeste, o que marcou o primeiro surto documentado no país e nas Américas (Zanluca et al. 2015, WHO 2015). Ao final do ano de 2015 vários outros estados brasileiros confirmaram transmissão autóctone do vírus como: Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Mato Grosso, Pará, Paraíba, Paraná, Pernambuco, Piauí, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte e São Paulo (WHO 2015).

No início de 2016, o Ministério da Saúde por meio da Portaria 204, determinou a notificação compulsória para casos suspeitos de infecção por ZIKV, no caso de gestante, a notificação deverá ser realizada no prazo de 24 horas (Brasil – MS 2016c). Até o início de 2016, a maioria dos casos no Brasil de infecção pelo ZIKV foram relatados no estado da Bahia (Faria et al. 2016).

No ano de 2017 foram registrados mais de 17 mil casos prováveis de doença pelo ZIKV no país, demonstrando uma redução quando comparada ao mesmo período do ano de 2016, que foram registrados mais de 200 mil casos prováveis (Boletim Epidemiológico – MS 2016, 2017). Até setembro de 2018, mais de sete mil casos prováveis de doença pelo ZIKV foram registrados no país, destes 41,5% foram confirmados, clínica ou laboratorialmente. A região Sudeste apresentou o maior número de casos registrados com 37,9%, seguida pela região Nordeste com 25,1% (Boletim Epidemiológico –MS 2018).

Desde o início da ESPIN, em 2015 até maio de 2018 foram notificados mais de 16 mil casos suspeitos de alterações no crescimento e desenvolvimento relacionados à infecção congênita por ZIKV. A maioria das notificações concentra-se no Nordeste do país (59,7%) seguida da região Sudeste e Centro – Oeste, com 24,7% e 7,3% respectivamente. No ano de 2015 foram notificados mais de quatro mil casos com confirmação clínico/laboratorial de 23,4%, considerando o mesmo período, o ano de 2016

registrou um aumento no número de casos notificados com 22,2% de casos confirmados clínico/laboratorial, a partir de oito mil casos notificados. Entretanto, no ano de 2017 houve uma importante redução no número de casos notificados (dois mil), assim com o percentual de confirmados (11,3%). Até momento, setembro de 2018, foram notificados 977 casos (Boletim Epidemiológico – MS 2018b).

Os primeiros casos de doença pelo vírus ZIKV no município de Goiânia foram registrados em setembro de 2015 e ao final do ano foram notificados 67 casos prováveis de ZIKV. No ano de 2017, foram notificados mais de dois mil casos prováveis, e até o segundo semestre de 2018 notou-se uma redução nos casos notificados comparado aos anos anteriores seguindo o mesmo padrão em relação ao país. Sendo notificados 500 casos prováveis de doença pelo ZIKV até o momento (Goiânia 2017). Em gestantes, no ano de 2016, 334 gestantes foram confirmadas para a infecção pelo ZIKV, o que representou um aumento em relação ao ano anterior. No ano de 2017 houve uma redução importante, em que foram confirmados 43 casos (Goiânia 2018).

2 JUSTIFICATIVA

A infecção pelo ZIKV está entre as doenças emergentes do século XXI, sendo considerada como uma das maiores preocupações para saúde pública mundial. Constitui um arbovírus e assim, possui transmissão associada a vetores artrópodes, embora transmissão sexual e materno-infantil tenha sido descrita. Apresenta um quadro clínico semelhante ao descrito para as demais arboviroses, no entanto complicações graves tem sido descrita para infecção, entre elas a Síndrome de Guillian-Barré e a Síndrome Congênita do ZIKV.

A Síndrome Congênita do ZIKV é atribuída as anormalidades e complicações neurológicas tardias em neonatos que foram expostos ao ZIKV durante a gestação. Estudos detectaram a presença de antígenos virais em tecidos fetais e demonstraram a replicação ativa nestes, entretanto, a patogenia dessa infecção ainda não está bem elucidada.

O RNA viral já foi detectado em diferentes espécimes clínicos de indivíduos com suspeita de infecção por ZIKV, como saliva, sêmen, urina e leite materno. Adicionalmente, casos com padrão diferenciado de detecção prolongada do material genético viral foram observados nestes espécimes, com destaque para casos ocorridos em população gestante.

Embora muito se tenha avançado no conhecimento a respeito de diferentes aspectos relacionados à patogenia da infecção pelo ZIKV, muitas lacunas e incertezas permanecem. Neste contexto, o desenvolvimento de estudos adicionais considerando diferentes aspectos do agente viral e da infecção, bem como o monitoramento de casos, tornam-se necessários para uma melhor compreensão dos fatores associados à SCZ.

A região centro-oeste é considerada uma região endêmica para diferentes arbovírus e com alta infestação do vetor associado a estas infecções. Ademais, a região metropolitana de Goiânia apresenta uma das mais elevadas incidências de dengue do Brasil e, desde a confirmação dos primeiros casos de infecção por ZIKV, o município apresentou altos índices de casos prováveis para infecção por este agente (Goiânia 2017). Assim, apresenta um cenário privilegiado para o desenvolvimento da presente investigação, a qual visa contribuir para a construção do conhecimento a respeito do processo da patogenia da infecção pelo ZIKV em gestantes infectadas.

3 OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Investigar e acompanhar os casos de infecção pelo ZIKV em gestantes com doença exantemática, no período de janeiro de 2017 a junho de 2018, atendida em unidades de saúde de Goiânia, Goiás.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Pesquisar o RNA do ZIKV em amostras de sangue e urina em população de gestantes com doença exantemática;
- Avaliar a detecção viral prolongada em amostras clínicas das gestantes positivas para o ZIKV;
- Avaliar os padrões de detecção viral prolongada identificados em relação aos diferentes espécimes clínicos investigados;
- Identificar fatores associados aos casos de detecção viral prolongada.

4 METODOLOGIA

4.1. Delineamento e População do Estudo

Este estudo faz parte de um projeto intitulado “Aspectos epidemiológicos, clínicos, virológicos e imunológicos da infecção pelo Zika vírus em Goiás”. O referido projeto foi delineado como uma coorte de gestantes com infecção sintomática pelo ZIKV, residentes no município de Goiânia. A coorte foi definida considerando os casos de gestantes com doença exantemática compatível com infecção pelo ZIKV, atendidas pela Rede Pública de Saúde do Município de Goiânia e notificadas no Sistema de Notificação de Agravos (SINAN-Goiás), a partir de dezembro de 2015, com previsão de conclusão em 2020.

O presente estudo foi delineado como uma série de casos de gestantes com sintomas clínicos compatíveis com a infecção pelo ZIKV, notificadas no SINAN, entre janeiro de 2017 e junho de 2018. Além dos casos notificados, também foram convidadas a participar do estudo, gestantes com doença exantemática aguda atendidas no Hospital Materno Infantil (HMI) da Secretaria de Estado da Saúde de Goiás, sendo inclusas aquelas das quais tenha sido possível obter dados e amostra clínica. Foram excluídas as gestantes incapazes de dar o consentimento informado ou casos de mulheres que apresentaram condições clínicas/obstétricas que constituíssem algum risco ou impedimento para participação na pesquisa, acompanhamento ou coleta de espécime clínico.

O projeto foi apresentado à gestante por membros da equipe do estudo, incluindo o esclarecimento sobre coleta de dados e espécimes clínicos, bem como o protocolo de acompanhamento realizado durante a gestação até o momento do parto. O aceite da gestante foi obtido mediante a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE – Anexo 2) pela própria gestante ou, para aquelas com idade inferior a 18 anos, assinatura de seu responsável legal no TCLE, bem como da própria gestante no Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE – Anexo 3).

De forma esquemática (Figura 4), a identificação das gestantes potencialmente elegíveis para o estudo se deu a partir dos casos atendidos no setor de pronto-atendimento do HMI e dos casos registrados pelo SINAN. Na primeira situação, as gestantes eram identificadas na vigência de quadro exantemático compatível com infecção pelo ZIKV (Fase exantemática/aguda), sendo convidadas para participar no estudo. Outra condição

estabelecida, foi a identificação de prováveis casos elegíveis por meio do levantamento dos casos notificados pelo sistema de vigilância. Nestas situações, a abordagem à gestante foi realizada em período posterior à apresentação dos sintomas (Fase tardia), por contato telefônico, durante o qual a gestante era convidada para uma consulta com obstetra membro da equipe do projeto. Nesta ocasião, era realizada a apresentação do projeto e possível recrutamento da mesma como participante do estudo para posterior coleta de amostra.

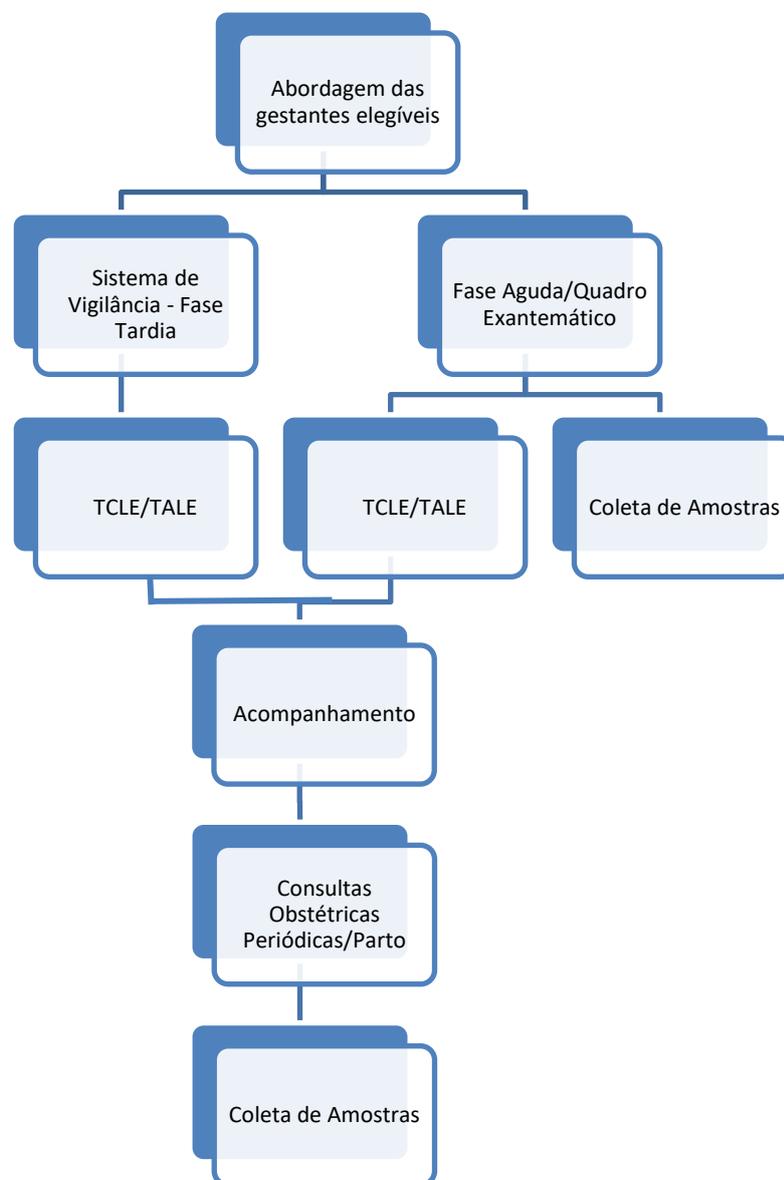


Figura 4. Fluxograma delineamento e população do estudo.

Após concordância e inclusão da gestante no estudo, estas eram encaminhadas ao acompanhamento por meio do agendamento de consultas, realizadas por médica obstetra membro da equipe do projeto, conforme a solicitação clínica e disponibilidade da gestante. Este acompanhamento estendeu-se desde o recrutamento da gestante, por meio da notificação ou pelo quadro exantemático, até o momento do parto. Em cada consulta de acompanhamento era solicitada a coleta de amostras de sangue e urina, conforme concordância das gestantes.

O estudo foi submetido à avaliação e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Goiás, com o número do protocolo (CAAE 64534017.7.0000.5083) (Anexo 1). Foi conduzido seguindo as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos definidas pela Resolução 466/12.

4.2. Coleta e Processamento de amostras

No momento do recrutamento e a cada consulta de acompanhamento foram coletadas amostras de sangue e/ou urina das gestantes participantes. A coleta de sangue foi realizada por profissionais qualificados na unidade de saúde, sendo coletados 10 mL de sangue por punção venosa em tubos de coleta contendo anticoagulante ácido etilenodiaminotetracético – EDTA. A coleta da urina foi realizada na unidade de saúde pela própria gestante participante do estudo, em tubos coletores estéreis por micção direta, fornecidos pela equipe do estudo. No momento do parto, quando possível o acesso na unidade de saúde que estava sendo realizado o parto, foram coletadas amostras de sangue das gestantes.

As amostras coletadas foram conservadas em tubos e coletores identificados corretamente e encaminhadas ao Laboratório de Virologia e Cultivo Celular do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás (LabViCC/IPTSP/UFG) para o processamento e adequado armazenamento em freezer -80°C, até a realização dos ensaios moleculares.

O processamento para as amostras de sangue consistiu na centrifugação a 1.500 rpm por 10 minutos à 4°C a fim de obter a separação da massa eritrocitária do plasma. Após a centrifugação, o plasma foi alíquotado, em aproximadamente 500 µL, e armazenado em criotubo a -80°C até a realização dos testes moleculares. O

processamento das amostras de urina consistiu em uma centrifugação a 4.000 rpm por quatro minutos, em seguida, o sobrenadante foi aliquoteado, aproximadamente 1 mL, e armazenado em criotubos à -80°C até a realização dos testes moleculares.

Para os casos em que o recrutamento ocorreu por meio do levantamento de notificações no Sistema de Vigilância, e assim, posterior ao quadro exantemático, para estes casos, os resultados laboratoriais referentes às amostras da fase aguda foram obtidos por meio da consulta ao sistema Gerenciador de Ambiente de Laboratório (GAL). Este sistema consiste em uma plataforma de dados alimentados com os resultados dos exames laboratoriais desenvolvidos pela rede de saúde pública do país, como aqueles realizados pelo Laboratório Estadual de Saúde Pública Dr. Giovanni Cysneiros (LACEN-GO).

4.3. Detecção Molecular

4.3.1. Extração do material genético

A extração do RNA viral foi realizada para as amostras plasma e urina. O RNA viral foi extraído utilizando kit comercial QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen®), seguindo instruções do fabricante.

Brevemente, a extração foi realizada a partir de 140 µL da amostra (urina e sangue) pipetados em um microtubo contendo RNA carreador e tampão AVL, fornecido pelo kit, seguindo homogeneização em vórtex e incubação por 10 minutos à temperatura ambiente. Após incubação e adição de 560 µL de Etanol 100%, o conteúdo do microtubo foi transferido para uma mini-coluna fornecida pelo kit. Posteriormente, foram realizadas duas lavagens utilizando tampões fornecidos pelo kit (AW1 e AW2) e, ao final do procedimento de lavagem, o material extraído foi eluído em tampão AVE, obtendo um produto final de 60 µL. O produto de extração foi armazenado em freezer -80°C até os procedimentos moleculares.

4.3.2. Detecção do material genético por RT-PCR em tempo real

As amostras extraídas foram triadas por RT-PCR em tempo real (RT-qPCR), utilizando iniciadores e sonda descritos por Lanciotti et al. 2008 (Quadro 1) para a região alvo a proteína E.

Para a reação foi utilizado o Kit comercial Path-ID multiplex One-Step RT-qPCR (Applied Biosystems – Carlsbad, CA, USA). O volume final da reação foi de 20 µL, e o

sistema foi constituído por 2,5 µL de material extraído, 10 µL de Multiplex RT-PCR buffer, 2 µL de Multiplex Enzyme Mix, 100 nM de cada iniciador, 200 nM de sonda TaqMan e água Nuclease Free fornecida pelo kit para completar o volume.

A reação foi processada no aparelho Rotor-Gene® Q 5plex HRM System (Qiagen®), seguindo o seguinte protocolo de ciclagem: a transcrição reversa ocorreu em apenas um ciclo de 48°C por 10 minutos para ativação da transcriptase reversa e 95°C por 15 minutos para a inativação da mesma. Posteriormente a amplificação ocorreu em 45 ciclos de: 95°C por 15 segundos e 60°C por um minuto. Conforme descrito na literatura foi estabelecido como limite de detecção – *Cycle Threshold* – $CT \leq 38,50$, para considerar resultados positivos de detecção de ZIKV (Lanciotti et al. 2008).

Quadro 1: Oligonucleotídeos e sonda utilizados para reação em cadeia pela polimerase pós transcrição reversa em tempo real (Lanciotti et al. 2008).

Oligonucleotídeo	Sequência (5' – 3')	Posição no genoma
ZIKV 1086	CCGCTGCCCAACACAAG	1086 - 1102
ZIKV 1162c	CCACTAACGTTCTTTTGCAGACAT	1162 - 1139
ZIKV 1107 – FAM	AGCCTACCTTGACAAGCAGTCAGACACTCAA	1107 - 1137

4.4. Análise de Dados

Foi elaborado um arquivo eletrônico contendo os dados provenientes da população de estudo, obtidos pelo banco de dados secundários em cima dos quais foram utilizados para análise com o auxílio do programa Epi-Info 2000 for win.

5 RESULTADOS

5.1. Características da População de Estudo

Sessenta e oito gestantes preencheram os critérios de inclusão e aceitaram participar do estudo. O recrutamento de casos elegíveis para possível inclusão no estudo no momento das manifestações clínicas, considerada assim fase exantemática/aguda, ocorreu em 23,5% (16/68) dos casos. Desta forma, a maioria das participantes do estudo, 76,5% (52/68) foi identificada por meio dos registros do SINAN, constituindo assim, momento posterior ao episódio exantemático, considerada fase tardia da infecção.

O maior número de gestantes estava na faixa etária de 20 a 29 anos 44,1% (30/68) e 1,5% (1/68) da população do estudo representava a faixa etária entre 40 –49 anos (Tabela 1). Considerando o período gestacional, a maioria das mulheres participantes apresentaram as manifestações clínicas características do quadro exantemático no primeiro trimestre gestacional 39,7% (27/68). Em 4,4% (3/68) da população estudada não foi possível obter informações sobre a idade gestacional no momento da apresentação dos sintomas.

Do total de casos investigados, foi observada uma taxa global de positividade para infecção pelo ZIKV de 51,5% (35/68). A maioria destes casos foi identificada por meio da investigação molecular (85,7% - 30/35). Em cinco casos, a positividade foi definida pela detecção do marcador sorológico IgM, de acordo com os registros do SINAN para aquelas gestantes que foram recrutadas na fase tardia. A realização do teste sorológico está estabelecida pelo protocolo do MS, o qual determina a realização de sorologia para casos de amostras coletadas após cinco dias do início do quadro exantemático.

Análise da positividade em relação a faixa etária demonstrou maior frequência 60% (5/15) em gestantes entre 20 a 29 anos, embora o resultado não tenha sido estatisticamente significativo. De acordo com a idade gestacional em que ocorreu o quadro exantemático, maior frequência foi observada entre gestantes quando no primeiro trimestre gestacional 55,5% (15/27), não apresentando relevância estatística. Entretanto, em 33,3% (1/3) na população estudada não foi possível obter as informações sobre a idade gestacional

Tabela 1: Características da população de estudo e positividade para marcadores de infecção para o ZIKV (N=68).

Características	N	(%)	Positivos/Total (%)	Valor p
Faixa etária				
15 – 19 anos	15	22	5/15 (22,7)	
20 – 29 anos	30	44,1	18/30 (60)	>0,05
30 – 39 anos	22	32,4	9/22 (41)	
40 – 49 anos	1	1,5	0	
Período Gestacional				
1º Trimestre	27	39,7	15/27 (55,5)	
2º Trimestre	17	25	9/17 (53)	>0,05
3º Trimestre	21	30,9	7/21 (33,3)	
Si	3	4,4	1/3 (33,3)	
Período				
2017	43	63,2	29/43 (67,4)	0,0005
2018	25	36,8	6/25 (24)	

Si – Sem Informação.

Considerando o ano em que ocorreu a manifestação do quadro exantemático, foi identificado uma maior taxa de positividade no ano de 2017 em relação ao ano de 2018, resultado ao qual foi estatisticamente significativo ($p < 0,05$). Analisando o período do ano de 2017 (Figura 5), observamos que o segundo trimestre, compreendendo os meses de abril, maio e junho, apresentou frequência dos casos (89,4%) significativamente maior ($p < 0,05$) em relação aos demais períodos avaliados.

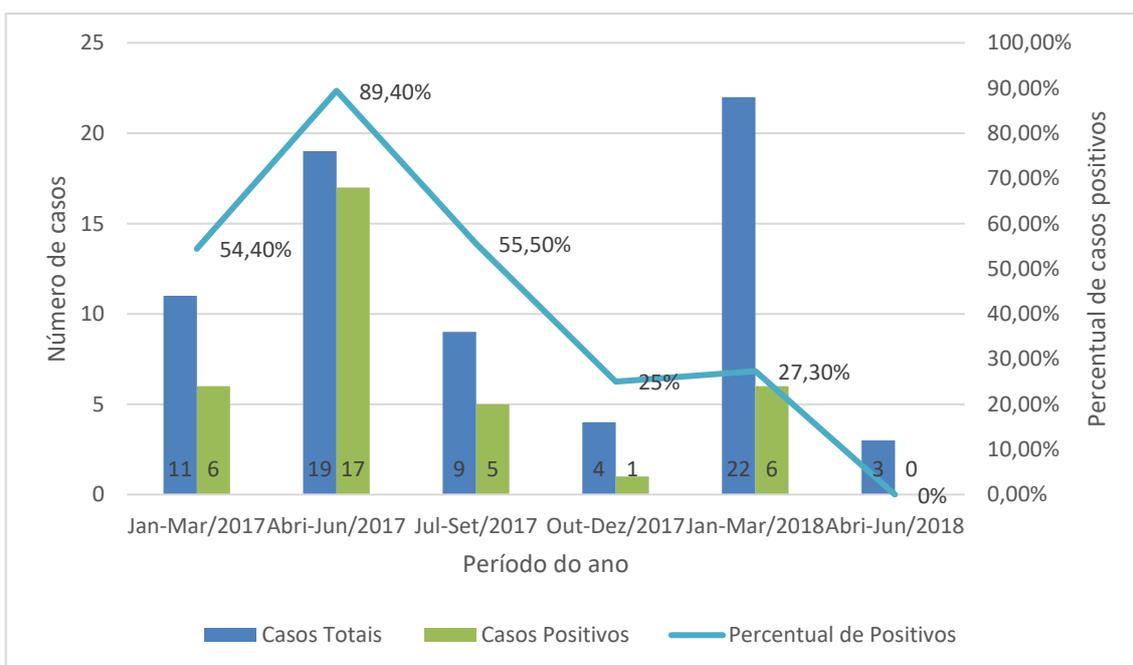


Figura 5. Distribuição dos casos exantemático em relação ao período anual e frequência da positividade em cada período. (N=68).

5.2. Acompanhamento das Gestantes

A partir dos 68 casos de gestantes participantes no estudo, o acompanhamento por meio da realização de consultas periódicas obstétricas foi estabelecido para 57 (83,9%) gestantes, das quais, 34 (59,6%) foram positivas para a infecção pelo ZIKV. Considerando as gestantes em acompanhamento, 43,9% (25/57) apresentaram o quadro exantemático durante o primeiro trimestre gestacional, em 26,3% (15/57) e 28% (16/57) a sintomatologia ocorreu no segundo e terceiro trimestres, respectivamente. Para um caso em acompanhamento não foi possível obter esta informação (1,8%).

O agendamento das consultas foi realizado conforme o período gestacional e recomendações clínicas, seguindo padrão mensal, quinzenal ou semanal, entretanto, a participação das gestantes era voluntária e assim, nem todas realizaram o protocolo estabelecido de agendamento, não sendo possível obter um padrão nas datas de coleta. Desta forma, nos 57 casos de acompanhamento foi realizada pelo menos uma consulta após o quadro exantemático, coincidindo ou não com o momento do parto, nas quais era realizada a coleta de uma amostra sanguínea e/ou urina.

De acordo com o estabelecido para consideração de detecção prolongada, a partir da investigação molecular nas amostras clínicas coletadas durante o acompanhamento das gestantes, identificamos a ocorrência de detecção prolongada em 19,3% (11/57). Foram observados diferentes padrões, entretanto, o número de coletas nos casos de detecção prolongada foi variável. Em cinco casos foram realizadas três consultas, em dois duas consultas e em quatro casos foi realizada apenas uma consulta. Em todas as consultas procederam-se a coleta de amostras de sangue e/ou urina.

Os padrões de detecção viral prolongada foram divididos em dois grupos (Figura 6): casos com detecção prolongada inferior a cem dias a data do início dos sintomas (5/11) e casos com detecção prolongada superior a cem dias a data do início dos sintomas (6/11). Entre os casos com padrão de detecção prolongada inferior a cem dias (Figuras 6a), em dois destes (Caso 4 e Caso 5) a detecção ocorreu em apenas amostras de urina, com período de detecção entre 12 e 43 dias após o início dos sintomas. Nos três casos restantes (Casos 1, 2 e 3), a detecção ocorreu em apenas amostras de sangue, com variação do período de 50 a 92 dias após o início dos sintomas. Destes casos, a maioria apresentou o quadro exantemático quando no segundo trimestre gestacional (3/5), um caso no primeiro e um caso no terceiro trimestre gestacional.

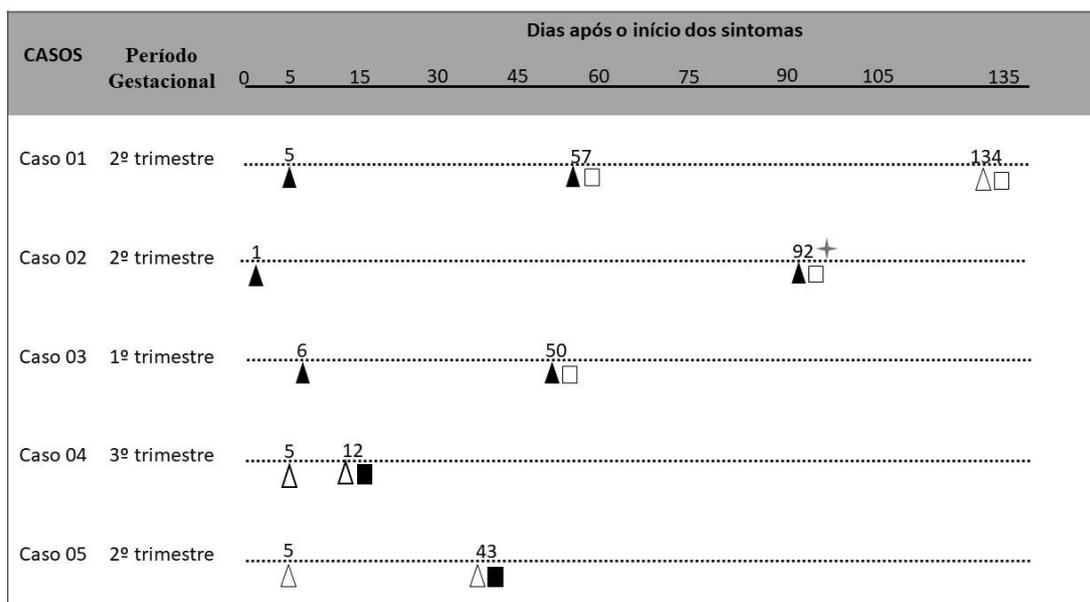
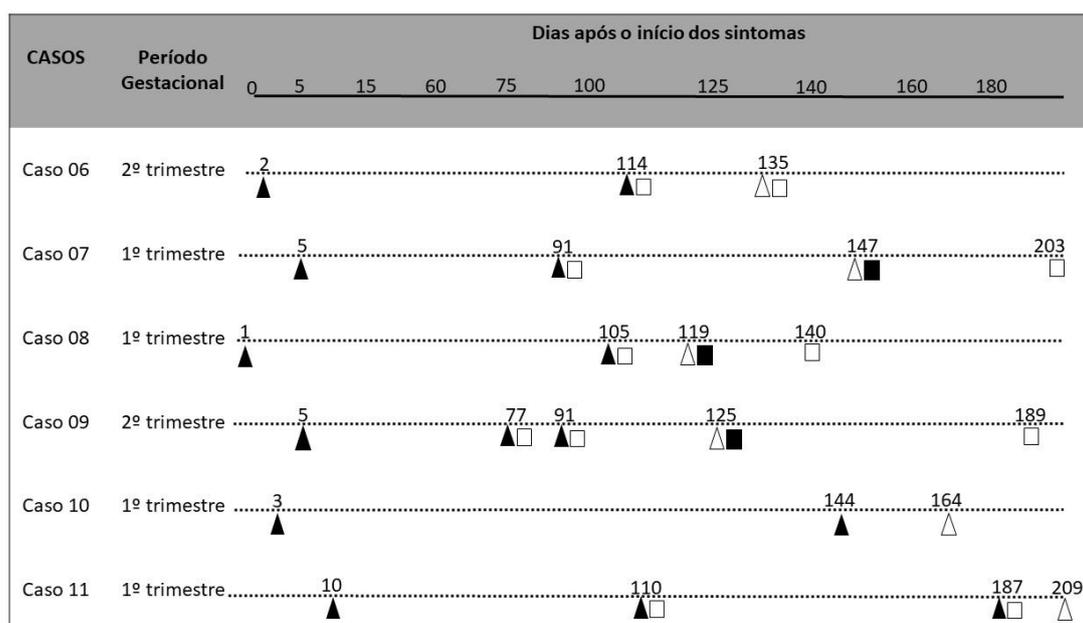
A**B**

Figura 6 Casos Positivos e Acompanhados com detecção viral prolongada. A) Casos que apresentaram detecção viral prolongada inferior a cem dias após o início dos sintomas. B) Casos com detecção prolongada superior a cem dias do início dos sintomas. Triângulos representam amostras de sangue e quadrados representam amostras urina. Formas preenchidas significam resultados positivos ($Ct \leq 38,5$), Formas vazias significam resultados negativos ($Ct \geq 38,5$). ✦ – Amostra coletada no momento do parto.

Dos casos em que a detecção prolongada foi superior a cem dias a data do início dos sintomas (Figura 6b), quatro encontravam-se no primeiro trimestre gestacional e dois no segundo trimestre na ocasião da apresentação de sintomas. Em três casos (Caso 7, 8 e

9) a detecção foi possível em amostras de sangue bem como nas amostras de urina, de forma alternada ou não, o período de detecção foi de 91 e 105 dias para amostras de sangue e nas amostras de urina foi de 147, 119 e 125 dias após o início dos sintomas. Nos três casos restantes, foi possível detecção prolongada apenas em amostras de sangue, os intervalos variaram de 114 a 187 dias após o início dos sintomas.

Análise considerando o período gestacional do quadro exantemático das gestantes positivas e acompanhadas em relação aos casos de detecção prolongada do RNA viral identificados no estudo, demonstrou que a maioria dos casos com perfil de detecção prolongada ocorreram entre as gestantes com sintomatologia no segundo trimestre gestacional (50%), (Figura 7), embora sem diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$). Enquanto o menor índice foi identificado entre o grupo com relato de sintomas no terceiro trimestre gestacional (12,5%).

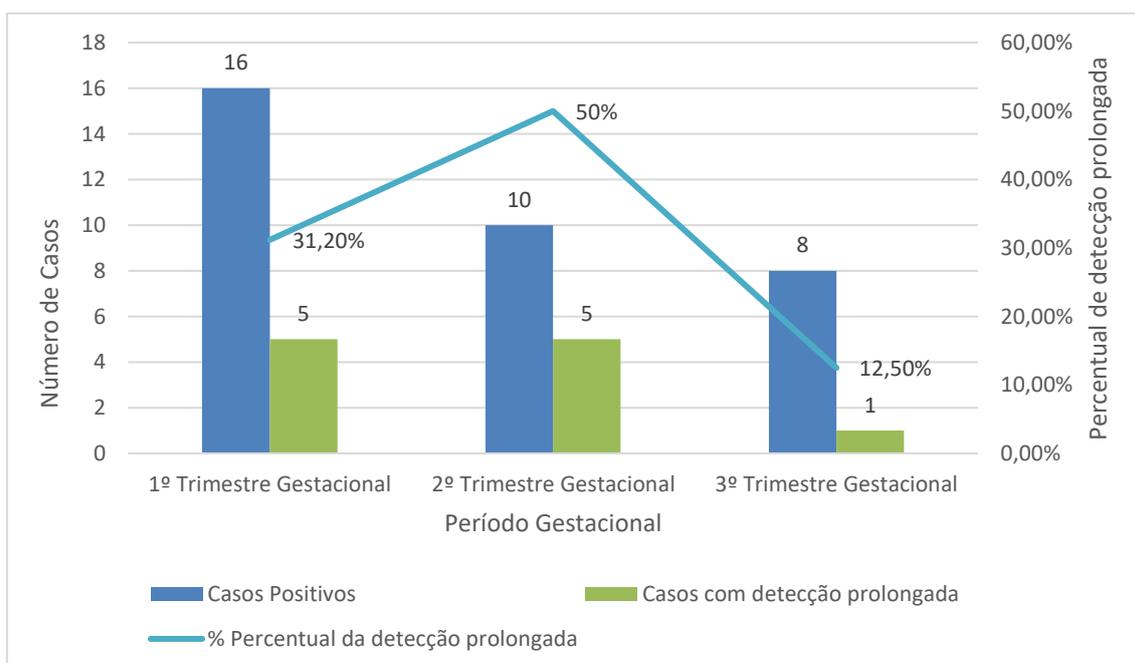


Figura 7. Distribuição do número de casos ZIKV positivos acompanhados em relação ao período gestacional e frequência dos casos de detecção prolongada. (N=34).

Dos casos de detecção prolongada o acompanhamento ocorreu até o momento do parto em sete (63,6%), dos quais todos ocorreram dentro do prazo previsto, sem interrupções ou abortos. Também não foram descritos casos de aborto/natimorto e, dos nascidos, a maioria 85,7% (6/7) não apresentou nenhum quadro indicativo de malformação. Estes casos seguem em acompanhamento por médicos pediatras, membros da equipe do projeto, para a avaliação de possível desenvolvimento de anormalidades

tardias. Entretanto, em um dos casos, denominado caso 10, a SCZ vírus foi confirmada. Neste caso, a gestante apresentou o quadro exantemático quando no primeiro trimestre gestacional e, a amostra sanguínea coletada nesta fase aguda apresentou positividade para o RNA viral. Durante processo de acompanhamento, amostra de sangue coletada 144 dias após esta fase apresentou positividade para o RNA viral. Amostras de sangue e urina coletadas posteriormente foram negativas pela técnica molecular, bem como amostra coletada no momento do parto. A gestação foi finalizada com aproximadamente 37 semanas, sendo confirmada a microcefalia congênita, no momento do parto foi possível realizar a coleta do sangue do cordão para, no entanto, este espécime clínico não apresentou positividade para infecção por ZIKV.

6 DISCUSSÃO

Este constitui o primeiro estudo prospectivo de investigação da ocorrência da infecção pelo ZIKV, desenvolvido na região Centro-Oeste, em população de gestantes notificadas por apresentar quadro exantemático. No estudo as participantes foram acompanhadas durante a gestação, o que levou à identificação de padrões variados de detecção viral prolongada para o ZIKV em diferentes espécimes clínicos.

A população do estudo foi constituída por 68 gestantes, de 15 a 49 anos, com quadro exantemático compatível com a infecção por ZIKV e notificadas pelo Sistema de Vigilância em Saúde (SVS). A faixa etária com o maior percentual de participantes foi de 20-29 anos, o que está em acordo com o padrão descrito na literatura, em que configura a faixa etária mais prevalente na população gestante (Ribeiro et al. 2017). De acordo com o MS, a gestação em mulheres com idade igual ou superior a 35 anos é caracterizada como gestação tardia, representando um período com a maior probabilidade de riscos gestacionais, e em nosso estudo, este constituiu o grupo de menor representatividade (MS-Brasil 2012).

No presente estudo foi observado uma taxa de positividade para infecção por ZIKV de 51,5% na população gestante exantemática. Estudos desenvolvidos em população semelhante considerando o contexto epidemiológico ainda são escassos, sendo a maioria constituída por relatos de casos, em específico associados a quadros de malformações como a microcefalia (Araujo et al. 2016, Bocanegra 2016, Bhatnagar et al. 2017, Weilg et al. 2018). Brasil e colaboradores, no ano de 2016, identificaram um índice de 53% de positividade para infecção por ZIKV em uma coorte de gestantes com quadro exantemático no estado do Rio de Janeiro (Brasil et al. 2016a). Enquanto outros estudos desenvolvidos mundialmente descreveram índices de 31,1% a 45,5% em população com suspeita de infecção (Brasil et al. 2016b, Pessoa et al. 2016, Lozier et al. 2018).

Após a confirmação do primeiro caso autóctone de infecção pelo ZIKV no país, a portaria 204 do Ministério da Saúde de 2016 determinou a notificação compulsória para os casos suspeitos de infecção pelo ZIKV (Brasil – Ministério da Saúde 2016). No caso de gestantes, a notificação deve ser realizada no prazo de 24 horas segundo a portaria. A partir do estabelecido, o ano de 2016 registrou um alto número de casos prováveis de infecção pelo ZIKV em todo o país, com mais de 200 mil casos notificados. No entanto,

no ano subsequente, foi possível notar uma queda significativa de cerca de 92% no número de casos prováveis (LirAa 2017). Esta redução tornou-se ainda mais notável no ano de 2018, sendo descrita uma queda de 79% no número de casos prováveis da infecção em relação ao ano de 2017 (Brasil - MS 2017b). Este padrão de redução dos casos prováveis e notificados também foi observado entre população de gestantes no país, assim como nos dados descritos pelo Sistema de Vigilância no município de Goiânia (Goiânia 2018, Brasil – Ministério da Saúde 2018). Desta forma, desde a introdução do ZIKV, uma redução gradativa no número de casos de infecções tem sido observada em todo o país, no entanto, tal infecção ainda permanece como preocupação relevante para saúde pública, principalmente em população gestante.

Corroborando o cenário observado no país, no presente estudo foi descrito um índice de positividade para a infecção pelo ZIKV no ano de 2017 significativamente maior em relação ao ano de 2018. Adicionalmente, o segundo trimestre do ano de 2017 apresentou maior índice em relação aos demais trimestres do mesmo ano, refletindo o mesmo perfil observado no país no período correspondente. De acordo com o informe epidemiológico do município de Goiânia, no segundo trimestre do ano de 2017 foram notificados mais de 900 casos prováveis de infecção por ZIKV, sendo considerado o trimestre de maior relevância daquele ano (Goiânia 2017). Assim, em nossa região observamos em gestantes um padrão similar da ocorrência desta infecção ao descrito para a população geral.

Considerando a análise da positividade para infecção por ZIKV em relação a faixa etária, o estudo observou maior frequência em gestantes com 20 a 29 anos, embora não estatisticamente significativo, considerando ser este o grupo que apresentou o maior número de participantes. Neste sentido, nenhuma associação pôde ser estabelecida, considerando ainda este fator não ser tratado como interferente ou de risco para a infecção por ZIKV.

No contexto da SCZ descrita, na qual a infecção pelo ZIKV pode estar associada a casos de malformações em recém-nascidos em especial, a microcefalia, foi proposto o acompanhamento das gestantes participantes do estudo, tendo sido estabelecido por meio de consultas periódicas realizadas em ambulatório instalado em uma maternidade de referência no município de Goiânia. O acompanhamento foi possível para 57 casos de gestantes com quadro exantemático participantes do estudo, para as quais foi realizada pelo menos uma consulta após o período exantemático. A realização desse

acompanhamento permitiu a identificação da ocorrência de detecção prolongada do RNA viral em 19,3% das gestantes com quadro de infecção, sendo observado diferentes padrões considerando a avaliação dos espécimes clínicos sangue e/ou urina.

Relatos de detecção viral prolongada foram descritos para o ZIKV em diferentes espécimes clínicos a partir de investigação em indivíduos sintomáticos. Em amostras de urina, relatos descreveram a identificação do RNA viral por um período de 20 a 91 dias após o início dos sintomas (Gourinat et al. 2015, Nicastrì et al. 2016, Zhang et al. 2017, Paiz-Bailey et al. 2017). Em investigações realizadas em amostras de sangue, detecção por período de 20 dias após o início dos sintomas foram descritas (Gourinat et al. 2015, Mansuy et al. 2016). Nos espécimes clínicos, saliva e sêmen, estudos descreveram intervalo de detecção de 62 a 188 dias nas amostras de sêmen e 91 dias para a saliva após o início dos sintomas (Atkinson et al. 2016, Harrower et al. 2016, Mansuy et al. 2016, Nicastrì et al. 2016, Oliveira Souto et al. 2018).

Na presente investigação, nos casos de gestantes com detecção viral prolongada na urina, o período de detecção variou de 12 a 147 dias após o início dos sintomas ou fase exantemática. Este dado está em acordo ao descrito por Terzian e colaboradores (2017), que relatou detecção do RNA viral em amostras de urina de gestantes sintomáticas entre um a sete meses após o início dos sintomas (Terzian et al. 2017). Considerando a avaliação em amostras de sangue, o período de detecção viral observado foi de 50 a 187 dias após o quadro exantemático, período superior ao observado na literatura. Estudos relataram a detecção do RNA viral em amostras de sangue de gestantes por até 53 dias após o início dos sintomas (Meaney-Delman- et al. 2016, Driggers et al. 2016, Suy et al. 2016).

A ocorrência de detecção prolongada do RNA em casos de infecção pelo ZIKV, tem sido discutida na literatura, visando uma melhor compreensão deste fato. A detecção prolongada do RNA viral em amostras de sangue foi descrita para outros flavivírus, como exemplo o vírus do WNV, que foi detectado por um período de 26 dias em amostras de sangue de indivíduos sintomáticos e para o vírus da Encefalite Japonesa (JEV - *Japanese encephalitis virus*) foi possível detectar o RNA viral 26 dias após o início dos sintomas (Busch et al. 2008, Lanteri et al. 2014, Huang 2017) Em outro estudo foi relatado a presença do RNA viral do DENV em amostras de sêmen de um indivíduo sintomático por 37 dias após o início dos sintomas (Lalle 2018). Nos casos de detecção em amostras de sêmen, estudos relataram a detecção do ZIKV no trato reprodutor masculino de

indivíduos sintomáticos, em diferentes localidades como: células Sertoli, próstata, vesículas seminais, testículos e epidídimo. No entanto, não é bem descrito como ocorre a replicação viral nestes casos, porém infere-se que tais células apresentam replicação ativa (Mansuy et al. 2016). Entretanto, tais inferências necessitam de estudos adicionais que permitam melhor avaliação e compreensão dos fatos.

A população gestante constitui um grupo com características diferenciais, as quais têm sido inferidos padrão não comum na patogenia da infecção. O contexto da resposta imunológica em gestantes é diferenciado, alterações e adaptações ocorrem durante a gestação, resultando em uma resposta imunológica modulada, entretanto este ainda não foi demonstrado como um fator interferente nos casos de viremia prolongada (Pazos et al. 2012, Kourtis et al. 2014). Relatos demonstraram a detecção do RNA viral do ZIKV em tecidos fetais (tecido cerebral), líquido amniótico, cordão umbilical e placenta provenientes de gestantes com infecção pelo ZIKV, com detecção da carga viral alta e replicação ativa nestes espécimes (Calvet et al. 2016, Mlakar et al. 2016, Bhatnagar et al. 2017). Em concordância com tais relatos, sugere-se que a detecção prolongada nesta população é resultante da replicação viral no feto/placenta que, portanto, atua como reservatório viral, ocorrendo a transferência do material genético viral para circulação materna, porém estudos adicionais se fazem necessário para melhor elucidação dos fatos (Meaney-Delman et al. 2016, Driggers et al. 2016, Dudley et al. 2016, Suy et al. 2016).

Nos casos acompanhados, em três destes observamos uma flutuação na positividade em relação as amostras de urina, padrão também observado em outros estudos (Nicastri et al. 2016, Terzian et al. 2017). Dudley e colaboradores (2016), com primata não-humanos, demonstraram positividade nas amostras de urina após o *clearance*/depuração viral no sangue, também foram detectados picos de positividade em amostras de sangue após o *clearance*/depuração vírus, sendo sugerido que o ZIKV permanece em certos tecidos por mais tempo em baixas concentrações, funcionando como reservatórios.

A infecção da placenta pelo ZIKV foi recentemente descrita, demonstrando que células presentes na placenta, em diferentes períodos gestacionais, são susceptíveis e permissíveis a replicação viral (Miner et al. 2016, Sheridan et al. 2017). Adicionalmente, fator importante tem sido descrito para SCZ, o qual relaciona maiores propensões de desenvolvimento de anomalias congênitas em infecções que ocorram nos primeiros meses gestacionais (Besnard et al. 2016, Noronha et al. 2016). Esta proposição tem sido

sustentada por estudos que relataram que células presentes na placenta primitiva são mais susceptíveis a infecção por ZIKV em comparação com as células da placenta em estágios finais da gestação, visto também que grande parte do desenvolvimento fetal, organogênese, ocorra no início gestacional (Noronha et al. 2016, Quicke et al. 2016, Tabata et al. 2016, Sheridan et al. 2017). Tal infecção ocasiona inflamação na placenta em consequência dano à barreira placentária, interferindo no crescimento neuronal (Besnard et al. 2016, Garcez et al. 2016). Entretanto, este fato não impede a possibilidade de ocorrer anomalias congênitas em infecções nos últimos meses gestacionais (Besnard et al. 2016).

No acompanhamento realizado dos casos positivos para infecção do ZIKV e com padrões de detecção prolongada, obtivemos maior frequência no grupo de gestantes com quadro exantemático quando no primeiro trimestre gestacional, dado que não apresentou significância estatística. Ainda, em um destes casos, referente a uma gestante de 22 anos e com o parto ocorrido às 37 semanas de gestação, foi confirmada a microcefalia congênita. Casos relatados na literatura, demonstraram que a microcefalia foi mais presente em neonatos em que a infecção materna ocorreu nos primeiros meses gestacionais (Driggers et al. 2016, Bhantagnar et al. 2017, Krow-Lucal et al. 2018).

A patogenia da infecção congênita não está ainda bem elucidada e outros fatores não associados ao indivíduo ou ainda às características da gestação nestes casos tem sido postulado. Acredita-se que algumas estirpes apresentam maior neurovirulência, no estudo de Cugola e colaboradores (2016), isolado brasileiro (ZIKVbr) em modelos animais, apresentou maior neurovirulência em comparação com a estirpe africana (MR766). Em contraproposta, estudos relatam que mutações nos genes codificantes da proteína prM possam estar relacionados com essa neurovirulência (Yuan et al. 2018). Porém para confirmações de tais sugestões, se faz necessário maiores investigações moleculares para compreensão de tais lacunas existentes na infecção congênita.

As consultas periódicas estabelecidas para as gestantes inclusas no estudo visavam não apenas um acompanhamento clínico destas, mas também uma coleta seriada de amostras (soro e urina). Entretanto, em muitos casos a resistência de gestantes ou mesmo dificuldades particulares das mesmas impossibilitou o comparecimento de forma sequencial. Desta forma, esta constituiu a principal limitação deste estudo, por ter resultado em consultas com intervalos irregulares que interferiram nos períodos de coleta de amostras dificultando assim, a avaliação dos dados de detecção prolongada.

Este estudo consiste na primeira investigação de infecção pelo ZIKV em gestantes notificadas com quadro exantemático no município de Goiânia-Goiás, demonstrando a ocorrência de detecção viral prolongada em número relevante de casos. Investigações neste contexto constituem importante contribuição para uma melhor compreensão dos fatores possivelmente associados à SCZ e vigilância epidemiológica de tal agente etiológico.

7 CONCLUSÕES

- Foi observado um índice de positividade de 51,5% para infecção pelo ZIKV na população gestante com quadro exantemático e notificadas no município de Goiânia-Goiás. A taxa de positividade observada no ano de 2017 foi maior em relação ao ano de 2018. Ainda, o segundo trimestre deste ano também apresentou a maior frequência de positividade, resultados estatisticamente significativos;
- A detecção viral prolongada foi observada em 19,3% das gestantes acompanhadas;
- O período de detecção viral prolongada nas amostras de urinas das gestantes acompanhadas variou de 12 a 147 dias após o quadro exantemático. E nas amostras de sangue a detecção prolongada ocorreu até 187 dias após o início dos sintomas;
- Das gestantes acompanhadas positivas que apresentaram a detecção prolongada a maior parte apresentou os sintomas quando no primeiro e segundo trimestre gestacional. A Síndrome Congênita do ZIKV foi observada no caso de detecção prolongada do RNA-viral em amostra de sangue por 144 dias e caracterizada por um quadro exantemático ocorrido no primeiro trimestre gestacional.

REFERÊNCIAS

Abbink P, Larocca RA, De La Barrera RA, Bricault CA, Moseley ET, Boyd M. Protective efficacy of multiple vaccine platforms against Zika virus challenge in rhesus monkeys. *Science* :353:1129–32, 2016.

Abushouk AI, Negida A, Ahmed H. An updated review of Zika virus. *J Clin Virol*: 84:53–8, 2016.

Adibi JJ, Marques ET Jr, Cartus A, Beigi RH. Teratogenic effects of the Zika virus and the role of the placenta. *Lancet*: 387(10027):1587-1590, 2016.

Alera MT, Hermann L, Tac-An IA, Klungthong C, Rutvisuttinunt W, Aliota, M.T., Dudley, D.M., Newman, C.M., Mohr, E.L., Gellerup, D.D., Breitbach, M.E., Buechler, C.R., Rasheed, M.N., Mohns, M.S., Weiler, A.M, Barry GL, Weisgrau KL, Eudailey JA, Rakasz EG, Vosler LJ, Post J, Capuano S 3rd, Golos TG, Permar SR, Osorio JE, Friedrich TC, O'Connor SL, O'Connor DH. Heterologous Protection against Asian Zika Virus Challenge in Rhesus Macaques. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 10, e0005168, 2016.

Aleshin AE, Shiryaev SA, Strongin AY, Liddington RC. Structural evidence for regulation and specificity of flaviviral proteases and evolution of the Flaviviridae fold. *Protein Sci* : 16:795–806, 2007.

Araújo TVB, Rodrigues LC, de Alencar Ximenes RA, Miranda-Filho DB, Montarroyos UR, Melo APL, Valongueiro S, Albuquerque MFPM, Souza UV, Braga C, Brandão Filho SP, Cordeiro MT, Vazquez E, Cruz DDCS, Henriques CMP, Bezzarra LCA, Castanha PMS, Dhalia R, Marques-Júnior RTA, Martelli CMT. Association between Zika virus infection and microcephaly in Brazil, January to May, 2016: preliminary report of a case-control study. *Lancet Infect Dis*: 16: 1356–63, 2016.

Araujo, A.Q., Silva, M.T., and Araujo, A.P. Zika virus-associated neurological disorders: a review. *Brain* 139, 2122–2130, 2016.

Atkinson, B., Hearn, P., Afrough, B., Lumley, S., Carter, D., Aarons, E. J, Hewson, R. Detection of Zika Virus in Semen. *Emerg. Infec. Dis.* 22(5), 940. 2016.

Avirutnan P, Fuchs A, Hauhart RE, Somnuk P, Youn S, Diamond MS, Atkinson JP. Antagonism of the complement component C4 by flavivirus nonstructural protein NS1. *J Exp Med*: 207:793–806, 2010.

Basile K, Kok J, Dwyer DE. Zika virus: what, where from and where to? *Pathol.* 698-706, 49, 0031-3025, 2017.

Basurko C, Carles G, Youssef M, Guindi WE. Maternal and foetal consequences of dengue fever during pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 147(1):29-32.2009.

Besnard M, Lastère S, Teissier A, Cao-Lormeau V, Musso D. Evidence of perinatal transmission of Zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014. *Euro Surveill.* 19:20751, 2014.

Bhatnagar, J., Rabeneck, D.B., Martines, R.B., Reagan-Steiner, S., Ermias, Y., Estetter, L.B., Suzuki, T., Ritter, J., Keating, M.K., Hale, G., Gary, J., Muehlenbachs, A., Lambert, A. Lanciotti, R., Oduyebo, T., Meaney-Delman, D., Bolanos, F., Saad, E.A., Shieh, W.J., Zaki, S.R. Zika Virus RNA Replication and Persistence in Brain and Placental Tissue. *Emerg Infect Dis.* 23(3), 405-414. 2017.

Blazquez AB, Saiz JC. Neurological manifestations of Zika virus infection. *World J Virol.* 5:135–143, 2016.

Brasil P, Pereira JP Jr, Nogueira R, Dasmasceno L, Wakimoto M, Rabello RS, Valderramos SG, Halai UA, Salles TS, Zin AA, Horovitz D, Daltro P, Boechat M, Raja Gabaglia C, Carvalho de Siqueira P, Pilotto JH, Medialdea-Carrera R, Cotrim de Cunha D, Carvalho LMA, Pone M, Machado Siqueira A, Calvet GA, Einspieler AE, Janzen JD, Cherry JD, Bispo de Filippis AM, Nielsen-Saines K. Zika virus infection in pregnant women in Rio de Janeiro — preliminary report. *N Engl J Med.* 2016a.

Brasil P, Calvet GA, Siqueira AM, Wakimoto M, de Sequeira PC, Nobre A. Zika virus outbreak in Rio de Janeiro, Brazil: clinical characterization, epidemiological and virological aspects. *PLoS Negl Trop Dis*; 10:e0004636, 2016b.

Brasil – Ministério da Saúde. Ministério da Saúde confirma relação entre vírus Zika e microcefalia. 2015. Disponível: <http://www.blog.saude.gov.br/index.php/combate-ao-aedes/50399-ministerio-da-saude-confirma-relacao-entre-virus-zika-e-microcefalia>> Acessado: 25/08/18.

Brasil – Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico. Volume 48 nº3 .2017a. Disponível em: <http://combateaedes.saude.gov.br/images/boletins-epidemiologicos/2016-Dengue_Zika_Chikungunya-SE52.pdf>. Acessado em: 05/12/17.

Brasil – Ministério da Saúde 2017b. GO: 162 municípios em situação de alerta e risco para dengue, zika e chikungunya. Disponível: <http://portalms.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/43519-goias-registra-162-municipios-em-situacao-de-alerta-ou-risco-para-dengue-zika-e-chikungunya-2>> Acessado: 10/10/2018.

Brasil –Ministério da Saúde. Portaria No -204, de 17 de fevereiro de 2016. Disponível: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2016/prt0204_17_02_2016.html> Acessado: 25/08/18.

Brasil – Ministério da Saúde. Informe Epidemiológico nº 57 – Semana epidemiológica (SE) 52/2016 (25 a 31/12/2016) Monitoramento dos casos de microcefalia no Brasil - COES. 2016b. Disponível em: < http://combateaedes.saude.gov.br/images/pdf/Informe-Epidemiologico-n57-SE-52_2016-09jan2017.pdf >. Acessado em: 28/11/17.

Brasil –Ministério da Saúde. Ministério da Saúde confirma 1.709 casos de microcefalia. 2016a. Disponível em: <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/cidadao/principal/agencia-saude/24625-ministerio-da-saude-confirma-1-709-casos-de-microcefalia>>. Acessado em: 28/11/17.

Bocanegra C. Zika virus infection in pregnant women in Barcelona, Spain. *Clin Microbiol Infect* 2016.

Boigard H, Alimova A, Martin GR. Zika virus-like particle (VLP) based vaccine. *PLoS Negl Trop Dis*; 11(5): e0005608, 2017.

Brown C. Zika virus outbreaks in Asia and South America. *CMAJ* 188:E34, 2016.

Busch MP, Kleinman SH, Tobler LH, Kamel HT, Norris PJ, Walsh I, et al. Virus and antibody dynamics in acute West Nile virus infection. *J Infect Dis*; 198:984–93, 2008.

Calisher CH, Gould EA. Taxonomy of the virus family *Flaviviridae*. *Adv Virus Res*;59:1–19, 2003.

Campos G, Bandeira A, Sardi S. Zika virus outbreak, Bahia Brazil. *Emerg Infect Dis*: 21: 1881, 2015.

Calvet, G., Aguiar, R.S., Melo, A.S., Sampaio, S.A., de Filippis, I., Fabri, A., Araujo, E.S., de Sequeira, P.C., de Mendonca, M.C., de Oliveira, L., Tschoeke, D.A., Schrago, C.G., Thompson, F.L., Brasil, P., Dos Santos, F.B., Nogueira, R.M., Tanuri, A., de Filippis, A.M. Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study. *Lancet Infect Dis* 16(6), 653-660. 2016.

Cao-Lormeau VM, Roche C, Teissier A, Robin E, Berry AL, Mallet HP, Sall AA, Musso D. Zika virus, French Polynesia, South Pacific. *Emerg Infect Dis*: 20:1085–1086, 2014.

Chambers, T.J, Hahn, C.S, Galler, R, Rice, C.M. Flavivirus genome organization, expression, and replication. *Annu. Rev. Microbiol*: 44, 649–688, 1990.

Chan JF, Choi GK, Yip CC, Cheng VC, Yuen KY. Zika fever and congenital Zika syndrome: an unexpected emerging arboviral disease. *J Infect*; 72(5): 507-24. 2016

Charles, A, Christofferson, R. Utility of a Dengue-Derived Monoclonal Antibody to Enhance Zika Infection In Vitro. *PLOS Currents Outbreak*. 2016.

Cugola, F.R., Fernandes, I.R., Russo, F.B., Freitas, B.C., Dias, J.L., Guimaraes, K.P, Dai, L, Song, J, Lu, X, Deng, Y.Q, Musyoki, A.M., Cheng, H., Zhang, Y, Yuan, Y, Song, H., Haywood, J. Structures of the Zika virus envelope protein and its complex with a flavivirus broadly protective antibody. *Cell Host Microbe* 19, 696–704, 2016.

Chahal JS, Fang T, Woodham AW. An RNA nanoparticle vaccine against Zika virus elicits antibody and CD8+ T cell responses in a mouse model. *Sci Rep*; 7(1): 252, 2017.

Dasti JI. Zika virus infections: An overview of current scenario, In Asian Pacific *J Trop Med*: 9, 7, 2016,621-625, 1995-7645, 2016.

Davidson A, Slavinski S, Komoto K, et al. Suspected female-to-male sexual transmission of Zika virus – New York City, 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 65: 716–7. 2016.

De Paula Freitas B., de Oliveira Dias J.R., Prazeres J., Sacramento G.A., Ko A.I., Maia M., Belfort R., Jr. Ocular findings in infants with microcephaly associated with presumed Zika virus congenital infection in salvador, Brazil. *JAMA Ophthalmol*: 134:529–535, 2016.

Deckard DT, Chung WM, Brooks JT, et al. Male-to-male sexual transmission of Zika virus – Texas, January 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*.65: 372–4. 2016.

Delatte H, Gimonneau G, Triboire A, Fontenille D. Influence of temperature on immature development, survival, longevity, fecundity, and gonotrophic cycles of *Aedes albopictus*, vector of chikungunya and dengue in the Indian Ocean. *J Med Entomol*. 46(1): 33-41. 2009.

Diagne CT, Diallo D, Faye O, Ba Y, Faye O, Gaye A, Dia I, Faye O, Weaver SC, Sall AA, Diallo M. Potential of selected Senegalese *Aedes* spp. mosquitoes (*Diptera: Culicidae*) to transmit Zika virus. *BMC Infect Dis*: 15:492, 2015.

Diallo D, Sall AA, Diagne CT, Faye O, Faye O, Ba Y, Hanley KA, Buenemann M, Weaver SC, Diallo M. Zika virus emergence in mosquitoes in southeastern Senegal, 2011. *PLoS One*: 9:e109442, 2014.

Dick GW, Kitchen SF, Haddow AJ. Zika virus. I. Isolations and serological specificity. *Trans R Soc Trop Med Hyg* : 46: 509–520, 1952.

Dick GW. Zika virus. II. Pathogenicity and physical properties. *Trans R Soc Trop Med Hyg*: 46:521–534, 1952.

Dick GW. Epidemiological notes on some viruses isolated in Uganda (yellow fever, Rift Valley fever, Bwamba fever, West Nile, Mengo, Semliki Forest, Bunyamwera, Ntaya, Uganda S and Zika viruses). *Trans R Soc Trop Med Hyg*: 47:13–48, 1953.

Diamond MS, Coyne CB: Vaccines in 2017: Closing in on a Zika virus vaccine. *Nat Rev Immunol*; 18(2): 89–90, 2018.

Digoutte JP, Calvo-Wilson MA, Mondo M, Traore-Lamizana M, Adam F. Continuous cell lines and immune ascitic fluid pools in arbovirus detection. *Res Virol* 143:417–422. 1992.

Dejnirattisai W, Supasa P, Wongwiwat W, Rouvinski A, Barba-Spaeth G, Duangchinda T, Sakuntabhai A, Lormeau VMC, Malasit P, Rey FA, Mongkolkeha J, Sreentha G. Dengue virus sero-cross-reactivity drives antibody-dependent enhancement of infection with Zika virus. *Nat Immunol*: 17:1102–8, 2016.

Dowd, KA, Ko, S.-Y, Morabito, KM, Yang, ES, Pelc, RS, DeMaso, CR, Castilho, LR, Abbink, P, Boyd, M, Nityanandam, R, Gordon DN, Gallagher JR, Chen X, Todd JP, Tsybovsky Y, Harris A, Huang YS, Higgs S, Vanlandingham DL, Andersen H, Lewis MG, De La Barrera R, Eckels KH, Jarman RG⁰, Nason MC, Barouch DH, Roederer M², Kong WP, Mascola JR, Pierson TC, Graham BS. Rapid development of a DNA vaccine for Zika virus. *Science* 354, 237–240. 2016.

Driggers RW, Ho CY, Korhonen EM, Jaaskelainen AJ, Smura T, Rosenberg A, Hill DA, DeBiase RL, Vezina G, Timofeev J, Rodriguez FJ, Levanov L, Razak J, Ieyngar P, Hennenfent A, Kennedy R, Lanciotti R, Plessi A, Vapalahti O. Zika virus infection with prolonged maternal viremia and fetal brain abnormalities. *N Engl J Med*. 2016.

Duffy MR, Chen TH, Hancock WT, Powers AM, Kool JL, Lanciotti RS, Pretrick M, Marfel M, Holzbauer S, Dubray C, Guillaumot L, Griggs A, Bel M, Lambert AJ, Laven J, Kosoy O, Panella A, Biggerstaff BJ, Fischer M, Hayes EB. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N Engl J Med*: 360:2536–2543, 2009.

Dudley DM, Aliota MT, Mohr EL, Weiler AM, Lehrer-Brey G, Weisgrau KL, Mohns MS, Breitbach ME, Rasheed MN, Newman CM. A rhesus macaque model of Asian-lineage Zika virus infection. *Nat Commun* 7:12204, 2016.

Dupont-Rouzeyrol M, O'Connor O, Calvez E, Daurès M, John M, Grangeon JP, Gourinat AC. Co-infection with Zika and dengue viruses in 2 patients, New Caledonia, 2014. *Emerg Infect Dis*: 21:381–382, 2015.

Dupont-Rouzeyrol M, Biron A, O'Connor O, Huguenon E, Descloux E. Infectious Zika viral particles in breastmilk. *Lancet*. 387:1051. 2016.

Dyer O. Zika virus spreads across Americas as concerns mount over birth defects. *BMJ*: 6983, 2015.

European Centre for Disease Prevention and Control. Monitoring current threats: ECDC Communicable Disease Threats Report (CTDR), week 11/2014. European Centre for Disease Prevention and Control, *Stockholm*, Sweden. 2014

European Centre for Disease Prevention and Control. Rapid risk assessment: Microcephaly in Brazil potentially linked to the Zika virus epidemic – 24 November 2015. *Stockholm*: ECDC; 2015

Fagbami AH. Zika virus infections in Nigeria: virological and seroepidemiological investigations in Oyo State. *J Hyg* 83:213– 219, 1979.

Falgout, B., Chanock, R., Lai, C.J. Proper processing of dengue virus nonstructural glycoprotein NS1 requires the N-terminal hydrophobic signal sequence and the downstream nonstructural protein NS2a. *J. Virol*: 63, 1852– 14491860, 1989.

Falgout, B., Markoff, L. Evidence that flavivirus NS1-NS2A cleavage is mediated by a membrane-bound host protease in the endoplasmic reticulum. *J. Virol*: 69, 7232–7243, 1995.

Fauci AS, Morens DM. Zika virus in the Americas – yet another arbovirus threat. *N Engl J Med*. 374: 601–4, 2016.

Faye O, Freire CC, Iamarino A, Faye O, de Oliveira JV, Diallo M, Zanotto PM, Sall AA. Molecular evolution of Zika virus during its emergence in the 20th century. *PLoS Negl Trop Dis*: 8 2636, 2014.

Filipe AR, Martins CM, Rocha H. Laboratory infection with Zika virus after vaccination against yellow fever. *Arch Gesamte Virusforsch*: 43:315–319, 1973.

Fonseca K, Meatherall B, Zarra D, Drebot M, MacDonald J, Pabbaraju K, Wong S, Webster P, Lindsay R, Tellier R. First case of Zika virus infection in a returning Canadian traveler. *Am J Trop Med Hyg*, 91:1035-8. 2014.

Foy BD, Kobylinski KC, Chilson Foy JL, Blitvich BJ, Travassos da Rosa A, Haddock AD, et al. Probable non-vector-borne transmission of Zika virus, Colorado, USA. *Emerg Infect Dis*; 17(5): 880-882. 2011.

Fritel X, Rollot O, Gerardin P, Gauzere BA, Bideault J, Lagarde L, et al. Chikungunya virus infection during pregnancy, Reunion, France, 2006. *Emerg Infect Dis.* 16(3):418-25, 2010.

Gatherer D, Kohl A. Zika virus: a previously slow pandemic spreads rapidly through the Americas. *J Gen Virol:* 97:269–73, 2016.

George J, Valiant WG, Mattapallil MJ, Walker M, Huang YJ, Vanlandingham DL, Misamore J, Greenhousse J, Weis DE, Verthelyi D, Higgs S, Andersen H, Lewis MG, Mattapallil JJ. Prior exposure to Zika virus significantly enhances peak dengue-2 viremia in Rhesus Macaques. *Sci Rep:* 7:10498, 2017.

Gerardin P, Sampéris S, Ramful D, Boumahni B. Neurocognitive outcome of children exposed to perinatal mother-to-child chikungunya virus infection: the CHIMERE cohort study on Reunion island. *PLoS Negl Trop Dis* 8(7):1– 14, 2014.

Gubler DJ. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clin Microbiol Rev,* 11(3): 480-496, 1998.

Gluber JD, Vasilakis N, Musso D. History and Emergence of Zika Virus. *J Infect Dis:* 216(S10): S860–7, 2017.

Goiânia. Informe Técnico Smenal: Dengue, Chikungunya e Zika. Edição nº52/2017. Disponível em: Goiânia. Informe Técnico Smenal: Dengue, Chikungunya e Zika. Edição nº52/2017. Disponível em: http://www.saude.goiania.go.gov.br/docs/divulgacao/Informe_Semanal_Den_Chik_Zika_Micro_22_11_17_SE_30.pdf >. Acessado em: 28/08/18.

Goiânia. Informe Técnico Smenal: Dengue, Chikungunya e Zika. Edição nº40/2018. Disponível em: Goiânia. Informe Técnico Smenal: Dengue, Chikungunya e Zika. Edição nº40/2018. Disponível em: http://www.saude.goiania.go.gov.br/docs/divulgacao/Informe_Semanal_Den_Chik_Zika_Micro_09_10_18_SE_40.pdf >. Acessado em: 28/08/18.

Gould, D. J., Barnett, H. C., and Suyemoto, W. Transmission of Japanese encephalitis virus by *Culex gelidus* Theobald. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 56, 429–435, 1962.

Gourinat, A. C., O'Connor, O., Calvez, E., Goarant, C., and Dupont-Rouzeyrol, M. Detection of Zika virus in urine. *Emerg. Infect. Dis.* 21, 84–86. 2015.

Grard G, Caron M, Mombo IM, Nkoghe D, Ondo SM, Jiolle D, Fontenille D, Paupy C, Leroy EM. Zika virus in Gabon (Central Africa)—2007: a new threat from *Aedes albopictus*?. *PLoS Negl Trop Dis* 8:e2681, 2014.

- Guzman Mg, Harris E. Dengue *The Lancet*. 385(9966).453-465. 2015.
- Haddow AJ, Williams MC, Woodall JP, Simpson DI, Goma LK. Twelve isolations of Zika virus from *Aedes (Stegomyia) africanus* (Theobald) taken in and above a Uganda forest. *Bull World Health Organ* 31:57–69, 1964.
- Haddow AD, Schuh AJ, Yasuda CY, Kasper MR, Heang V, Huy R, Guzman H, Tesh RB, Weaver SC. Genetic characterization of Zika virus strains: geographic expansion of the Asian lineage. *PLoS Negl Trop. Dis* 6:e1477, 2012.
- Hamel R, Dejarnac O, Wichit S, Ekchariyawat P, Neyret A, Luplertlop N. Biology of Zika virus infection in human skin cells. *J Virol* 89(17): 8880-8896. 2015.
- Hamel, R., Liégeois, F., Wichit, S., Pompon, J., Diop, F., Talignani, L., Thomas F., Després P., Yssel H., Missé D. Zika virus: epidemiology, clinical features and host-virus interactions. *Microbes Infect*: 18, 441–449, 2016.
- Hamel, R.; Ferraris, P.; Wichit, S.; Diop, F.; Talignani, L.; Pompon, J.; Garcia, D.; Liegeois, F.; Sall, A.A.; Yssel, H. African and Asian Zika virus strains differentially induce early antiviral responses in primary human astrocytes. *Infect. Genet. Evol*: 49, 134–137, 2017.
- Hammon WM, Schrack WD, Jr, Sather GE. Serological survey for a arthropod-borne virus infections in the Philippines. *Am J Trop Med Hyg*: 7:323–328, 1958.
- Harrison, S.C. Viral membrane fusion. *Nat. Struct. Mol. Biol*: 15, 690–698, 2008.
- Harrower, J., Kiedrzyński, T., Baker, S., Upton, A., Rahnama, F., Sherwood, J, Pulford, D. Sexual Transmission of Zika Virus and Persistence in Semen, New Zealand, 2016. *Emerg Infect Dis*, 22(10), 1855–1857, 2016.
- Hayes EB. Zika virus outside Africa. *Emerg Infect Dis*;15:1347-50, 2009.
- Heang, V, Yasuda, CY, Sovann, L, Haddow, AD, Travassos da Rosa, AP, Tesh, RB, Kasper, MR. Zika Virus Infection, Cambodia, 2010. *Emerg Infec Dis*: 18(2), 349–351, 2012.
- Heinz FX, Allison SL. The machinery for flavivirus fusion with host cell membranes. *Curr Opin Microbiol*: 4(4): 450-455, 2001.
- Hills SL, Russell K, Hennessey M, Williams C, Oster AM, Fischer M, Mead O. Transmission of Zika Virus Through Sexual Contact with Travelers to Areas of Ongoing Transmission — Continental United States, 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 65: 215–216, 2016.

International Committee on Taxonomy of Viruses. Virus taxonomy: 2016 release, 2016. Available at: <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>. (Acessado: 20/11/2017).

Kawiecki AB, Christofferson RC. Zika Virus-Induced Antibody Response Enhances Dengue Virus Serotype 2 Replication In Vitro. *J Infect Dis*: 214(9): 1357-60, 2016.

Kliks SC, Nisalak A, Brandt WE, Wahl L, Burke DS. Antibody-dependent enhancement of dengue virus growth in human monocytes as a risk factor for dengue hemorrhagic fever. *Am J Trop Med Hyg*: 40: 444–51, 1989.

Kraemer MU, Sinka ME, Duda KA, Mylne A, Shearer FM, Barker CM, Moore CG, Carvalho RG, Coelho GE, Van Bortel W, Hendrickx G, Schaffner F, Elyazar IR, Teng H-J, Brady OJ, Messina JP, Pigott DM, Scott TW, Smith DL, Wint GW, Golding N, Hay SI. The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *A. albopictus*. *Elife*: e08347, 2015.

Krause KK, Azouz F, Shin OS, Kumar M. Understanding the pathogenesis of Zika virus infection using animal models. *Immune Netw*: 17:287–97, 2017.

Kourtis AP, Read JS, Jamieson DJ. Pregnancy and infection. *N Engl J Med*: 370:2211–8, 2014.

Kuno G, Chang GJ, Tsuchiya KR, Karabatsos N, Cropp CB. Phylogeny of the genus *Flavivirus*. *J Virol*: 72:73–83, 1998.

Kuno G, Chang GJ. Full-length sequencing and genomic characterization of Bagaza, Kedougou, and Zika viruses. *Arch Virol*: 152:687–696, 2007.

Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, Velez JO, Lambert AJ, Johnson AJ, Stanfield SM, Duffy MR. Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerg Infect Dis*: 14:1232–1239, 2008.

Lanciotti RS, Lambert AJ, Holodniy M, Saavedra S, del Carmen Castillo Signor L. Phylogeny of Zika virus in Western Hemisphere, 2015. *Emerg Infect Dis*. 2016.

Lanteri MC, Lee TH, Wen L, Kaidarova Z, Bravo MD, Kiely NE, et al. West Nile virus nucleic acid persistence in whole blood months after clearance in plasma: implication for transfusion and transplantation safety. *Transfusion*; 54:3232–41, 2014.

Larocca RA, Abbink P, Peron JP. Vaccine protection against Zika virus from Brazil. *Nat*; 536:474–8, 2016.

Lazear, H.M. & Diamond, M.S. Zika virus: new clinical syndromes and its emergence in the western hemisphere. *J. Virol*. 90, 4864–4875, 2016.

Lee, I.; Bos, S.; Wang, S.; Gadea, G.; Desprès, P.; Zhao, R.Y. Probing Molecular Insights into Zika Virus-Host Interactions. *Viruses*: 10, 233, 2018.

Ledermann JP, Guillaumot L, Yug L, Saweyog SC, Tided M, Machieng P, Pretrick M, Marfel M, Griggs A, Bel M, Duffy MR, Hancock WT, Ho-Chen T, Powers AM. *Aedes hensilli* as a potential vector of chikungunya and Zika viruses. *PLoS Negl Trop Dis* 8:e3188, 2014.

Li MI, Wong PS, Ng LC, et al. Oral susceptibility of Singapore *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti* (Linnaeus) to Zika virus. *PLoS Negl Trop Dis*; 6: e1792. 2012.

Li C, Xu D, Ye Q, Hong S, Jiang Y, Liu X, et al. Zika virus disrupts neural progenitor development and leads to microcephaly in mice. *Cell Stem Cell*. 2016.

Lim, H. J., Nguyen, T. T., Kim, N. M., Park, J. S., Jang, T. S., and Kim, D. Inhibitory effect of flavonoids against NS2B-NS3 protease of ZIKA virus and their structure activity relationship. *Biotechnol. Lett.* 39: 415–421, 2017.

Lin, C., Amberg, S.M, Chambers, T.J, Rice, C.M. Cleavage at a novel site in the NS4A region by the yellow fever virus NS2B-3 proteinase is a prerequisite for processing at the downstream 4A/4B signalase site. *J. Virol.* 67: 2327–2335, 1993.

Lin HH, Yip BS, Huang LM, Wu SC. Zika virus structural biology and progress in vaccine development. *Biotechnol Adv*: 09.004, 2017.

Lindenbach BD, Thiel H-J, Rice CM. Flaviviridae: the viruses and their replication. In: Knipe DM, Howley PM, eds. *Fields Virology*. 5th ed. Philadelphia, PA: Lippincott-Raven Publishers, 1101–1152. 2007.

Lindenbach, B.D., Rice, C.M. Molecular biology of flaviviruses. *Adv. Virus Res.*: 59, 23-61, 2003.

LiraA 2017 – LiraA aponta 357 municípios em situação de risco para dengue, zika e chikungunya. Disponível: <https://rededengue.fiocruz.br/noticias/630-iraa-aponta-357-municipios-em-situacao-de-risco-para-dengue-zika-e-chikungunya>> Acessado em: 28/09/2017.

Lozier MJ, Burke RM, Lopez J, et al. Differences in prevalence of symptomatic Zika virus infection by age and sex-Puerto Rico. *J Infect Dis*. 2017.

Maeda A, Maeda J. Review of diagnostic plaque reduction neutralization tests for flavivirus infection. *Vet J*. 195:33–40. 2013.

Marchette NJ, Garcia R, Rudnick A. Isolation of Zika virus from *Aedes aegypti* mosquitoes in Malaysia. *Am J Trop Med Hyg*: 18:411–415, 1969.

Mansuy JM, Mengelle C, Pasquier C, Chapuy-Regaud S, Delobel P, Martin-Blondel G, et al. Zika virus infection and prolonged viremia in whole-blood specimens. *Emerg Infect Dis*: 23:863–5, 2017.

McCracken MK, Gromowski GD, Friberg HL, Lin X, Abbink P, Barrera R, Eckles K, Garver L, Boyd M, Jetton D, Barouch DH, Wise MC, Lewis BS, Currier JR, Modjarrad K, Milazzo M, Liu M, Mullins AB, Putnak JR, Michael N, Jaman RG. Impact of prior flavivirus immunity on Zika virus infection in rhesus macaques. *PLoS Pathog*, 2017.

Meaney-Delman D, Hills SL, Williams C, et al. Zika virus infection among US pregnant travelers – August 2015-February 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 65: 211–4. 2016.

Meertens L, Labeau A, Dejarnac O, Cipriani S, Sinigaglia L, Bonnet-Madin L, Le Charpentier T, Hafirassou ML, Zamborlini A, Cao-Lormeau VM, Couplier M, Missé D, Jouvenet N, Tabibiazar R, Gressens P, Schwartz O, Amara A. Axl mediates ZIKA virus entry in human glial cells and modulates innate immune responses. *Cell Rep* 18: 324–333, 2017.

Miller S, Sparacio S, Bartenschlager R. Subcellular localization and membrane topology of the dengue virus type 2 non-structural protein 4B. *J Biol Chem*:281:8854–886, 2006.

Miner JJ, Cao B, Govero J, Smith AM, Fernandez E, Cabrera OH, Garber C, Noll M, Klein RS, Noguchi KK, Mysorekar IU, Diamond MS. Zika virus infection during pregnancy in mice causes placental damage and fetal demise. *Cell* 165: 1081–1091. 2016

Miner JJ, Diamond MS. Zika virus pathogenesis and tissue tropism. *Cell host Micro*. 21, 134-142. 2017.

Ministério da Saúde - ANVISA registra Kits que ampliam ao diagnóstico de zika, dengue e chikungunya. 2016. Disponível em: < <http://www.brasil.gov.br/saude/2016/02/anvisa-registra-kits-que-ampliam-acesso-ao-diagnostico-de-zika-dengue-e-chikungunya>> Acessado em: 07/12/17.

Miranda-Filho, D. de B, Martelli CM, Ximenes RA, Araújo TV, Rocha MA, Ramos RC, Dhalia R, França RF, Marques Júnior ET, Rodrigues LC. Initial description of the presumed congenital Zika syndrome. *Am J of Public Health*, [S.l.], v. 106, p. 598-600, 2016.

Mlakar, J., Korva, M., Tul, N., Popovic, M., Poljsak-Prijatelj, M., Mraz, J., Kolenc, M., Resman Rus, K., Vesnaver Vipotnik, T., Fabjan Vodusek, V., Vizjak, A., Pizem, J.,

- Petrovec, M., Avsic Zupanc, T. Zika Virus Associated with Microcephaly. *N Engl J Med*: 374(10), 951-958, 2016.
- Moghadam SRJ, Bayrami S, Moghadam J, Golrokhi R, Pahlaviani FG, SeyedAlinaghi AS. Zika virus: a review of literature, *Asian Pac. J. Trop. Biomed*: 6989–994, 2016.
- Moore DL, Causey OR, Carey DE, Reddy S, Cooke AR, Akinkugbe FM, David-West TS, Kemp GE. Arthropod-borne viral infections of man in Nigeria, 1964-1970. *Ann Trop Med Parasitol*: 69: 49-64, 1975.
- Moore CA, Staples JE, Dobyns WB, Pessoa A, Ventura CV, Fonseca EB, Ribeiro EM, Ventura LO, Neto NN, Arena FJ, Rasmussen S. Characterizing the pattern of anomalies in congenital Zika syndrome for pediatric clinicians. *JAMA Pediatr*, 2016.
- Mukhopadhyay, S., Kuhn, R. J., and Rossmann, M. G. A structural perspective of the flavivirus life cycle. *Nat. Rev. Microbiol*: 3, 13–22, 2005.
- Muller DA, Young PR, The flavivirus NS1 protein: Molecular and structural biology, immunology, role in pathogenesis and application as a diagnostic biomarker, *In Antiviral Research*: 98, 2,0166-3542, 2013.
- Murray JM, Aaskov JG, Wright PJ. Processing of the dengue virus type 2 proteins prM and C-prM. *J Gen Virol*: 74(2): 175-182, 1993.
- Musso D, Nilles EJ, Cao-Lormeau VM. Rapid spread of emerging Zika virus in the Pacific area. *Clin Microbiol Infect*: 20:O595–O596, 2014.
- Musso D, Nhan T, Robin E, Roche C, Bierlaire D, Zisou K, Shan Yan A, Cao-Lormeau VM, Broult J. Potential for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during an outbreak in French Polynesia, November 2013 to February 2014. *Euro Surveill*: 19:20761. 2015.
- Musso D, Gubler DJ. Zika virus. *Clin Microbiol Rev*: 29:487–524, 2016.
- Musso D, Lanteri MC. Emergence of Zika virus: where does it come from and where is it going to? *Lancet Infect Dis*: 17: 255, 2017.
- Neu N, Duchon J, Zachariah P. TORCH infections. *Clin Perinatol*; 42(1):77–103, 2015.
- Nicastri E, Castilletti C, Liuzzi G, et al. Persistent detection of Zika virus RNA in semen for six months after symptom onset in a traveller returning from Haiti to Italy, February 2016. *Eurosurveillance*. 21: 30314. 2016.

Noronha Ld, Zanluca C, Azevedo ML, Luz KG and Santos CN. Zika virus damages the human placental barrier and presents marked fetal neurotropism. *Mem Inst Oswaldo Cruz*; 111: 287-293, 2016.

Nowak, T., Farber, P.M., Wengler, G. Analyses of the terminal sequences of West Nile virus structural proteins and of the in vitro translation of these proteins allow the proposal of a complete scheme of the proteolytic cleavages involved in their synthesis. *Virology*: 169, 365–376, 1989.

Nowakowski TJ, Pollen AA, Di Lullo E, Sandoval-Espinosa C, Bershteyn M, Kriegstein AR. Expression analysis highlights AXL as a candidate Zika virus entry receptor in neural stem cells. *Cell Stem Cell*. 18:591–6. 2016.

Oehler E, Watrin L, Larre P, Leparç-Goffart I, Lastère S, Valour F, Baudouin L, Mallet H P, Musso D, Ghawche F. Zika virus infection complicated by Guillain-Barré syndrome – case report, French Polynesia, December 2013. *Euro Surveill*: 19(9): 2014.

Olagnier D, Amatore D, Castiello L, Ferrari M, Palermo E, Diamond MS, Palamara AT, Hiscott J. Dengue Virus Immunopathogenesis: Lessons Applicable to the Emergence of Zika Virus. *J Mol Biol*: 428:3429–3448, 2016.

Oliveira, D. B., Almeida, F. J., Durigon, E. L., Mendes, ÉA., Braconi, C. T., Marchetti, I. Prolonged shedding of Zika virus associated with congenital infection. *N. Engl. J. Med.* 375, 1202–1204, 2016.

Oliveira Melo AS, Malinger G, Ximenes R, Szejnfeld PO, Alves Sampaio S, Bispo de Filippis AM. Zika virus intrauterine infection causes fetal brain abnormality and microcephaly: tip of the iceberg? *Ultrasound Obstet Gynecol*: 47: 6-7, 2016.

Oliveira Souto I, Alejo-Cancho I, Gascón Brustenga J, Peiró Mestres A, Muñoz Gutiérrez J, Martínez Yoldi MJ. Persistence of Zika virus in semen 93 days after the onset of symptoms. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2016.

Olson JG, Ksiazek TG, Suhandiman, Triwibowo. Zika virus, a cause of fever in Central Java, Indonesia. *Trans R Soc Trop Med Hyg*: 75:389-93, 1981.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. Guidelines for surveillance of Zika virus disease and its complications. Washington, D.C, 2016. Disponível em: Acesso em: 06 dez. 2017.

Pantoja P, Pérez-Guzmán EX, Rodríguez IV, White LJ, Gonzalez O, Serrano C, Giavedoni L, Hodara V, Cruz L, Arana T, Martinez MI, Hassert MA, Brien JD, Pinto AK, Silva A, Sariol CA. Zika virus pathogenesis in rhesus macaques is unaffected by pre-existing immunity to dengue virus. *Nat Commun*: 8:15674, 2017.

- Paupy C, Delatte H, Bagny L, Corbel V, Fontenille D. *Aedes albopictus*, an arbovirus vector: from the darkness to the light. *Microbes Infect* 11:1177–1185, 2009.
- Paz-Bailey G, Rosenberg ES, Doyle K, Munoz-Jordan J, Santiago GA, Klein L, Perez-Padilha J, Medina FA, Waterman SH, Gubern CG, Alvarado LI, Sharp T. Persistence of Zika virus in body fluids—preliminary report. *N Engl J Med*. 2017.
- Pazos M, Sperling RS, Moran TM, Kraus TA. The influence of pregnancy on systemic immunity. *Immunol Res*; 54:254–61, 2012
- Persaud, M.; Martinez-Lopez, A.; Buffone, C.; Porcelli, S.A.; Diaz-Griffero, F. Infection by zika viruses requires the transmembrane protein AXL, endocytosis and low ph. *Virology*: 518, 301–312, 2018.
- Pettersen, L. R., Jamieson, DJ, Honein, M. A. Zika virus. *N. Engl. J.Med.* 374, 1552–1563. 2016.
- Pierson, T.C. and Diamond, M.S. Degrees of maturity: the complex structure and biology of flaviviruses. *Curr. Opin. Virol.* 2, 168–175. 2012.
- Pierson, TC, Diamond, MS in *Fields Virology*, Vol. 2 (eds. Knipe, D.M. & Howley, P.) 747–794 (Wolters Kluwer, 2013).
- Pinto VL Jr., Luz K, Parreira R, Ferrinho P. Zika virus: a review to clinicians. *Acta Med Port.* 28:760–765, 2015.
- Plourde, A. R., and Bloch, E. M. A literature review of Zika virus. *Emerg. Infect. Dis.* 22, 1185–1192. 2016.
- Pond WL. Arthropod-borne virus antibodies in sera from residents of South-East Asia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 57:364–371, 1963.
- Prisant, N., Bujan, L., Benichou, H., Hayot, P.H., Pavili, L., Lurel, S., Herrmann, C., Janky, E., and Joguet, G. Zika virus in the female genital tract. *Lancet Infect. Dis.*, S1473-3099(16)30193-1, 2016.
- Priyamvada L, Quicke KM, Hudson WH, Onlamoon N, Sewatanon J, Edupuganti S, Pattanapanyasat K, Chokephaibulkit K, Mulligan MJ, Wilson PC, Ahmed R, Suthar MS, Wrammert J. Human antibody responses after dengue virus infection are highly cross-reactive to Zika virus. *Proc Natl Acad Sci U S A*: 113:7852–7, 2016.
- Quicke, K.M., Bowen, J.R., Johnson, E.L., McDonald, C.E., Ma, H., O’Neal, J.T., Rajakumar, A., Wrammert, J., Rimawi, B.H., Pulendran, B., Schinazi RF, Chakraborty

R, Suthar MS. Zika virus infects human placental macrophages. *Cell Host Microbe* 20, 1–8, 2016.

Richner JM, Jagger BW, Shan C. Vaccine Mediated Protection Against Zika Virus-Induced Congenital Disease. *Cell*; 170(2): 273–283.e12, 2017.

Roth A, Mercier A, Lepers C, Hoy D, Duituturaga S, Benyon E, Guillaumot L, Souares Y. Concurrent outbreaks of dengue, chikungunya and Zika virus infections - an unprecedented epidemic wave of mosquito-borne viruses in the Pacific 2012–2014. *Euro Surveill.*;19(41). 2014.

Saiz, JC, Vázquez-Calvo, Á, Blázquez, AB., Merino-Ramos, T., Escribano-Romero, E., and Martín-Acebes, MA. Zika virus: the latest newcomer. *Front. Microbiol.* 7:496, 2016.

Salvador FS, Fujita DM. Entry routes for Zika virus in Brazil after 2014 world cup: new possibilities. *Travel Med Infect Dis*: 14(1):49-5, 2015.

Schwartz DA. The origins and emergence of Zika virus, the newest TORCH infection: what's old is new again. *Arch Pathol Lab Med* : 141:18–25, 2017.

Sharma, A.; Lal, S.K. Zika Virus: Transmission, Detection, Control, and Prevention. *Front. Microbiol.* 8, 110, 2017.

Shankar A, Patil AA, Skariyachan S. Recent Perspectives on Genome, Transmission, Clinical Manifestation, Diagnosis, Therapeutic Strategies, Vaccine Developments, and Challenges of Zika Virus Research. *Front. Microbiol.* 8:1761, 2017.

Sheridan MA, Yunusov D, Balaraman V, Alexenko AP, Yabe S, Verjovski-Almeida S, Schust DJ, Franz AW, Sadovsky Y, Ezashi T and Roberts RM. Vulnerability of primitive human placental trophoblast to Zika virus. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 114: E1587-E1596, 2017.

Smit, J.M.; Moesker, B.; Rodenhuis-Zybert, I.; Wilschut, J. Flavivirus cell entry and membrane fusion. *Viruses*: 3, 160–171, 2011.

Simpson DI. Zika virus infection in man. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 58:335–338, 1964.

Smithburn KC, Kerr JA, Gatne PB. Neutralizing antibodies against certain viruses in the sera of residents of India. *J Immunol*: 72: 248–257, 1954.

Smithburn KC. Neutralizing antibodies against certain recently isolated viruses in the sera of human beings residing in East Africa. *J Immunol*: 69:223–234, 1952.

Song BH, Yun SI, Woolley M, Lee YM. Zika virus: history, epidemiology, transmission, and clinical presentation. *J Neuroimmunol.*;308: 50–64, 2017.

Sotelo JR, Sotelo AB, Sotelo FJ, Doi AM, Pinho JR, Oliveira RC, Bezerra AM, Deutsch AD, Villas-Boas LS, Felix AC, Romano CM, Machado CM, Mendes-Correa MC, Santana RA, Menezes FG, Manguera CL. Persistence of Zika virus in breast milk after infection in late stage of pregnancy. *Emerg Infect Dis*, 2017.

Souza WV de, Araújo TVB de, Albuquerque M de FPM, Braga MC, Ximenes RA de A, Miranda-Filho D de B. Microcefalia no Estado de Pernambuco, Brasil: características epidemiológicas e avaliação da acurácia diagnóstica dos pontos de corte adotados para notificação de caso. *Cad Saude Publica*: 32:1–7, 2016.

Souza WV, Albuquerque MFPM, Vazquez E, Bezerra LCA, Mendes ADCG, Lyra TM, Araujo TVB, Oliveira ALS, Brago MC, Ximenes RAA, Miranda-Filho DB, Cabral Silva APS, Rodrigues L, Martelli CMT. Microcephaly epidemic related to the Zika virus and living conditions in Recife, Northeast Brazil. *BMC Public Health*: 18:130, 2018.

Stadler, K, Allison, S.L, Schalich, J, Heinz, F.X. Proteolytic activation of tick-borne encephalitis virus by furin. *J. Virol*: 71, 8475–8481, 1997.

Staples JE, Dziuban EJ, Fischer M, Cragan JD, Rasmussen SA, Cannon MJ. Interim guidelines for the evaluation and testing of infants with possible congenital Zika virus infection-United States. *MMWR*; 65(3): 1-5. 2016

Stettler, K, Beltramello, M, Espinosa, DA, Graham, V, Cassotta, A, Bianchi, S, Vanzetta, F, Minola, A, Jaconi, S, Mele, F, Foglierini M, Pedotti M, Simonelli L, Dowall S, Atkinson B, Percivalle E, Simmons CP, Varani L, Blum J, Baldanti F, Camerani E, Hewson R, Harris E, Lanzavecchia A, Sallusto F, Corti D. Specificity, crossreactivity, and function of antibodies elicited by Zika virus infection. *Scien* 353, 823–826. 2016

Sumathy K, Kulkarni B, Gondu RK. Protective efficacy of Zika vaccine in AG129 mouse model. *Sci Rep*; 7: 46375, 2017.

Suy A, Sulleiro E, Rodó C, Vázquez É, Bocanegra C, Molina I. Prolonged Zika virus viremia during pregnancy. *N Engl J Med*; 375:2611–3, 2016.

Tan, JLL, Balne, PK, Leo, YS, Tong, L, Ng, LFP, Agrawal, R. Persistence of Zika virus in conjunctival fluid of convalescence patients. *Scientific Reports*.11194,7, 2017.

Tang H, Hammack C, Ogden SC, Wen Z, Qian X, Li Y. Zika virus infects human cortical neural progenitors and attenuates their growth. *Cell Stem Cell*. 2016.

Tabata T, Pettitt M, Puerta-Guardo H, Michlmayr D, Wang C, Fang-Hoover J, Harris E and Pereira L. Zika virus targets different primary human placental cells, suggesting two routes for vertical transmission. *Cell Host Microb*: 20: 155-166, 2016.

Terzian, A. C. B. *et al.* Long-Term Viruria in Zika Virus-Infected Pregnant Women, Brazil, 2016. *Emerg Infect Dis* 23, 1891–1893, 2017.

Tham H-W, Balasubramaniam V, Ooi MK and Chew M-F. Viral Determinants and Vector Competence of Zika Virus Transmission. *Front. Microbiol.* 9:1040, 2018.

Thomas S, Obermayr U, Fischer D, Kreyling J, Beierkuhnlein C. Low-temperature threshold for egg survival of a post-diapause and non-diapause European aedine strain, *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Parasites & Vectors* 5:100, 2012.

Thomas, D.L., Sharp, T.M., Torres, J., Armstrong, P.A., Munoz-Jordan, J., Ryff, K.R., MartinezQuinones, A., Arias-Berrios, J., Mayshack, M., Garayalde, G.J., Saavedra, S., Luciano, C.A., Valencia-Prado, M., Waterman, S., Rivera-Garcia, B., 2016. Local Transmission of Zika Virus - Puerto Rico, November 23, 2015-January 28. *MMWR*: 154-158, 2016.

Tognarelli J, Ulloa S, Villagra E, Lagos J, Aguayo C, Fasce R, Parra B, Mora J, Becerra N, Lago N, Vera L, Olivares B, Vilches M, Fernandez J. A report on the outbreak of Zika virus on Easter Island, South Pacific, 2014. *Arch Virol*: 161(3):665-8, 2015.

Tripp RA, Ross TM. Development of a Zika vaccine. *Expert Rev Vaccines*. 15:1083–1085. 2016.

Tsetsarkin KA, Kenney H, Chen R, Liu G, Manukyan H, Whitehead SS, Laassri M, Chumakov K, Pletnev AG. A full-length infectious cDNA clone of Zika virus from the 2015 epidemic in Brazil as a genetic platform for studies of virus-host interactions and vaccine development. *mBio*: 7: e01114, 2016.

van Meer MPA, Mogling R, Klaasse J, Chandler FD, Pas SD, van der Eijk AA, Koopmans MPG, Reusken CBEM, GeurtsvanKessel CH. Re-evaluation of routine dengue virus serology in travelers in the era of Zika virus emergence. *J Clin Virol*; 92: 25–31. 2017.

Ventura CV, Maia M, Dias N, Ventura LO, Belfort R Jr. Zika: neurological and ocular findings in infant without microcephaly. *Lancet*. 387(10037):2502, 2016.

Wang E, Ni H, Xu R, et al. Evolutionary relationships of endemic/epidemic and sylvatic dengue viruses. *J Virol*; 74: 3227–34, 2000.

Wang L, Valderramos SG, Wu A, Ouyang S, Li C, Brasil P, Bonaldo M, Coates T, Nielsen-Saines K, Jiang T, AliyRI r, Cheng G. From mosquitos to humans: genetic evolution of Zika virus. *Cell Host Microbe*: 19: 561–565, 2016.

Wang A, Thurmond S, Islas L, Hui K, Hai R. Zika virus genome biology and molecular pathogenesis. *Emerg Microbes Infect*: 6: e13, 2017.

Weaver SC, Reisen WK. Present and future arboviral threats. *Antiviral Res*: 85:328–345. 2010.

Weinbren MP, Williams MC. Zika virus: further isolations in the Zika area, and some studies on the strains isolated. *Trans R Soc Trop Med Hyg*: 52(3): 263–268, 1958.

Weisblum Y, Oiknine-Djian E, Vorontsov O, Haimov-Kochman R, Zakay-Rones Z, Meir K, Shveiky D, Elgavish S, Nevo Y, Roseman M, et al. Zika virus infects early- and midgestation human maternal decidual tissues, inducing distinct innate tissue responses in the maternal-fetal. *J Virol*; 91:e01905-16, 2017.

Wengler G, Wengler G. The NS3 nonstructural proteins of flaviviruses contains an RNA triphosphatase activity. *Virology* 197(1): 265-273, 1993.

Westaway, E. G., Khromykh, A. A., Kenney, M. T., Mackenzie, J. M., and Jones, M. K. Proteins C and NS4B of the flavivirus Kunjin translocate independently into the nucleus. *Virology* 234, 31–41, 1997.

White, M.A.; Liu, D.; Holbrook, M.R.; Shope, R.E.; Barrett, A.D.T.; Fox, R.O. Crystallization and preliminary X-ray diffraction analysis of Langkat virus envelope protein domain III. *Acta Crystallogr. D Biol. Crystallogr*: 59, 1049–1051, 2010.

World Health Organization. Pacific syndromic surveillance report., 2015.

World Health Organization. Zika situation report: neurological syndrome and congenital anomalies. Feb 5. 2016a. Disponível: Acessado 03 dez 17 <<http://www.who.int/emergencies/zika-virus/situation-report/5-february-2016/en/>>

World Health Organization –WHO. Laboratory testing for Zika virus infection. 2016b. Disponível: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204671/WHO_ZIKV_LAB_16.1_eng.pdf?sequence=1> Acessado 25/08/18.

WHO, 2017. WHO vaccine pipeline tracker. http://www.who.int/immunization/research/vaccine_pipeline_tracker_spreadsheet/en/ (Acessado 25 de agosto de 2018)

Ye, Q, Liu, ZY., Han, JF., Jiang, T., Li, XF, Qin, CF. Genomic characterization and phylogenetic analysis of Zika virus circulating in the Americas. *Infect. Genet. Evol*: 43, 43–49, 2016.

Young PR, Hilditch PA, Bletchly C, Halloran W. An antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay reveals high levels of the dengue virus protein NS1 in the sera of infected patients. *J Clin Microbiol*: 38:1053–1057, 2000.

Yuan, L., Huang, X.-Y., Liu, Z.-Y., Zhang, F., Zhu, X.-L., Yu, J.-Y., ... Qin, C.-F. A single mutation in the prM protein of Zika virus contributes to fetal microcephaly. *Science*: 358(6365), 933–936, 2017.

Yun, S.I. and Lee, Y.M. Japanese encephalitis virus: molecular biology and vaccine development. *Molecular biology of the flavivirus*. Horizon Scientific Press, Norwich, UK: pp. 225–271, 2006.

ANEXOS

Anexo 1 – Parecer do Comitê de Ética



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Aspectos epidemiológicos, clínicos, virológicos e imunológicos da infecção pelo Zika vírus em Goiás.

Pesquisador: Marília Dalva Turchi

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 64534017.7.0000.5083

Instituição Proponente: Universidade Federal de Goiás - UFG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.987.434

Apresentação do Projeto:

A presente proposta de pesquisa está estruturada em dois subprojetos direcionados para a investigação dos aspectos clínico-epidemiológicos, virológicos e de imunidade humoral relacionados com a infecção pelo Zika vírus (ZIKV) em Goiás, a saber:

Subprojeto 1: Risco de ocorrência da síndrome de zika Congênita e caracterização do zika vírus em gestantes, no Estado de Goiás.

Subprojeto 2: Investigação genômica e proteômica do vírus zika em área com co- circulação de arbovírus.

Objetivo da Pesquisa:

Subprojeto 1: Estimar o risco de desfechos desfavoráveis na gestação e de alterações congênitas nos conceitos de gestantes expostas ao Zika vírus (ZIKV).

Subprojeto 2: Investigar o perfil genômico, filodinâmico e proteômico do vírus zika isolado a partir de amostras biológicas de pacientes atendidos em unidades de saúde, caracterizadas como unidades de vigilância sentinela para arboviroses, em Goiânia, Goiás.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

De acordo com os pesquisadores, no subprojeto 1 os procedimentos preconizados fazem parte

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131
Bairro: Campus Samambaia **CEP:** 74.001-970
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 **Fax:** (62)3521-1163 **E-mail:** cep.prpi.ufg@gmail.com



UFG - UNIVERSIDADE
FEDERAL DE GOIÁS



Continuação do Parecer: 1.987.434

das recomendações do Ministério da Saúde para diagnóstico e acompanhamento de gestantes e recém-nascidos com suspeita de infecção pelo ZIKV e não trazem riscos às gestantes e seus conceptos. As gestantes serão orientadas sobre todos os procedimentos propostos, de forma a minimizar potenciais riscos a relacionados com stress emocional. Poderá ocorrer eventual risco de hematomas (manchas roxas) em local de punção para coleta de sangue., mas isso esta destacado no projeto. O questionário não envolve perguntas que possam causar constrangimento a participante. Sub projeto 2: Eventual risco de hematomas (manchas roxas) em local de punção para coleta de sangue, o que também esta destacado no projeto. Quanto aos benefícios:

Subprojeto 1. Além dos cuidados preconizados na rotina de atendimento, as gestantes e os conceptos receberão cuidados adicionais relacionados as visitas periódicas e exames complementares. Os participantes receberão orientações e explicações adicionais sobre infecção pelo Zika virus e suas repercussões. Os participantes serão orientados por profissionais de saúde, devidamente preparados para essa finalidade. Os participantes também receberão todos os resultados dos seus exames, juntamente com orientações específicas. Subprojeto 2. Investigação será realizada dentro do contexto de vigilância virológica. Os exames laboratoriais a serem realizados pela presente proposta, referentes à investigação molecular dos arbovírus pesquisados representará um retorno prático e direto aos órgãos de gestão e em especial à população diretamente afetada, por meio da entrega dos resultados obtidos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo que visa investigar os aspectos epidemiológicos, clínicos, virológicos e imunológicos da infecção pelo vírus zika em Goiás, o qual esta subdividido em dois estudos (subprodutos).

No subprojeto 1 serão analisadas, de forma retrospectiva e prospectiva, gestantes com doença exantemática sugestiva de infecção pelo ZIKV, identificadas a partir das notificações para a Secretaria Municipal de Goiânia (SMS) e Secretaria de Estado da Saúde de Goiás (SES). Amostra estimada em 1.000 gestantes com doença exantemática durante a gestação

Período para inclusão será: a) retrospectivo: janeiro de 2016 a março de 2017; b) prospectivo: abril de 2017 a fevereiro de 2019.

As participantes serão acompanhadas desde o aparecimento do quadro exantemático até o final da gestação (abortamento ou parto). Os recém-nascidos de mulheres participantes do estudo serão acompanhados até o final do período neonatal (28 dias de vida). As gestantes serão acompanhadas nos serviços de saúde onde realizarem o pré-natal de rotina. Coleta de dados e de material biológico (sangue, urina e saliva) fora dos períodos previstos das consultas de pré-natal.

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131
Bairro: Campus Samambaia **CEP:** 74.001-970
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 **Fax:** (62)3521-1163 **E-mail:** cep.prpi.ufg@gmail.com



UFG - UNIVERSIDADE
FEDERAL DE GOIÁS



Continuação do Parecer: 1.987.434

serão realizadas no domicílio da gestante. Coleta de dados e de material biológico da participante e do conceito serão coletados nos hospitais/maternidades onde ocorrer o parto ou abortamento.

Seguimento e coleta de dados e de material biológico ocorrerá durante o período gestacional. As participantes responderam a um questionário sobre a condição sócio demográfica e características da infecção e será realizada pelo menos duas ultrassonografias. Com relação ao conceito, logo após o nascimento serão coletados dados clínicos e amostras de sangue de cordão, sangue periférico e fragmentos de placenta. Quando houver indicação clínica, será realizada coleta de Líquor cefalorraquidiano. Será realizado ultrassom (US) transfontanela para todos os RN e tomografia de crânio (TC) ou Ressonância Magnética (RM) para os RN que apresentarem alterações neurológicas. Fetos ou natimortos serão coletados fragmentos de vísceras.

Para o grupo de gestantes com doença exantemática notificadas entre janeiro de 2016 a março de 2017 (coorte retrospectiva) serão utilizados dados secundários (SINAN, SINASC e revisão de prontuários e entrevistas).

O TCLE está adequado, bem estruturado e contempla todos os itens das diretrizes éticas. A recomendação de que o TCLE e TALE estivessem em papel timbrado foi atendida.

O subprojeto 2 avaliará participantes com suspeita clínica de infecção pelo vírus Zika (quadro exantemático agudo), atendidos em unidades da rede pública de saúde do município de Goiânia, Goiás. Serão incluídos participantes da demanda espontânea de unidades de saúde, consideradas como unidades de vigilância sentinela pela SMS, atendidos entre abril de 2017 a junho de 2020. Os participantes serão atendidos na rotina dos serviços de saúde e em consonância com as diretrizes e protocolos do Ministério da Saúde e da SMS de Goiânia. O preenchimento da ficha de notificação/investigação será feito por profissional de saúde da unidade notificadora. Este subprojeto é uma parceria estabelecida por meio de um Termo de Cooperação Técnica entre a Secretaria Municipal de Saúde de Goiânia, Goiás e o Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás. Por se tratar de um estudo desenvolvido em cooperação com a Secretaria Municipal de Saúde, o pesquisador solicita a dispensa do uso do TCLE, uma vez que as amostras a serem coletadas referem-se a pacientes atendidos na rotina dos serviços de saúde, selecionados como unidades de vigilância sentinela para arbovírus (Dengue, Chikungunya ou Zika). Sendo assim, os exames laboratoriais a serem realizados pela presente proposta, referentes à investigação molecular dos arbovírus pesquisados, constitui uma solicitação da SMS e representará um retorno prático e direto aos órgãos de gestão e em especial à população diretamente afetada, por meio da entrega dos resultados obtidos. O recrutamento das participantes será realizado em diversas unidades de saúde, entre elas o Hospital Materno Infantil, cuja anuência será enviada

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131
Bairro: Campus Samambaia **CEP:** 74.001-970
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 **Fax:** (62)3521-1163 **E-mail:** cep.prpl.ufg@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.987.434

posteriormente, segundo a pesquisadora responsável. Para as demais Instituições, os termos de anuência foram apresentados.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos necessários a apreciação ética foram apresentados, conforme anexo.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado

Considerações Finais a critério do CEP:

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa/CEP-UFG considera o presente protocolo APROVADO, o mesmo foi considerado em acordo com os princípios éticos vigentes. Reiteramos a importância deste Parecer Consubstanciado, e lembramos que o(a) pesquisador(a) responsável deverá encaminhar ao CEP-UFG o Relatório Final baseado na conclusão do estudo e na incidência de publicações decorrentes deste, de acordo com o disposto na Resolução CNS n. 466/12. O prazo para entrega do Relatório é de até 30 dias após o encerramento da pesquisa, prevista para dezembro 2021.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Outros	Termo_Anuencia_HMI.pdf	28/03/2017 17:28:40	João Batista de Souza	Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_853158.pdf	24/03/2017 14:50:51		Aceito
Outros	Carta_atendimento_pendencias.pdf	24/03/2017 14:50:23	Fabiola Souza Fiaccadori	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_maior18_Subprojeto1_Versao2.pdf	24/03/2017 14:49:18	Fabiola Souza Fiaccadori	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TALE_menor18_Subprojeto1_Versao2.pdf	24/03/2017 14:49:03	Fabiola Souza Fiaccadori	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Responsavel_Subprojeto1_Versao2.pdf	24/03/2017 14:48:20	Fabiola Souza Fiaccadori	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Termo_Compromisso.pdf	08/02/2017 09:23:55	Fabiola Souza Fiaccadori	Aceito

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131
Bairro: Campus Samambaia **CEP:** 74.001-970
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 **Fax:** (62)3521-1163 **E-mail:** cep.prpl.ufg@gmail.com



Continuação do Parecer: 1.987.434

Declaração de Instituição e Infraestrutura	TermoAnuencia_MNC.pdf	03/02/2017 11:09:20	Marília Dalva Turchi	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	TermoAnuencia_HMDI.pdf	03/02/2017 11:09:07	Marília Dalva Turchi	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	TermoAnuencia_SMS.pdf	03/02/2017 11:08:53	Marília Dalva Turchi	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Cooperacao_SMS e UFG.pdf	03/02/2017 11:08:24	Marília Dalva Turchi	Aceito
Outros	Declaracao_Subprojeto1.pdf	03/02/2017 11:07:41	Marília Dalva Turchi	Aceito
Outros	Questionario_Subprojeto1.pdf	03/02/2017 11:06:40	Marília Dalva Turchi	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Justificativa_DispensaTCLE_Subprojeto 2.pdf	03/02/2017 11:05:14	Marília Dalva Turchi	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	03/02/2017 11:02:17	Marília Dalva Turchi	Aceito
Folha de Rosto	Folha_Rosto.pdf	03/02/2017 11:01:48	Marília Dalva Turchi	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

GOIANIA, 28 de Março de 2017

Assinado por:
João Batista de Souza
(Coordenador)

Endereço: Prédio da Reitoria Térreo Cx. Postal 131
Bairro: Campus Samambala **CEP:** 74.001-970
UF: GO **Município:** GOIANIA
Telefone: (62)3521-1215 **Fax:** (62)3521-1163 **E-mail:** cep.prpl.ufg@gmail.com

Anexo 2 – TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Pesquisa: coorte de gestantes com exantema

Você está sendo convidada a participar, como voluntária, da pesquisa intitulada “Risco de ocorrência da síndrome de zika Congênita e caracterização do zika virus em gestantes, no estado de Goiás”. Meu nome é Marília Dalva Tuchi, sou médica e pesquisadora responsável, minha área de atuação é em doenças infecciosas. Após receber os esclarecimentos e as informações a seguir, se você aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está impresso em duas vias, sendo que uma delas é sua e a outra pertence à pesquisadora responsável. Esclareço que em caso de recusa na participação você não será penalizada de forma alguma. Mas se aceitar participar, as dúvidas *sobre a pesquisa* poderão ser esclarecidas, via e-mail pesquisa.gestantes@gmail.com ou sob forma de ligação a cobrar, através do seguinte contato telefônico (62) 3209-6122. Ao persistirem as dúvidas *sobre os seus direitos* como participante desta pesquisa, você também poderá fazer contato com o **Comitê de Ética em Pesquisa** da Universidade Federal de Goiás, pelo telefone (62)3521-1215.

1. Informações sobre a Pesquisa:

Essa pesquisa tem por objetivo investigar as consequências da infecção pelo Zika vírus durante a gestação e o risco de desenvolvido de malformações congênitas, nos recém-nascidos.

O Zika vírus é habitualmente transmitido pela picada de um mosquito. O mesmo mosquito que transmite dengue e chikungunya. Os sintomas mais comuns da infecção pelo Zika vírus são febre, manchas no corpo, dor no corpo, dor nas juntas e olhos avermelhados, mas a maioria das pessoas não apresentam nenhum sintoma. Quando a infecção pelo Zika vírus acontece durante a gestação a criança tem risco de nascer com alguns problemas de saúde, incluindo microcefalia. A

microcefalia significa que a cabeça do recém-nascido é menor do que a de outros da mesma idade e sexo.

Procedimentos:

Ao participar dessa pesquisa, nesse primeiro momento, você vai precisar responder a um questionário com perguntas sobre essa gravidez, medicamentos que usou durante esse período, as condições em que você vive, características do exantema (manchas vermelhas) no corpo, ou outros problemas de saúde que você tem ou teve.

Vai ser necessário coletar sangue de sua veia e urina para fazer o exame do vírus Zika e outros vírus transmitidos por mosquitos. O exame de sangue vai ser feito usando agulha e tubo de coleta descartáveis. Serão coletados 20 ml (que corresponde a duas colheres de sopa) de sangue. Esse procedimento pode causar um leve desconforto, como dor no local da punção, e, raramente, pode levar ao aparecimento de uma mancha roxa ao redor da picada (hematoma). Será coletado 20 ml de urina em recipiente estéril, quando do início da sua participação no estudo. A coleta de urina não causa nenhuma dor ou desconforto.

Será realizado exame de ultrassonografia abdominal. Esse exame faz parte do acompanhamento rotineiro do pré-natal de gestantes. São recomendadas duas ultrassonografias, uma no início e outra no final da gravidez. Caso ainda não tenham sido realizadas, serão providenciadas pela pesquisa.

Você fará as suas consultas habituais na rotina do seu pré-natal. Adicionalmente, à partir da primeira entrevista, uma vez a cada três meses e no final da gestação, você será procurada pela equipe de pesquisa para responder alguns questões sobre a evolução da gestação, sobre medicamentos que usou, sobre problemas de saúde que você teve e sobre o parto e o recém-nascido.

O parto e o atendimento do seu bebê serão feitos na rotina dos serviços de saúde. Após o parto, será realizado um exame de ultrassonografia e exame de tomografia da cabeça do seu bebê. Também será necessário coletar 2ml

sangue e 2ml de urina do bebê nas primeiras 24h de vida. A coleta de sangue pode causar um desconforto, como dor no local da punção, e, raramente, pode levar ao aparecimento de uma mancha roxa ao redor da picada (hematoma). A coleta de urina pode causar um pequeno desconforto local. Esses procedimentos fazem parte das recomendações do Ministério da Saúde para acompanhamento dos recém-nascidos de mães com suspeita de zika.

Ao participar da pesquisa, você tem garantido os seguintes direitos:

1. De ter resposta a qualquer dúvida sobre os procedimentos, riscos e benefícios relacionados com a pesquisa;
2. De retirar o seu consentimento e deixar de participar do estudo a qualquer momento, e isso não vai implicar em prejuízo de qualquer natureza para sua pessoa, seu bebê ou seus familiares.
3. Da segurança que você e seu bebê não serão identificados de nenhuma forma e garantindo a sua privacidade.
4. De que a sua participação na pesquisa é realizada de forma voluntária, ou seja, não haverá nenhum tipo de pagamento ou gratificação em adesão à mesma.
5. De ter as entrevistas realizadas por pessoal treinado, em local privativo, com perguntas feitas de modo a não causar constrangimento.
6. De não assumir qualquer despesa ao participar da pesquisa.
7. De saber os resultados dos exames feitos na amostra de urina e sangue da senhora. Os resultados desses exames serão entregues pessoalmente e não serão passados para outras pessoas. Caso o exame indique que você já teve Zika ou outra infecção viral, um dos membros da equipe de pesquisadores ou um dos profissionais de saúde do serviço fornecerá orientações sobre os resultados dos exames e as formas de prevenir uma nova infecção.
8. De ter garantido que, caso você seja diagnosticada com outras doenças ou agravos no momento da pesquisa, você será encaminhada para os serviços especializados.
9. De pleitear indenização diante de eventuais danos decorrentes de sua participação na pesquisa

Finalmente, solicitamos sua autorização para que o questionário respondido por você passe a fazer parte do banco de dados da pesquisa e que amostras biológicas possam ser estocadas no banco de amostras, sob a nossa guarda e que possam ser utilizadas em estudos de pesquisa médica ou educacional futuros, respeitando as mesmas garantias acima.

No caso de novos estudos serem planejados com a utilização de seu material biológico armazenado, a sua escolha é:

[] Solicito novo contato para autorizar

[] Autorizo a utilização do material guardado em outras pesquisa, sem necessidade de novo consentimento.

Se você concordar em participar desse estudo, pedimos que assine este documento, em duas vias, sendo uma delas de sua propriedade, afirmando que entendeu as explicações e que está de acordo.

Eu,, inscrito(a) sob o RG ou CPF, abaixo assinado, concordo em participar do estudo acima descrito. Informo ter mais de 18 anos de idade, e destaco que minha participação nesta pesquisa é de caráter voluntário. Fui, ainda, devidamente informada e esclarecida, pela pesquisadora responsável, sobre a pesquisa, os procedimentos e métodos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação no estudo. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade. Declaro, portanto, que concordo com a minha participação no projeto de pesquisa acima descrito.

Goiânia, de de

Assinatura por extenso do(a) participante

Assinatura por extenso do(a) pesquisador(a) responsável

TCLE –Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - Menores de 18 anos.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PUBLICA**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Pesquisa: coorte de gestantes com exantema

A menor, pela qual você é responsável, está sendo convidada a participar como voluntária, da pesquisa intitulada “Risco de ocorrência da síndrome de zika

Congênita e caracterização do zika virus em gestantes, no estado de Goiás”. Meu nome é Marília Dalva Tuchi, sou médica e pesquisadora responsável, minha área de atuação é em doenças infecciosas. Após receber os esclarecimentos e as informações a seguir, se você aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está impresso em duas vias, sendo que uma delas é sua e a outra pertence à pesquisadora responsável. Esclareço que em caso de recusa na participação você não será penalizada de forma alguma. Mas se aceitar participar, as dúvidas *sobre a pesquisa* poderão ser esclarecidas, via e-mail pesquisa.gestantes@gmail.com ou sob forma de ligação a cobrar, através do seguinte contato telefônico (62) 3209-6122. Ao persistirem as dúvidas *sobre os seus direitos* como participante desta pesquisa, você também poderá fazer contato com o **Comitê de Ética em Pesquisa** da Universidade Federal de Goiás, pelo telefone (62)3521-1215.

1. Informações sobre a Pesquisa:

Essa pesquisa tem por objetivo investigar as consequências da infecção pelo Zika vírus durante a gestação e o risco de desenvolvido de malformações congênicas, nos recém-nascidos.

O Zika vírus é habitualmente transmitido pela picada de um mosquito. O mesmo mosquito que transmite dengue e chikungunya. Os sintomas mais comuns da infecção pelo Zika vírus são febre, manchas no corpo, dor no corpo, dor nas juntas e olhos avermelhados, mas a maioria das pessoas não apresentam nenhum sintoma. Quando a infecção pelo Zika vírus acontece durante a gestação a criança tem risco de nascer com alguns problemas de saúde, incluindo microcefalia. A microcefalia significa que a cabeça do recém-nascido é menor do que a de outros da mesma idade e sexo.

Procedimentos:

Ao participar dessa pesquisa, nesse primeiro momento, você vai precisar responder a um questionário com perguntas sobre essa gravidez, medicamentos que usou durante esse período, as condições em que você vive, características

do exantema (manchas vermelhas) no corpo, ou outros problemas de saúde que você tem ou teve.

Vai ser necessário coletar sangue de sua veia e urina para fazer o exame do vírus Zika e outros vírus transmitidos pelo mosquito. O exame de sangue vai ser feito usando agulha e tubo de coleta descartáveis. Serão coletados 20 ml (que corresponde a duas colheres de sopa) de sangue. Esse procedimento pode causar um leve desconforto, como dor no local da punção, e, raramente, pode levar ao aparecimento de uma mancha roxa ao redor da picada (hematoma). Será coletado 20 ml de urina em recipiente estéril, quando do início da sua participação no estudo. A coleta de urina não causa nenhuma dor ou desconforto.

Será realizado exame de ultrassonografia abdominal. Esse exame faz parte do acompanhamento rotineiro do pré-natal de gestantes. São recomendadas duas ultrassonografias, uma no início e outra no final da gravidez. Caso ainda não tenham sido realizadas, serão providenciadas pela pesquisa.

Você fará as suas consultas habituais na rotina do seu pré-natal. Adicionalmente, à partir da primeira entrevista, uma vez a cada três meses e no final da gestação, você será procurada pela equipe de pesquisa para responder alguns questões sobre a evolução da gestação, sobre medicamentos que usou, sobre problemas de saúde que você teve e sobre o parto e o recém-nascido.

O parto e o atendimento do seu bebê serão feitos na rotina dos serviços de saúde. Após o parto, será realizado um exame de ultrassonografia e exame de tomografia da cabeça do seu bebê. Também será necessário coletar 2ml sangue e 2ml de urina do bebê nas primeiras 24h de vida. A coleta de sangue pode causar um desconforto, como dor no local da punção, e, raramente, pode levar ao aparecimento de uma mancha roxa ao redor da picada (hematoma). A coleta de urina pode causar um pequeno desconforto local. Esses procedimentos fazem parte das recomendações do Ministério da Saúde para acompanhamento dos recém-nascidos de mães com suspeita de zika.

Ao participar da pesquisa, você tem garantido os seguintes direitos:

1. De ter resposta a qualquer dúvida sobre os procedimentos, riscos e benefícios relacionados com a pesquisa;
2. De retirar o seu consentimento e deixar de participar do estudo a qualquer momento, e isso não vai implicar em prejuízo de qualquer natureza para sua pessoa, seu bebê ou seus familiares.
3. Da segurança que você e seu bebê não serão identificados de nenhuma forma e garantindo a sua privacidade.
4. De que a sua participação na pesquisa é realizada de forma voluntária, ou seja, não haverá nenhum tipo de pagamento ou gratificação em adesão à mesma.
5. De ter as entrevistas realizadas por pessoal treinado, em local privativo, com perguntas feitas de modo a não causar constrangimento.
6. De não assumir qualquer despesa ao participar da pesquisa.
7. De saber os resultados dos exames feitos na amostra de urina e sangue da senhora. Os resultados desses exames serão entregues pessoalmente e não serão passados para outras pessoas. Caso o exame indique que você já teve Zika ou outra infecção viral, um dos membros da equipe de pesquisadores ou um dos profissionais de saúde do serviço fornecerá orientações sobre os resultados dos exames e as formas de prevenir uma nova infecção.
8. De ter garantido que, caso você seja diagnosticada com outras doenças ou agravos no momento da pesquisa, você será encaminhada para os serviços especializados.
9. De pleitear indenização diante de eventuais danos decorrentes de sua participação na pesquisa

Finalmente, solicitamos sua autorização para que o questionário respondido por você passe a fazer parte do banco de dados da pesquisa e que amostras biológicas possam ser estocadas no banco de amostras, sob a nossa guarda e que possam ser utilizadas em estudos de pesquisa médica ou educacional futuros, respeitando as mesmas garantias acima.

No caso de novos estudos serem planejados com a utilização de seu material biológico armazenado, a sua escolha é:

Solicito novo contato para autorizar

Autorizo a utilização do material guardado em outras pesquisa, sem necessidade de novo consentimento.

Consentimento do responsável pela gestante participante da pesquisa

Eu,, inscrito(a)
sob o RG ou CPF, responsável pela gestante participantes da
pesquisa, abaixo assinado,
autorizo a sua participação na pesquisa acima descrita. Fui, ainda, devidamente
informados(a) e esclarecido (a), pela pesquisadora responsável

....., sobre a pesquisa, os procedimentos e métodos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação no estudo. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade. Declaro, portanto, que concordo com a minha participação no projeto de pesquisa acima descrito.

Goiânia, de de

Assinatura por extenso do responsável pela gestante participante

Assinatura por extenso do(a) pesquisador(a) responsável

Anexo 3 – TALE –Termo de Assentimento Livre e Esclarecido

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA

TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Pesquisa: coorte de gestantes com exantema

Você está sendo convidada a participar, como voluntária, da pesquisa intitulada “Risco de ocorrência da síndrome de zika Congênita e caracterização do zika vírus em gestantes, no estado de Goiás”. Meu nome é Marília Dalva Tuchi, sou médica e pesquisadora responsável, minha área de atuação é em doenças infecciosas. Após receber os esclarecimentos e as informações a seguir, se você aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está impresso em duas vias, sendo que uma delas é sua e a outra pertence à pesquisadora responsável. Esclareço que em caso de recusa na participação você não será penalizada de forma alguma. Mas se aceitar participar, as dúvidas *sobre a pesquisa* poderão ser esclarecidas, via e-mail pesquisa.gestantes@gmail.com ou sob forma de ligação a cobrar, através do seguinte contato telefônico (62) 3209-6122. Ao persistirem as dúvidas *sobre os seus direitos* como participante desta pesquisa, você também poderá fazer contato com o **Comitê de Ética em Pesquisa** da Universidade Federal de Goiás, pelo telefone (62)3521-1215.

1. Informações sobre a Pesquisa:

Essa pesquisa tem por objetivo investigar as consequências da infecção pelo Zika vírus durante a gestação e o risco de desenvolvido de malformações congênitas, nos recém-nascidos.

O Zika vírus é habitualmente transmitido pela picada de um mosquito. O mesmo mosquito que transmite dengue e chikungunya. Os sintomas mais comuns da infecção pelo Zika vírus são febre, manchas no corpo, dor no corpo, dor nas juntas e olhos avermelhados, mas a maioria das pessoas não apresentam nenhum sintoma. Quando a infecção pelo Zika vírus acontece durante a gestação a criança tem risco de nascer com alguns problemas de saúde, incluindo microcefalia. A

microcefalia significa que a cabeça do recém-nascido é menor do que a de outros da mesma idade e sexo.

Procedimentos:

Ao participar dessa pesquisa, nesse primeiro momento, você vai precisar responder a um questionário com perguntas sobre essa gravidez, medicamentos que usou durante esse período, as condições em que você vive, características do exantema (manchas vermelhas) no corpo, ou outros problemas de saúde que você tem ou teve.

Vai ser necessário coletar sangue de sua veia e urina para fazer o exame do vírus Zika e outros vírus transmitidos por mosquitos. O exame de sangue vai ser feito usando agulha e tubo de coleta descartáveis. Serão coletados 20 ml (que corresponde a duas colheres de sopa) de sangue. Esse procedimento pode causar um leve desconforto, como dor no local da punção, e, raramente, pode levar ao aparecimento de uma mancha roxa ao redor da picada (hematoma). Será coletado 20 ml de urina em recipiente estéril, quando do início da sua participação no estudo. A coleta de urina não causa nenhuma dor ou desconforto.

Será realizado exame de ultrassonografia abdominal. Esse exame faz parte do acompanhamento rotineiro do pré-natal de gestantes. São recomendadas duas ultrassonografias, uma no início e outra no final da gravidez. Caso ainda não tenham sido realizadas, serão providenciadas pela pesquisa.

Você fará as suas consultas habituais na rotina do seu pré-natal. Adicionalmente, à partir da primeira entrevista, uma vez a cada três meses e no final da gestação, você será procurada pela equipe de pesquisa para responder alguns questões sobre a evolução da gestação, sobre medicamentos que usou, sobre problemas de saúde que você teve e sobre o parto e o recém-nascido.

O parto e o atendimento do seu bebê serão feitos na rotina dos serviços de saúde. Após o parto, será realizado um exame de ultrassonografia e exame de tomografia da cabeça do seu bebê. Também será necessário coletar 2ml sangue e 2ml de urina do bebê

nas primeiras 24h de vida. A coleta de sangue pode causar um desconforto, como dor no local da punção, e, raramente, pode levar ao aparecimento de uma mancha roxa ao redor da picada (hematoma). A coleta de urina pode causar um pequeno desconforto local. Esses procedimentos fazem parte das recomendações do Ministério da Saúde para acompanhamento dos recém-nascidos de mães com suspeita de zika.

Ao participar da pesquisa, você tem garantido os seguintes direitos:

1. De ter resposta a qualquer dúvida sobre os procedimentos, riscos e benefícios relacionados com a pesquisa;
2. De retirar o seu consentimento e deixar de participar do estudo a qualquer momento, e isso não vai implicar em prejuízo de qualquer natureza para sua pessoa, seu bebê ou seus familiares.
3. Da segurança que você e seu bebê não serão identificados de nenhuma forma e garantindo a sua privacidade.
4. De que a sua participação na pesquisa é realizada de forma voluntária, ou seja, não haverá nenhum tipo de pagamento ou gratificação em adesão à mesma.
5. De ter as entrevistas realizadas por pessoal treinado, em local privativo, com perguntas feitas de modo a não causar constrangimento.
6. De não assumir qualquer despesa ao participar da pesquisa.
7. De saber os resultados dos exames feitos na amostra de urina e sangue da senhora. Os resultados desses exames serão entregues pessoalmente e não serão passados para outras pessoas. Caso o exame indique que você já teve Zika ou outra infecção viral, um dos membros da equipe de pesquisadores ou um dos profissionais de saúde do serviço fornecerá orientações sobre os resultados dos exames e as formas de prevenir uma nova infecção.
8. De ter garantido que, caso você seja diagnosticada com outras doenças ou agravos no momento da pesquisa, você será encaminhada para os serviços especializados.
9. De pleitear indenização diante de eventuais danos decorrentes de sua participação na pesquisa

Finalmente, solicitamos sua autorização para que o questionário respondido por você passe a fazer parte do banco de dados da pesquisa e que amostras biológicas possam ser estocadas no banco de amostras, sob a nossa guarda e que possam ser utilizadas em estudos de pesquisa médica ou educacional futuros, respeitando as mesmas garantias acima.

No caso de novos estudos serem planejados com a utilização de seu material biológico armazenado, a sua escolha é:

[] Solicito novo contato para autorizar

[] Autorizo a utilização do material guardado em outras pesquisa, sem necessidade de novo consentimento.

Se você concordar em participar desse estudo, pedimos que assine este documento, em duas vias, sendo uma delas de sua propriedade, afirmando que entendeu as explicações e que está de acordo.

Eu,, inscrita sob o RG ou CPF, abaixo assinado, concordo em participar do estudo acima descrito. Informo ter entre 15 e 18 anos de idade, e destaco que minha participação nesta pesquisa é de caráter voluntário. Fui, ainda, devidamente informada e esclarecida, pela pesquisadora responsável, sobre a pesquisa, os procedimentos e métodos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação no estudo. Foi-me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade. Declaro, portanto, que concordo com a minha participação no projeto de pesquisa acima descrito.

Goiânia, de de

Assinatura por extenso do(a) participante

Assinatura por extenso do(a) pesquisador(a) responsável