



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
DEPARTAMENTO DE SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE COLETIVA**

**REPERCUSSÕES CLÍNICAS, EPIDEMIOLÓGICAS E SOCIAIS DAS INFECÇÕES
PELOS ARBOVÍRUS CHIKUNGUNYA E ZIKA EM UM MUNICÍPIO DA BAHIA**

MARICÉLIA MAIA DE LIMA

FEIRA DE SANTANA

2020

MARICÉLIA MAIA DE LIMA

**REPERCUSSÕES CLÍNICAS, EPIDEMIOLÓGICAS E SOCIAIS DAS INFECÇÕES
PELOS ARBOVÍRUS CHIKUNGUNYA E ZIKA EM UM MUNICÍPIO DA BAHIA**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva da Universidade Estadual de Feira de Santana – BA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutora em Saúde Coletiva.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Junior Alcântara.

Co-orientadora: Profa. Dr^a Erenilde Marques de Cerqueira.

FEIRA DE SANTANA

2020

Ficha catalográfica - Biblioteca Central Julieta Carteadó - UEFS

Lima, Maricélia Maia de

L699r Repercussões clínicas, epidemiológicas e sociais das infecções pelos arbovírus Chikungunya e Zika em um município da Bahia / Maricélia Maia de

Lima. - 2020.

250f.: il.

Orientador: Luiz Carlos Júnior Alcântara

Coorientadora: Erenilde Marques de Cerqueira

Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Feira de Santana.
Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva, 2020.

1. Vírus Zika. 2. Vírus Chikungunya. 3. Síndrome Congênita do Zika.
4. Arbovírus – Fatores ambientais e climáticos. 5. Desigualdades sociais.
I. Alcântara, Luiz Carlos Júnior, orient. II. Cerqueira, Erenilde Marques de,
coorient. III. Universidade Estadual de Feira de Santana. IV. Título.

CDU: 616.988

MARICÉLIA MAIA DE LIMA

**REPERCUSSÕES CLÍNICAS, EPIDEMIOLÓGICAS E SOCIAIS DAS INFECÇÕES
PELOS ARBOVÍRUS CHIKUNGUNYA E ZIKA EM UM MUNICÍPIO DA BAHIA**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva da Universidade Estadual de Feira de Santana – BA, como requisito parcial para a obtenção do grau de doutora em Saúde Coletiva.

Feira de Santana-BA, 09 de março de 2020.

BANCA EXAMINADORA

Presidente: PROF. DR. LUIZ CARLOS JUNIOR ALCANTARA (Fundação Oswaldo Cruz-FIOCRUZ – RJ)

Examinador: PROF. DR. ANDRÉ RICARDO RIBAS (Faculdade São Leopoldo Mandic e Departamento de Vigilância em Saúde da Secretaria de Saúde de Campinas)

Examinadora: PROF^a DR^a IEDA MARIA ORIOLI (UFRJ/Coordenadora da Rede Latino Americana de Malformações Congênitas – RELAMC)

Examinador: PROF. DR. JOSÉ LOURENÇO (Universidade de OXFORD-Reino Unido/Inglaterra)

Examinador: PROF. DR. RIVALDO VENÂNCIO DA CUNHA (FIOCRUZ – RJ e UFMG)

DEDICATÓRIA

*A minha querida mãe **Maria Maia**, ao meu querido pai **Manoel Cordeiro**, aos meus amados filhos **Marina** e **Julinho**, a meu esposo **Júlio Cesar**, aos meus irmãos amados **João**, **Leide**, **Ednilson**, **Edivan (em memória)**, **Manoel** e **Léa**, aos meus **sobrinhos** e **sobrinhas**.*

*A **minha família** linda, fonte de inspiração e felicidade.*

AGRADECIMENTOS

A **DEUS**, sempre presente em minha vida.

À Universidade Estadual de Feira de Santana, que me acolheu como aluna durante a graduação; como professora, após a conclusão do Curso de Enfermagem; e pela oportunidade de voltar como aluna do doutorado do Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva, oportunizando mais aprendizados e conquistas para a minha vida.

Às amigas e colegas do componente curricular Estágio Supervisionado I, do Curso de Enfermagem, pelo companheirismo e apoio na busca de mais um sonho.

Ao Núcleo de Pesquisa em Vigilância da Saúde (NUPEVS), pela participação no processo e na caminhada durante a realização da pesquisa.

Ao Instituto Gonçalo Muniz-Fiocruz-Bahia, pela parceria e oportunidade de convivência, e por ter me proporcionado crescimento intelectual e grande aprendizagem.

Aos pacientes, que de forma anônima contribuem para o avanço da ciência, de modo que os resultados da pesquisa possam ajudar no desenvolvimento de políticas públicas que favoreçam a população.

Ao meu Orientador, Prof. Dr. Luiz Carlos Junior Alcântara, por me acolher desde o primeiro contato; por compartilhar seus conhecimentos; pela cooperação, sabedoria e por me incentivar a seguir o caminho da pesquisa com ética e compromisso com a Saúde Pública.

À Prof^a Dr^a Erenilde Marques de Cerqueira, pelos ensinamentos, apoio nos momentos difíceis, competência, dedicação e pela oportunidade de tê-la como amiga e Co-orientadora.

Aos professores José Lourenço e Nuno Farias, e às professoras Isadora Siqueira e Marta Giovanetti, pelos ensinamentos e oportunidades.

Ao Dr. Rivaldo Venâncio da Cunha, Karen Trinta e Michel Sucupira, que estavam presentes desde o primeiro momento em que a população de Feira de Santana foi acometida pelo vírus Chikungunya, em 2014. Seremos gratos pelos ensinamentos e apoio nos momentos mais difíceis que passamos. Ao professor Rivaldo, que se tornou Cidadão Feirense, a nossa gratidão.

À Secretaria de Saúde de Feira de Santana e toda a equipe da Vigilância Epidemiológica (Eloisa, Neuza, Ana Luiza, Cristina, Flavia, Taciane, Tamyls, Antônio Mario, Thais Peixoto, Rita, Carol, Iracilda, Nelma, Fernanda, Aline, Rosemeire, Bruna, Charlene, Marcelo, Betânia, Francisca, Rafael, Karina, Gilzélia, Waldenice, Normeide, Sara e Melissa) e os colegas Waldson, Helineide e Aparecida, pela participação e ajuda durante todo o processo de coleta de dados da pesquisa, minimizando a carga laboral em momentos de grandes demandas com a tese.

Aos companheiros do curso do doutorado, pelos momentos compartilhados de angústia, conquistas e alegrias.

Aos coordenadores e queridos professores do curso, pelos ensinamentos. Serei eternamente grata e quero que saibam do meu profundo respeito.

Ao Professor Bessa, pelo incentivo, paciência, dedicação, conhecimento e ensinamentos nos momentos críticos e decisivos de interpretação dos dados.

Aos colegas Jaqueline Góes, Joílson Xavier, Stefane Tosta, Álvaro Salgado e Vagner Fonseca por colaborarem no processo de análise dos dados, pelas trocas de conhecimentos e de novas descobertas científicas.

Agradecimento a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) pelo apoio no financiamento da pesquisa.

A todos aqueles e aquelas que, de alguma forma, contribuíram para minha formação acadêmica.

Obrigada a todos e todas! Jamais esquecerei tudo o que fizeram por mim. A vocês, meu respeito e minha eterna gratidão!

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

% - Percentagem

[C] – Capsídeo

[E] – Envelope

[M] – Membrana

3' NTR – Região não traduzida 3'

5' NTR – Região não traduzida 5'

ACE – Agente Comunitário de Endemias

ACS – Agente Comunitário de Saúde

AIP – Ambulatório de Infectologia Pediátrica

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BA – Bahia

BLAST – *Basic Local Alignment Search Tool*

BDMEP – Repositório Aberto Brasileiro de Educação e Pesquisa

C – Capsídeo

CEP – Comitê de Ética em Pesquisa

CHIKV – Vírus Chikungunya

CNS – Conselho Nacional de Saúde

DENV – Vírus Dengue

DENV-1 – Vírus da dengue 1

DENV-2 – Vírus da dengue 2

DENV-3 – Vírus da dengue 3

DENV-4 – Vírus da dengue 4

DG – Dengue grave

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

E – Envelope

ECSA – Centro-Leste-Sul-Africano

EDTA – Ácido etileno-diamino tetracético

ELISA – Ensaio de imunoabsorção enzimática

ELISA – Ensaio imunoabsorvente enzima associado

EOAT – Emissões Otoacústicas Evocadas Transientes

EVA – Escala Analógica Visual

Hab. – Habitantes

HI – Inibição da Hemaglutinação

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IFI – Imunofluorescência Indireta

IgG – Imunoglobulina da classe G

IgM – Imunoglobulina da classe M

LACEN – Laboratório Central da Bahia

LAMASP – Laboratório de Microbiologia Aplicada a Saúde Pública

LCR – Líquido Cefalorraquidiano

M – Membrana

MCMC – Markov-Chain Monte Carlo

min – Minutos

mL – Mililitro

mM – Milimolar

M-N-PCR – Multiplex-Nested-Reação em Cadeia da Polimerase

mRNAs – Ácidos Ribonucleicos Mensageiros

MS – Ministério da Saúde

NASF – Núcleo de Apoio à Saúde da Família

NRS – Núcleo Regional de Saúde

NS1 – Proteína Não Estrutural 1

NS2A – Proteína Não Estrutural 2A

NS2B – Proteína Não Estrutural 2B

NS3 – Proteína Não Estrutural 3

NS4A – Proteína Não Estrutural 4A

NS4B – Proteína Não Estrutural 4B

NS5 – Proteína Não Estrutural 5

NTR – Região não traduzida

°C – Graus centígrados

OBI – Oftalmoscópio Binocular Indireto

ODE – Equações Diferenciais Ordinárias

OMS – Organização Mundial da Saúde

PC – Perímetro Cefálico

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

PNCD – Programa Nacional de Controle da Dengue

R0 – Número Reprodutivo

Re – Número Reprodutivo Efetivo

RCI – Restrições do Crescimento Intrauterino

RESP – Resposta de Emergência em Saúde Pública

RM – Ressonância Magnética

RMC – Ressonância Magnética do Crânio

RN – Rio Grande do Norte

RN – Recém-nascidos

RNA – Ácido Ribonucleico

RT-PCR – Reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa

RT-qPCR – Reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa quantitativo

SCZ – Síndrome Congênita do Zika

SESAB/NRS – Secretaria de Estado da Saúde da Bahia/Núcleo Regional de Saúde

SEVS/SES/PE – Secretaria de Vigilância da Saúde/Secretaria Estadual de Saúde de Pernambuco

SGB – Síndrome de Guilliam Barré

SINAN – Sistema de Informação de Agravos de Notificação

SINASC - Sistema de Informação de Nascidos Vivos

SIR – Suscetível-Infeccioso-Recuperado

SIRS – Suscetível-Infeccioso-Recuperado-Suscetível

SNC – Sistema Nervoso Central

SPSS – *Statistical Package for Social Science*

SUS – Sistema Único de Saúde

TCC – Tomografia Computadorizada do Crânio

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TMC – Tomografia Computadorizada

TORSCH – Toxoplasmose, Rubéola, Sífilis, Citomegalovírus e Herpes

UBS – Unidade Básica de Saúde

UEFS – Universidade Estadual de Feira de Santana

UPA – Unidade de Pronto Atendimento

USF – Unidade de Saúde da Família

USTF – Ultrassonografia Transfontanela

UTR – *Untranslated Region*

VE – Vigilância Epidemiológica

VE/SMS – Vigilância Epidemiológica da Secretaria Municipal de Saúde

YFV – Vírus da Febre Amarela

ZIKV – Vírus Zika

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1:	Genoma dos Flavivírus	29
Figura 2:	Partícula viral dos Flavivírus	30
Figura 3:	Genoma do CHIKV	31
Figura 4:	Partícula viral do CHIKV	31
Quadro 1:	Diagnóstico diferencial Dengue X Chikungunya X Zika	33
Figura 5:	Escala Analógica Visual (EVA)	38
Figura 6:	Ciclo de Vida do <i>Aedes Aegypti</i>	43
Figura 7:	Modelo Suscetível – Infectado (SI)	47
Figura 8:	Modelo Suscetível – Infectado – Suscetível (SIS)	47
Figura 9:	Modelo Suscetível – Infectado – Recuperado (SIR)	48
Figura 10:	Modelo Suscetível – Infectado – Recuperado (SIR)	50
Figura 11:	Gráfico do Modelo Suscetível – Infectado – Recuperado (SIR)	51
Quadro 02:	Resultados dos exames para detecção do ZIKV em amostras maternas e dos RN com SCZ em Feira de Santana, de 2015 a 2018	97
Figura 12:	Fluxograma da Investigação	98
Tabela 1:	Características clínicas das mães dos RN com SCZ, Feira de Santana –BA, 2015 a 2018	99
Tabela 2:	Características clínicas dos RN com SCZ, Feira de Santana – BA, 2015 a 2018	100
Quadro 03:	Principais alterações identificados nos exames de imagem (USTF/TCC/RMC*) dos casos de SCZ, Feira de Santana, 2015 a fevereiro de 2018	101
Figura 13:	Painel com fenótipo de uma criança que nasceu com hidrocefalia, contraturas e artrogripose de quadril, tornozelos e punhos com malformações de MMII e MMSS	103

Tabela 03:	Características clínicas maternas e dos RN com SCZ e com alterações oculares, Feira de Santana-BA, 2015 a 2018	118
Tabela 04:	Achados fundoscópicos em crianças com SCZ, Feira de Santana, 2015 a 2018	119
Figura 14:	RN com Atrofia do Epitélio Pigmentar da Retina (EPR) e alteração do Pigmento em Papila (PP) na macula do olho direito (OD) e olho esquerdo (OE) com mobilização de pigmentos.	120
Figura 15:	RN com alteração difusa do Epitélio Pigmentar da Retina (EPR) e Lesão Hiperocrômica em mácula	120
Figura 16:	RN com olho direito (OD) normal e olho esquerdo (OE) com lesão macular hipocrômica de 2-3 diâmetros de disco. Grave atrofia neurorretiniana em mácula	121
Figura 17:	RN com olho direito (OD) e olho esquerdo (OE) com Alteração do Pigmento em Região de Mácula	121

RESUMO

Os vírus Chikungunya (CHIKV) e Zika (ZIKV) são arbovírus emergentes que circulam simultaneamente em várias regiões do Brasil. A circulação autóctone do CHIKV foi confirmada em setembro de 2014, no Oiapoque, no estado do Amapá, pelo genótipo asiático, e em Feira de Santana, na Bahia, pelo genótipo africano. O ZIKV foi detectado em 2015, na Bahia e em seguida, o Rio Grande do Norte também confirmou a circulação do vírus. Estudos epidemiológicos evidenciaram que a entrada do ZIKV pode ter ocorrido durante a Copa das Confederações de 2013, e que por um período o vírus circulou “silenciosamente” até a sua detecção. Estudos sobre a avaliação clínica dos indivíduos infectados pelo CHIKV mostraram que a doença provoca poliartralgia intensa e, muitas vezes, incapacitante; enquanto a infecção pelo ZIKV se caracterizou como leve e autolimitada. Contudo, as infecções por estes arbovírus estão associadas a distúrbios neurológicos graves, à microcefalia e/ou outras alterações neurológicas em recém-nascidos (RN). O presente estudo teve como objetivo avaliar as repercussões clínicas, epidemiológicas, genômicas e sociais relacionadas à infecção pelos CHIKV e ZIKV em Feira de Santana-BA, no período de 2015 a 2018. Para avaliar a dinâmica de transmissão do ZIKV foi realizado um estudo Entoepidemiológico com utilização de um Modelo Matemático envolvendo as Equações Diferenciais Ordinárias (ODE). Um estudo prospectivo descreveu as repercussões clínicas, epidemiológicas da infecção congênita pelo ZIKV nos recém-nascidos (RN). Um estudo de caso controle avaliou as possíveis alterações no metabolismo lipídico dos indivíduos infectados pelo ZIKV e um estudo de corte transversal avaliou as características clínicas epidemiológicas e genômicas do CHIKV em Feira de Santana no período do estudo. Como resultado, verificou-se que a baixa taxa de observação do ZIKV pelo sistema de saúde local, a alta capacidade vetorial, as condições climáticas e a condição de suscetibilidade da população se traduziram em uma alta taxa de ataque da doença durante o surto de Zika em 2015, evoluindo com declínio em 2016 e praticamente o desaparecimento em 2017, devido à imunidade de rebanho. Evidenciou também que o aumento de casos de microcefalia foi determinado pelas altas taxas de ataque do ZIKV diante de uma população totalmente suscetível, e que o equilíbrio entre a perda da imunidade e a reimportação viral ditará no futuro o potencial de transmissão do ZIKV no município de Feira de Santana. Os desfechos clínicos observados nos RN foram compatíveis com as alterações neurológicas da Síndrome Congênita do Zika (SCZ) e a maioria das mães vivem em condições de vulnerabilidade social. O sequenciamento genético do ZIKV nas amostras clínicas da mãe e do RN detectaram que o vírus circulante em Feira de Santana pertence ao genótipo asiático e a análise lipidômica revelou alteração sérica de plasmalógenos em pacientes infectados pelo ZIKV. Com relação ao CHIKV, o estudo mostrou a persistência do genótipo ECSA no município até 2016, e que nenhuma mutação viral foi detectada nas sequências avaliadas.

Palavras-chave: Vírus Zika; vírus Chikungunya; fatores ambientais e climáticos; síndrome congênita do Zika; desigualdades sociais.

ABSTRACT

The Chikungunya (CHIKV) and Zika (ZIKV) viruses are emerging arboviruses that circulate simultaneously in several regions of Brazil. The indigenous circulation of CHIKV was confirmed in September 2014, in Oiapoque, in the state of Amapá, by the Asian genotype, and in Feira de Santana, in Bahia, by the African genotype. ZIKV was detected in 2015 in Bahia and then Rio Grande do Norte also confirmed the circulation of the virus. Epidemiological studies have shown the entry of ZIKV during the 2013 Confederations Cup, and that for a period the virus circulated “silently” until its detection. Studies on the clinical evaluation of individuals infected with CHIKV have shown that the disease causes severe and often disabling polyarthralgia; while ZIKV infection was characterized as mild and self-limited. However, infections with these arboviruses are associated with severe neurological disorders, microcephaly and / or other neurological disorders in newborns (NB). The present study aimed to evaluate the clinical, epidemiological, genomic and social repercussions related to CHIKV and ZIKV infection in Feira de Santana-BA, in the period from 2015 to 2018. To assess the transmission dynamics of ZIKV, an Entoepidemiological study was carried out using a Mathematical Model involving Ordinary Differential Equations (ODE) and the Markov-Chain Monte Carlo (MCMC) Assembly approach. A prospective study described the clinical and epidemiological repercussions of congenital ZIKV infection in newborns (NB). A case-control study evaluated the possible changes in the lipid metabolism of individuals infected with ZIKV and a cross-sectional study evaluated the epidemiological and genomic clinical characteristics of CHIKV in Feira de Santana during the study period. As a result, it was found that the low rate of observation of ZIKV by the local health system, the high vector capacity, the climatic conditions and the condition of susceptibility of the population translated into a high rate of attack of the disease during the Zika outbreak. in 2015, evolving with a decline in 2016 and practically disappearing in 2017, due to herd immunity. It also showed that what determined the increase in cases of microcephaly were the high attack rates of ZIKV in the face of a totally susceptible population, and that the balance between loss of immunity and viral reimportation will dictate in the future the transmission potential of ZIKV in the future. municipality of Feira de Santana. The clinical outcomes observed in the NB were compatible with the neurological changes of the Zika Congenital Syndrome (SCZ) and most mothers live in conditions of social vulnerability. The genetic sequencing of ZIKV in the clinical samples of the mother and the NB detected that the virus circulating in Feira de Santana belongs to the Asian genotype. Lipidomic analysis revealed serum alterations in plasmalogens in patients infected with ZIKV. With regard to CHIKV, the study showed the persistence of the ECSA genotype in the municipality until 2016, and that no viral mutations were detected in the evaluated sequences.

Keywords: Zika Virus; Chikungunya virus; environmental and climatic factors; Congenital Zika Syndrome; social inequalities.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	19
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	24
2.1 EPIDEMIOLOGIA DOS ARBOVÍRUS CHIKUNGUNYA E ZIKA NO BRASIL E NO MUNDO.	24
2.1.1 Introdução dos vírus Chikungunya e Zika em Feira de Santana - Bahia.....	28
2.2 ETIOLOGIA DOS ARBOVÍRUS CHIKUNGUNYA E ZIKA: CLASSIFICAÇÃO, ESTRUTURA MORFOLÓGICA E GENÔMICA.....	31
2.3 ESPECTRO CLÍNICO DAS INFECÇÕES POR CHIKUNGUNYA E ZIKA EM UM CENÁRIO DE COCIRCULAÇÃO COM DENGUE: SEMELHANÇAS E DIFERENÇAS.	35
2.4 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DOS VÍRUS DENGUE, CHIKUNGUNYA E ZIKA: UM DESAFIO PARA A SAÚDE PÚBLICA.....	42
2.5 VETORES E VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE ARBOVÍRUS.....	45
2.6 UTILIZAÇÃO DE MODELOS MATEMÁTICOS PARA A COMPREENSÃO, PREVENÇÃO E CONTROLE DE DOENÇAS INFECCIOSAS.....	47
3 METODOLOGIA.....	52
3.1 TIPO DE ESTUDO.....	52
3.2 CAMPO DO ESTUDO.....	55
3.3 POPULAÇÃO DO ESTUDO.....	56
3.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE COLETA DE DADOS.....	57
3.4.1 Procedimentos de coleta de amostras clínicas de sangue, saliva e urina.....	58
3.5 VARIÁVEIS DO ESTUDO.....	61
3.6 ANÁLISE DOS DADOS.....	62
3.7 ASPECTOS ÉTICOS.....	63
4 RESULTADOS.....	64
Artigo 1: Epidemiological and ecological determinants of Zika vírus transmission in an urban setting.....	66
Artigo 2: Achados clínicos em recém-nascidos com Síndrome Congênita do Zika em um município do Nordeste do Brasil.....	92

Artigo 3: Alterações oculares em recém-nascidos com Síndrome Congênita do Zika, Bahia-Brasil.	113
Artigo 4: <i>Genetic evidence of Zika vírus in mother's breast milk and body fluids of a newborn with severe congenital defects</i>	130
Artigo 5: Desigualdades sociais no contexto da Síndrome Congênita do Zika em um município do Nordeste do Brasil.....	132
Artigo 6: Análise lipidômica revela alteração sérica de plasmalógenos em pacientes infectados pelo vírus ZIKV.....	151
Artigo 7: <i>Persistence of Chikungunya ECSA genotype and local outbreak in an upper medium class neighborhood in Northeast Brazil</i>	159
6 CONCLUSÕES	172
REFERÊNCIAS	174
APÊNDICES	186
APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....	187
APÊNDICE B – Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE).....	189
APÊNDICE C – Formulário de Pesquisa 1.....	191
APÊNDICE D – Formulário de Pesquisa 2.....	197
ANEXOS	205
ANEXO 1 – Artigo 1: Epidemiologia do vírus Chikungunya na Bahia, Brasil, 2014-2015.	206
ANEXO 2 – Artigo 2: <i>Establishment and cryptic transmission of Zika vírus in Brazil and the Américas</i>	207
ANEXO 3 – Artigo 3: <i>Zika vírus in the Américas: early epidemiological and genetic findings</i>	208
ANEXO 4 – Artigo 4: <i>Seroprevalence of Chikungunya Vírus in a Rural Community in Brazil</i>	209
ANEXO 5 – Artigo 5: Medindo a adequação viral transmitida por mosquitos em Mianmar e as implicações para a transmissão local do Zika vírus	210
ANEXO 6 – Artigo 6: Vivências de mães que tiveram filhos com microcefalia....	211
ANEXO 7 – Artigo 7: <i>Therapeutic itinerary of families of children with microcephaly</i>	212
ANEXO 8 – Artigo 8: <i>Return of the founder Chikungunya vírus to its place of introduction into Brazil is revealed by genomic characterization of exanthematic</i>	

<i>disease cases.</i>	213
ANEXO 9 – Capítulo de livro 8: (Re) Organização da vigilância epidemiológica no enfrentamento da tríplice epidemia de dengue, Chikungunya e Zika: desatando nós e buscando caminhos.	216
ANEXO 10 – Capítulo de livro: Microcefalia possivelmente associada ao vírus Zika: desafios para o diagnóstico etiológico.....	234
ANEXO 11 – Resumo expandido produto da tese e publicado na “Revista Gaceta Sanitária” da Sociedade Espanhola de Saúde Pública.....	246
ANEXO 12 – Resumo apresentado no Congresso CALASS – França	248
ANEXO 13 – Trabalhos premiados em eventos científicos relacionados ao tema da tese.....	249
ANEXO 14 – Resolução do Conselho Superior de Ensino, Pesquisa e Extensão (CONSEPE)	250

1 INTRODUÇÃO

A Chikungunya (CHIKV) e a Zika (ZIKV) são arboviroses emergentes transmitidas por mosquitos do gênero *Aedes*, sendo o *Aedes Aegypti* o principal vetor e o responsável há décadas por surtos e epidemias de dengue no Brasil e no mundo, principalmente nos grandes centros urbanos de climas tropicais e subtropicais. Outros vetores como o *Aedes Albopictus* e o *Aedes Polynesiensis* são considerados transmissores secundários (JUPP et al., 1990; DIALLO et al., 1999; POWERS; LOGUE, 2007; TEIXEIRA et al., 2015).

O Brasil registra casos de dengue há vários anos, com altos índices de morbimortalidade. E a entrada dos novos vírus, como o CHIKV e o ZIKV em 2014 e 2015, respectivamente, trouxe números alarmantes de casos dessas doenças e inúmeros outros problemas decorrentes da disseminação desses vírus simultaneamente no país. Em 2013, o Ministério da Saúde do Brasil já alertava os órgãos de vigilância epidemiológica (VE) e sanitária sobre os riscos da introdução do CHIKV no país, diante da identificação de casos importados já detectados em 2010 (BRASIL, 2012b). Apesar das medidas adotadas, em setembro de 2014, a população brasileira foi surpreendida com a confirmação da transmissão autóctone dos primeiros casos de Chikungunya no Oiapoque, no estado do Amapá, pelo genótipo asiático, e em Feira de Santana, na Bahia, pelo genótipo africano (NUNES et al., 2015; TEIXEIRA et al., 2015).

A confirmação do CHIKV em Feira de Santana causou perplexidade a todos, por se tratar de uma doença nova, até então desconhecida pela população e profissionais de saúde. A descoberta do CHIKV em Feira de Santana partiu do protagonismo da equipe técnica da Vigilância Epidemiológica da Secretaria Municipal de Saúde (VE/SMS), que percebeu o aumento de casos notificados como suspeitos de “dengue” em um determinado bairro da cidade (Bairro George Américo), em um período do ano habitualmente não esperado (junho e julho) e a severidade dos sintomas (poliartralgia severa simétrica e incapacitante) apresentados pelos doentes. Isso chamou a atenção da equipe que, durante o processo de investigação de campo, suspeitou de que aquele quadro clínico observado nos indivíduos acometidos poderia ser Chikungunya. Diante da suspeita clínica, foram coletadas amostras de sangue dos doentes e encaminhadas para o

laboratório de referência do Instituto Evandro Chagas, no Pará. Logo em seguida, confirmou-se laboratorialmente através do PCR e exames sorológicos que se tratava do CHIKV Centro-Leste-Sul-Africano (ECSA) (NUNES et al., 2015) que circula na região de Luanda – Angola onde procurar o serviço de saúde, foi notificado e tratado como dengue; no entanto, os resultados foram negativos (FEIRA DE SANTANA, 2014).

A partir desse momento inicial, em um curto período, várias pessoas do Bairro George Américo (epicentro local da epidemia) adoeceram, sendo posteriormente disseminada para o município como um todo, provocando uma situação de epidemia na cidade. A condição de suscetibilidade de toda a população contribuiu para a rápida dispersão do vírus, provocando adoecimento e superlotação dos serviços de saúde.

Em abril de 2015, o cenário epidemiológico tornou-se ainda mais preocupante diante da confirmação dos primeiros casos de ZIKV no estado da Bahia (BA) – ocasião em que alguns pacientes atendidos nos serviços de saúde e diagnosticados clinicamente com uma "doença exantemática indeterminada", tiveram a confirmação da presença do ZIKV no sangue, através da técnica de Transcriptase Reversa da Reação em Cadeia pela Polimerase qualitativo (RT-qPCR) (CAMPOS; BANDEIRA; SARDI, 2015). Em seguida, o estado do Rio Grande do Norte (RN) também confirmou a circulação autóctone do ZIKV (ZANLUCA et al., 2015). Em Feira de Santana, os primeiros casos de Zika foram notificados em fevereiro de 2015. No entanto, é provável que o vírus já estivesse circulando anteriormente e sendo subnotificado por conta da semelhança clínica principalmente com a dengue, que ocorria simultaneamente na ocasião.

A entrada do CHIKV e do ZIKV no Brasil agravou ainda mais o cenário epidemiológico do país, que passou a conviver com a cocirculação desses arbovírus em variadas regiões, principalmente em espaços intraurbanos mais populosos. As repercussões clínicas e epidemiológicas decorrentes da infecção e/ou coinfecção por estes arbovírus (DENV, CHIKV e ZIKV) ainda são pouco conhecidas. Estudos comprovaram a associação entre a microcefalia e a infecção congênita pelo ZIKV e complicações neurológicas, como a Síndrome de Guilliam Barré (SGB) em indivíduos acometidos por estes arbovírus (MALTA et al, 2015; ARAÚJO et al., 2018).

Em 2015, o estado de Pernambuco notificou ao Ministério da Saúde (MS) o aumento de casos de microcefalia em recém-nascidos (RN) cujas gestantes relataram ter apresentado exantema durante a gestação (BRASIL, 2016d). A partir do alerta, em um curto período de tempo pesquisadores comprovaram a relação causal da microcefalia com infecção prévia pelo ZIKV durante a gestação (ARAÚJO et al, 2018), demonstrando a capacidade do vírus de atravessar a barreira placentária e produzir anormalidades cerebrais no feto (MELO et al., 2016).

Diante das evidências de danos neurológicos graves sobre o feto, da ocorrência de SGB e de encefalites associados a infecções pelo ZIKV (MALTA et al., 2015) e da constatação da relação entre doenças reumáticas crônicas e a infecção pelo CHIKV (HOARAU et al., 2010), torna-se emergencial investir em pesquisas que possam esclarecer aspectos sobre a evolução clínica dessas arboviroses e suas inter-relações com outros fatores no ambiente urbano.

Outro fator desafiador diz respeito às apresentações clínicas das infecções produzidas por esses arbovírus, sobretudo no início da doença (fase aguda), quando as manifestações clínicas são bastante semelhantes e quando a conduta clínica e o aconselhamento aos pacientes necessitam ser diferenciados. Portanto, é de maior importância a produção de pesquisas e a capacitação permanente dos profissionais de saúde diante desse novo contexto.

Essas arboviroses têm-se constituído como um dos maiores desafios a serem enfrentados pelos gestores públicos, pela comunidade científica mundial e pela Saúde Pública no século XXI. O fenômeno da globalização, com a crescente movimentação de pessoas infectadas, também favorece ao rápido processo de dispersão de novos vírus pelo mundo. As condições do clima subtropical, acrescidas da irregularidade no abastecimento de água, coleta inadequada do lixo urbano, densidade populacional e habitações inadequadas são outros fatores que contribuem para potencializar a proliferação do *Aedes Aegypti* e o avanço da doença.

A dificuldade de acesso os diagnósticos laboratoriais e a possibilidade de reações sorológicas cruzadas, especialmente em regiões de cocirculação, podem potencializar ainda mais o grau de dificuldade de enfrentamento dessas doenças, que podem coinfestar os indivíduos susceptíveis simultaneamente. Nesse aspecto, os efeitos da coinfeção para a saúde humana ainda são desconhecidos, pois não se sabe se a imunidade preexistente a um determinado vírus potencializa ou não a

resposta a uma outra infecção causada por um outro vírus durante infecções primárias ou secundárias.

Mesmo considerando a possibilidade de subnotificações de casos de ZIKV na Bahia, no ano de 2015, o estado da Bahia registrou 64.478 (sessenta e quatro mil, quatrocentos e setenta e oito) casos suspeitos em 296 (duzentos e noventa e seis) municípios (70,98%), demonstrando uma capacidade de propagação superior ao observado com o CHIKV. Nesse mesmo período, observou-se um aumento no número de casos suspeitos de Síndrome de Guilliam Barré (SGB), possivelmente relacionado à infecção prévia pelo vírus Zika (MALTA et al., 2017). Em Feira de Santana, no período de 2014 a 2018, foram notificados 6.624 (seis mil, seiscentos e vinte e quatro) casos de CHIKV e 2.239 (dois mil, duzentos e trinta e nove) casos de ZIKV entre 2015 e 2018 (FEIRA DE SANTANA, 2019).

A gravidade das repercussões clínicas decorrentes das infecções por esses arbovírus coloca em cena a necessidade de se buscarem novas tecnologias e conhecimentos sobre a dinâmica de transmissão, dispersão, repercussões clínicas e a identificação de cepas virais com maior potencial de virulência, de forma a subsidiar os gestores de saúde na implementação de políticas públicas eficazes que possam controlar o avanço dessas doenças para outras regiões do Brasil e do mundo.

As medidas de prevenção e controle implantadas até o momento não conseguiram efetivamente controlar o avanço dessas doenças que, a cada ano, provocam epidemias com grande impacto social e econômico. Apesar desse cenário previsível, o que se observa é a banalização da doença e a implementação de medidas emergenciais e pontuais em momentos de epidemias. Por serem doenças que possuem causas multifatoriais, a prevenção e o controle perpassam por ações estruturais abrangentes nas áreas do saneamento básico e de acesso a políticas públicas de habitação, entre outros, que possam promover a melhoria das condições de vida da população.

É nesse contexto de muitas perguntas e poucas respostas que propomos este estudo e esperamos que os resultados obtidos possam ser úteis na adoção de medidas adequadas para o controle das epidemias, monitoramento da transmissão e disseminação desses arbovírus e detecção de possíveis novas estirpes virais que possam auxiliar na implementação de programas de controle mais eficientes.

Desta forma, apresentamos como objeto de pesquisa, as repercussões clínicas, sociais e epidemiológicas provocadas pelos vírus Chikungunya e Zika nos indivíduos infectados. Dentre os seus objetivos, o principal foi avaliar as repercussões clínicas, epidemiológicas, genômicas e sociais relacionadas à infecção pelos vírus Chikungunya e Zika em Feira de Santana-BA, no período de 2015 a 2018, e os secundários foram: a) avaliar a dinâmica de transmissão do ZIKV no município de Feira de Santana-BA no período de 2016 a 2017; b) descrever os desfechos clínicos e laboratoriais em recém-nascidos (RN) com Síndrome Congênita do Zika (SCZ) no período de 2015 a 2018; c) descrever as características sociais das mães de crianças com SCZ; d) identificar as alterações no metabolismo lipídico em indivíduos infectados pelo ZIKV; e) caracterizar a diversidade genômica das cepas de CHIKV circulante em Feira de Santana-Bahia até 2016 e identificar possíveis mutações nas amostras positivas de pacientes com Chikungunya. Para atender os objetivos propostos metodologias distintas foram utilizadas.

O estudo foi subdividido em dois subprojetos envolvendo os aspectos relacionados as infecções pelo ZIKV e CHIKV respectivamente, cujos resultados estão apresentados no formato de artigos científicos. Outras produções científicas produzidas durante o doutorado em colaboração com outros pesquisadores relacionadas ao tema da tese estão apresentadas nos anexos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

O CHIKV e o ZIKV são arboviroses emergentes transmitidas por vetores, principalmente pelo o *Aedes Aegypti* que, além de ser o principal transmissor dessas doenças, há décadas vem provocando surtos e epidemias de dengue no Brasil e no mundo. Após a chegada desses novos arbovírus, o que se observou em um curto período foi a rápida dispersão dos vírus para praticamente todo o território brasileiro e vários outros países do mundo. No Brasil, essas arboviroses já estão circulando simultaneamente, causando elevados índices de morbimortalidade na população. A similaridade clínica entre elas e a dificuldade de acesso aos exames diagnósticos dificulta a real percepção da dimensão e propagação dessas doenças no país.

2.1 EPIDEMIOLOGIA DAS ARBOVIROSES CHIKUNGUNYA E ZIKA NO BRASIL E NO MUNDO

O CHIKV e o ZIKV vêm causando surtos e epidemias de grandes magnitudes no Brasil desde 2014, quando foram introduzidos. Contudo, a dengue ainda é considerada a arbovirose de maior importância mundial pelo seu potencial de morbimortalidade no mundo, com um alto impacto social e elevado custo econômico. Cerca de 50% da população mundial já vivem sob risco da infecção por dengue em 128 (cento e vinte e oito) países endêmicos (WHO, 2016), e a entrada desses novos arbovírus agrava ainda mais a situação epidemiológica do país que, há décadas, já registra números alarmantes de casos, hospitalizações e óbitos por dengue.

Uma multiplicidade de fatores socioambientais, como: crescimento populacional nos grandes centros urbanos; deficiências de infraestrutura na área de saneamento básico; mudanças climáticas, entre outras condições ecológicas que favorecem a proliferação do vetor (BRADY et al., 2012; FERREIRA, 2012; MESSINA et al., 2014) e a manutenção dos ciclos endêmicos e epidêmicos da dengue, certamente contribuirão para o avanço do CHIKV e do ZIKV no Brasil.

O CHIKV foi isolado pela primeira vez em amostras de sangue obtidas durante a epidemia de uma enfermidade sugestiva de dengue “*dengue-like*”,

ocorrida em 1952-1953 na Tanzânia, país localizado no sudeste da África (ROSS, 1956). O vírus pertence ao gênero alfavírus, da família *Togaviridae*, e possui genoma ácido ribonucleico (RNA) de cadeia simples e polaridade positiva (STRAUSS, 1994). É mantido na natureza por meio de dois ciclos, sendo um silvestre e outro urbano. No ambiente urbano, é mantido em um ciclo que envolve seres humanos e mosquitos *Aedes Aegypti* e *Aedes Albopictus* (JUPP et al., 1990; DIALLO, et al., 1999; POWERS; LOGUE, 2007).

A dificuldade para caminhar em decorrência da dor e do comprometimento das articulações, evidenciados pelos indivíduos infectados pelo CHIKV, serviu de inspiração para o nome dado a doença que, no dialeto Makonde falado por uma tribo dessa região da África, significa “andar encurvado sobre o corpo” (ROBINSON, 1955; ROSS, 1956).

Após o isolamento do CHIKV, o que se observou nos 50 (cinquenta) anos que se seguiram foi que a circulação do vírus esteve restrita à África e à Ásia (POWERS; LOGUE, 2007). Na Ásia, cepas de CHIKV foram isoladas durante grandes surtos urbanos em Bangkok e Tailândia, em 1960, e em Calcutá e Vellore, na Índia, durante as décadas de 1960 e 1970 (NIMMANNITYA; MANSUWAN, 1966; DELLER JR; RUSSELL, 1968; NIMMANNITYA et al., 1969; MACKENZIE, 2011).

Em 2004, um surto de Chikungunya originado na costa do Quênia se espalhou pelas Ilhas Comoros, Réunion e muitas outras do Oceano Índico, permanecendo durante os dois anos seguintes com registros de aproximadamente 500 (quinhentos) mil casos da doença (SERGON, 2008; PIALOUX, 2007).

Em 2010, o vírus voltou a causar surtos em países como Índia, Indonésia, Myanmar, Tailândia, Ilhas Maldivas e ainda reapareceu na Ilha Réunion. No ano de 2010, casos importados foram identificados em Taiwan, França, Estados Unidos e Brasil, trazidos por viajantes advindos, respectivamente, da Indonésia, da Ilha Réunion, da Índia e do sudoeste asiático (ROUGERON et al., 2015).

Durante os surtos recentes, indivíduos infectados pelo vírus Chikungunya foram encontrados no Caribe (Martinica), nos Estados Unidos e na Guiana Francesa. Todos eles estavam retornando de áreas endêmicas ou epidêmicas da doença. Casos autóctones passaram a ser notados a partir de outubro de 2013, quando moradores da ilha de San Martin, sem histórico de viagens, foram diagnosticados com a doença (CASSADOU et al., 2014; STAPLES; FISCHER, 2014). Portanto, o fato de todas essas áreas terem mosquitos transmissores e

hospedeiros suscetíveis contribuiu para aumentar o risco da transmissão endêmica do CHIKV nas Américas.

O CHIKV tem a capacidade de emergir, reemergir e se propagar rapidamente em novas áreas, onde os indivíduos se encontram suscetíveis, podendo provocar surtos e epidemias de grande magnitude e com grande impacto social na população acometida pela doença, diante do seu potencial incapacitante observado nos indivíduos infectados. Desta forma, tornam-se necessários a implementação e o aprimoramento das ações de vigilância epidemiológica, bem como o investimento efetivo em medidas de controle do vetor.

Em setembro de 2014, o Brasil foi surpreendido com a confirmação do surto de Chikungunya no município do Oiapoque, no estado do Amapá, localizado no extremo norte do Brasil, onde foi identificado o genótipo Asiático, já isolado em países e territórios do Caribe e América Central (NUNES et al., 2015, TEIXEIRA et al., 2015). Logo em seguida, o município de Feira de Santana, na Bahia, confirmou a transmissão autóctone do genótipo Centro-Leste-Sul-Africano (ECSA) (TEIXEIRA et al., 2015, FARIA et al., 2016) como causador da Chikungunya na região.

O município de Feira de Santana apresentou em 2014 uma primeira onda epidêmica da Chikungunya, registrando até a semana epidemiológica (SE) 52, 1.444 (mil, quatrocentos e quarenta e quatro) casos da doença. Em 2015, o vírus se propagou para todo o município, gerando uma segunda onda que atingiu um total de aproximadamente 5 (cinco) mil casos no ano (FEIRA DE SANTANA, 2015). É provável que o vírus continue a se espalhar em áreas com hospedeiros imunologicamente ingênuos e uma abundância de *Aedes Aegypti*, transmissor principal da doença na região. Portanto, é provável que futuros ciclos de transmissão do CHIKV estejam relacionados com as epidemias sazonais da dengue e do ZIKV, atingindo o pico quando a temperatura, a precipitação e a umidade forem propícias à transmissão mediada pelo *Aedes* (FELDSTEIN et al., 2015). Além disso, existe o potencial do CHIKV se tornar endêmico na região, com epidemias ocasionais em humanos (FARIA et al., 2016).

Dados do Ministério da Saúde apontam que, após a chegada do CHIKV até a SE 52 de 2016, o país já registrava 169.656 (cento e sessenta e nova mil, seiscentos e cinquenta e seis) casos prováveis de CHIKV (taxa de incidência de

83,0 casos/100 mil hab.) distribuídos em 2.154 (dois mil, cento e cinquenta e quatro) municípios brasileiros (BRASIL, 2016).

Em 2017, da SE 1 à SE 52, foram registrados 185.593 (cento e oitenta e cinco mil, quinhentos e noventa e três) casos prováveis de Chikungunya no Brasil. No ano de 2018, 85.781 (oitenta e cinco mil, setecentos e oitenta e um) novos casos prováveis foram registrados, com uma incidência de 41,1 casos/100 mil hab. A região Sudeste apresentou o maior número de casos prováveis, com 51.539 (cinquenta e um mil, quinhentos e trinta e nove) casos, ou seja, 60,1% em relação ao total do país. Em seguida, aparecem as regiões Centro-Oeste, com 13.808 (treze mil, oitocentos e oito) casos (16,1 %); Nordeste, com 11.150 (onze mil, cento e cinquenta) casos (13,0%); Norte, com 9.019 (nove mil e dezenove) casos (10,5%); e Sul, com 265 (duzentos e sessenta e cinco) casos (0,3%) (BRASIL, 2018). Portanto, os dados revelam uma rápida dispersão do CHIKV no país, provocando epidemia da doença em várias regiões do Brasil.

O ZIKV é um arbovírus do gênero *Flavivirus*, família *Flaviviridae* (GUBLER; KUNO; MARKOFF, 2007), identificado pela primeira vez em 1947 na Floresta Zika, em Uganda, durante um programa de monitorização da febre amarela selvagem (DICK; KITCHEN; HADDOW, 1952).

A partir de 1960, casos humanos esporádicos foram relatados na Ásia e África (HAYES, 2009), sendo que o primeiro surto de ZIKV fora dessas regiões ocorreu em 2007, na Ilha Yap, na Micronésia, ao sudoeste do Oceano Pacífico (DUFFY et al., 2012). Outro grande surto foi registrado na Polinésia Francesa entre outubro de 2013 e março de 2014 (CAO-LORMEAU et al., 2014; MUSSO et al., 2014).

Até o momento, são conhecidas e descritas duas linhagens do vírus, sendo uma africana e outra asiática. O vírus é transmitido ao homem através da picada de um mosquito do gênero *Aedes*; entretanto, transmissões através de transfusão sanguínea (MUSSO et al., 2014), sexual (FOY et al., 2011) e perinatal (BESNARD et al., 2014) já foram reportadas. Portanto, as múltiplas formas de transmissão do ZIKV podem justificar a rapidez da disseminação da doença, superando o poder de propagação de outros arbovírus, como dengue e Chikungunya.

Em 2014, casos de infecção pelo ZIKV foram reportados na ilha de Páscoa, território do Chile. Em maio de 2015, também foram confirmados casos laboratorialmente em Sumaré e Campinas, no estado de São Paulo; Maceió, nas

Alagoas; e Belém, no Pará. Desde então, vem sendo observada uma rápida expansão das áreas de circulação e transmissão autóctones do vírus, notadamente em estados da região Nordeste, considerados epicentros das epidemias. Estima-se que mais de 1 (um) milhão de brasileiros tenham sido infectados pelo ZIKV em 2015 (SANTOS et al., 2016), refletindo a capacidade do vírus de causar surtos em larga escala onde o vetor está presente.

A confirmação do ZIKV no Brasil foi inesperada: surgiu, inicialmente, após o relato do aumento da incidência de doença febril exantemática até então de causa desconhecida nos estados da região Nordeste do país. O primeiro estado a confirmar foi a Bahia, em 29 de abril de 2015, a partir da análise de amostras de sangue de pacientes com quadro exantemático residentes no município de Camaçari (CAMPOS; BANDEIRA; SARDI, 2015) e, posteriormente, em 09 de maio de 2015, no Rio Grande do Norte, onde foi identificado o genótipo Asiático (ZANLUCA et al., 2015).

2.1.1 Introdução dos vírus Chikungunya e Zika em Feira de Santana – BA

Os primeiros casos de CHIKV em Feira de Santana – BA foram inicialmente confundidos com Dengue pelos profissionais de saúde; entretanto, os resultados da investigação epidemiológica apontaram que o caso índice de CHIKV foi um brasileiro que trabalhava na área da construção civil em Luanda em Angola, e que chegou ao Brasil em junho de 2014 apresentando sinais e sintomas de febre alta de início súbito, dor articular simétrica em pés, tornozelos, joelhos, punhos, dedos das mãos e edema periarticular. Durante a fase aguda, o paciente foi atendido na Policlínica do Bairro George Américo (epicentro da epidemia em 2014), onde foram solicitados os exames laboratoriais para dengue NS1 Sorologias IgM e IgG, cujos resultados foram negativos.

Diante dos resultados negativos, o paciente foi encaminhado para uma unidade hospitalar para nova avaliação e diagnóstico diferencial, após a suspeita de malária. No entanto, os resultados dos exames também foram negativos para Malária. Nesse paciente, especificamente, a permanência do quadro de poliartralgia, edema nas articulações, chamou a atenção da equipe da vigilância epidemiológica

municipal que diante da constatação do aumento no número de notificações de casos suspeitos dengue, principalmente nesse mesmo bairro, e cujos resultados dos exames laboratoriais permaneciam negativos para dengue, a equipe iniciou uma investigação casa a casa para buscar respostas quando ao diagnóstico laboratorial dos casos e esclarecimento da situação epidemiológica local.

Os resultados do trabalho de campo mostraram grande número de pessoas com sintomas semelhantes em um mesmo período de tempo e em uma mesma localidade. Os fatos observados e analisados fizeram com que os técnicos da vigilância epidemiológica do município suspeitassem de Chikungunya e realizassem a coleta de sangue para a realização de exames laboratoriais para CHIKV em 21 (vinte e um) indivíduos sintomáticos. De fato, os resultados de RT-PCR quantitativa e IgM ELISA confirmaram a infecção por vírus Chikungunya em 14 (catorze) amostras do total enviado para o Instituto Evandro Chagas, no Pará.

Em seguida, o estudo do sequenciamento genético do vírus confirmou que a cepa circulante se tratava do genótipo Centro-Leste-Sul-Africano (ECSA) e não o genótipo Asiático, já isolado em países e territórios do Caribe e América Central, assim como na cidade de Oiapoque – AP (NUNES et al., 2015; TEIXEIRA et al., 2015). Após esse processo de investigação, em setembro de 2014, as autoridades gestoras do município de Feira de Santana confirmaram a transmissão autóctone do CHIKV e a sua dispersão para outras localidades da cidade. Uma avaliação retrospectiva dos casos suspeitos permitiu identificar casos de CHIKV com início dos sintomas entre os meses de junho e agosto.

No ano de 2014, foram notificados 1.438 (mil, quatrocentos e trinta e oito) casos suspeitos e 1.131 (mil, cento e trinta e um) confirmados, ou seja, 78,65% (FEIRA DE SANTANA, 2014). Após um rápido declínio, a partir de março de 2015 os casos voltaram a aumentar, caracterizando uma segunda onda epidêmica, sendo registrados naquele ano 4.114 (quatro mil, cento e catorze) casos novos da doença em vários outros bairros da cidade (FEIRA DE SANTANA, 2014).

Dentre as manifestações clínicas, febre, poliartralgia e edema nas articulações foram observados na quase totalidade dos pacientes. Cerca de 40% a 50% dos doentes também apresentaram mialgias, exantemas e náuseas. Manifestações graves decorrentes da infecção pelo CHIKV como, por exemplo, Síndrome de Guilliam Barré, hiperpigmentação de mãos e uveíte também foram observadas (FEIRA DE SANTANA, 2014).

Quando foi noticiada a introdução do CHIKV em Feira de Santana (BA), observou-se o desconhecimento total sobre a doença por parte da população e de parcela significativa dos profissionais de saúde. Durante a epidemia, houve um aumento da procura dos pacientes às unidades de saúde por conta do quadro de poliartralgia severa, como já observado em outras epidemias (THIBERVILLE et al., 2013), provocando superlotação dos serviços de saúde e a necessidade de reorganização da rede local de atenção à saúde a fim de garantir a assistência aos doentes. Cabe lembrar que o país possui cerca de 200 (duzentos) milhões de habitantes, na sua quase totalidade suscetível à infecção pelo CHIKV.

São necessários, portanto, novos estudos com o objetivo de preencher lacunas do conhecimento sobre aspectos clínicos e epidemiológicos que envolvem essas infecções que ocorrem simultaneamente, a fim de que se possa preparar os serviços de saúde para atuar nessa nova e complexa realidade. Deve-se atentar para a importância do monitoramento dos possíveis impactos financeiros sobre a previdência social, uma vez que muitos doentes crônicos podem ficar impedidos de trabalhar durante meses, recorrendo aos benefícios legais. Da mesma forma, a avaliação da qualidade de vida desses doentes deve ser uma prioridade.

Com relação ao vírus Zika, os primeiros casos suspeitos foram notificados a partir de março de 2015, ocasião em que a doença foi confundida clinicamente com dengue ou Chikungunya pelos profissionais de saúde, por conta da transmissão simultânea e da similaridade dos sinais e sintomas, principalmente na fase aguda, como é comum entre essas arboviroses. Até dezembro de 2015, foram registrados 1.497 (mil, quatrocentos e noventa e sete) casos suspeitos de ZIKV no município (FEIRA DE SANTANA, 2015).

Assim como ocorreu em outros locais, em Feira de Santana também foi registrado um aumento de casos de SGB e eventos neurológicos possivelmente associados a infecção pelo vírus Zika. Com relação aos casos de microcefalia em RN de mulheres que tiveram doença exantemática na gestação, também foi verificado um aumento no número de casos, totalizando 24 (vinte e quatro) casos de microcefalia no período (FEIRA DE SANTANA, 2017).

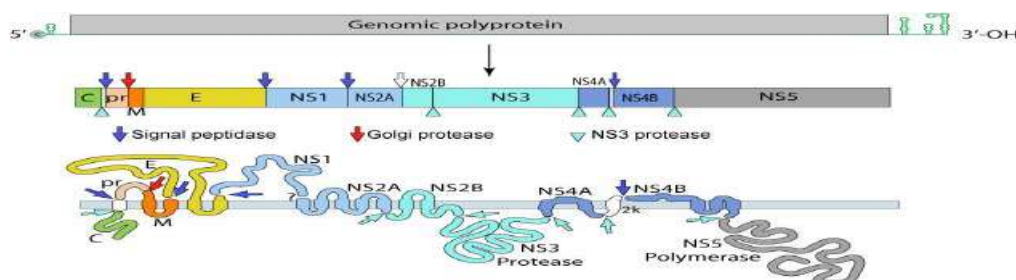
2.2 ETIOLOGIA DOS VÍRUS CHIKUNGUNYA E ZIKA: CLASSIFICAÇÃO, ESTRUTURA MORFOLÓGICA E GENÔMICA

Os arbovírus CHIKV e ZIKV são transmitidos ao homem pela picada do mosquito fêmea, cujo principal vetor é o *Aedes Aegypti*. A classificação taxonômica dos arbovírus compreende quatro famílias principais: *Togaviridae* (gênero *Alfavírus*), *Flaviviridae* (gênero *Flavivirus*), *Bunyaviridae* (gêneros *Orthobunyavirus* e *Phlebovirus*) e *Reoviridae* (WHO, 1967).

Dentre as famílias com relevância para a Saúde Pública no contexto epidemiológico nacional, podem-se citar as famílias *Flaviviridae* e *Togaviridae*, por abrigarem os vírus DENV, Febre Amarela (FAV), ZIKV e CHIKV, considerados importantes por causarem doenças infecciosas emergentes e reemergentes no Brasil, com elevados índices de morbimortalidade por esses agentes etiológicos (CDC, 2010).

Os ZIKV pertencem ao gênero *Flavivirus*, que são vírus envelopados, de morfologia esférica, com cerca de 50 (cinquenta) nm de diâmetro, contendo uma fita simples de ácido ribonucleico (RNA), de polaridade positiva, com aproximadamente 11 (onze) kb (ZHANG et al., 2002). O genoma é composto por duas regiões não codificantes, denominadas *Untranslated Region* (UTR), que flanqueiam uma única sequência aberta de leitura (ORF), a qual codifica três proteínas estruturais: capsídeo (C), membrana (M), e envelope (E) e sete proteínas não estruturais (NS1, NS2a, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5), que desempenham funções reguladoras e de expressão do vírus, como a replicação, virulência e patogenicidade (ZHANG et al., 2003), conforme Figura 03:

Figura 01: Genoma dos Flavivírus

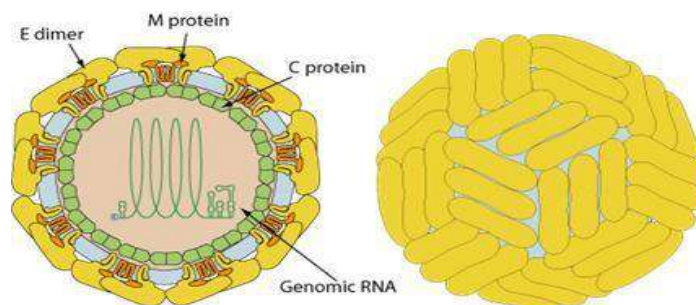


Fonte: Adaptado de Zhang et al. (2003).

Genoma dos Flavivírus: RNA de fita simples, de polaridade positiva, com 10-11 kb. A extremidade 5' do genoma tem terminação de nucleotídeos metilada para tradução celular canônica. A extremidade 3' não possui poliadenilação, mas forma uma estrutura em alça. Esta estrutura secundária conduz à formação de um RNA subgenômico de flavivírus (sfRNA) através da degradação do RNA genômico pela 5'-3' exoribonuclease 1 do hospedeiro. O sfRNA é essencial para a patogenicidade e pode desempenhar um papel importante na inibição da atividade antiviral da RIG-I.

Na estrutura da partícula viral, as proteínas de superfície estão dispostas em simetria, semelhante à icosaédrica. As partículas maduras contêm duas proteínas de membrana codificadas pelo vírus (M e E), enquanto os vírus imaturos contêm um precursor dessa proteína (ZHANG et al., 2002) A Figura 04 apresenta a partícula viral dos Flavivírus. Partículas maduras contêm duas proteínas de membrana codificada pelo vírus (M e E); por outro lado, partículas imaturas contêm um precursor de proteína de membrana.

Figura 02: Partícula Viral dos Flavivírus



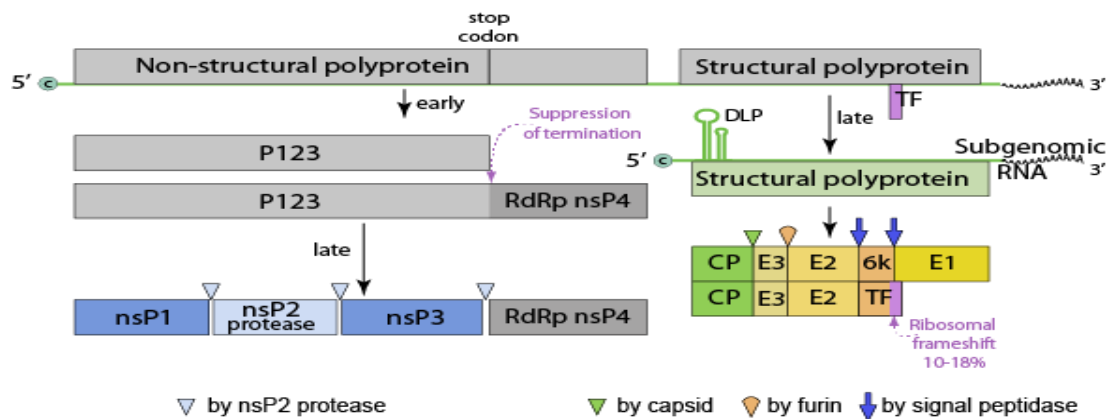
Fonte: Zhang et al. (2003).

O vírus Chikungunya, pertence ao gênero *Alphavirus* e à família *Togaviridae*. Seu genoma também consiste em uma molécula de RNA linear, de cadeia simples, de polaridade positiva e com aproximadamente 11,8 kb. Este RNA genômico viral assemelha-se aos RNA mensageiros (mRNA) celulares, por possuir uma estrutura cap na extremidade 5' e uma cauda poli A na extremidade 3' (VOLK et al., 2010).

O genoma do CHIKV apresenta duas sequências abertas de leitura (ORFs) (Figura 05). Uma delas ocupa os dois terços da porção 5' do genoma e codifica uma poliproteína que, após proteólise, dá origem às proteínas não estruturais (nsP1,

nsP2, nsP3 e nsP4) multifuncionais, que formam a replicase viral. A outra ORF, separada da primeira por uma região de junção, codifica uma segunda poliproteína que vai gerar, por processamento proteolítico, as proteínas estruturais [C, E1, PE2 (E3+E2) e 6K]. A região codificante é flanqueada nas extremidades 5' e 3' por sequências não traduzidas, denominadas 5'NTR e 3'NTR, respectivamente (VOLK et al., 2010).

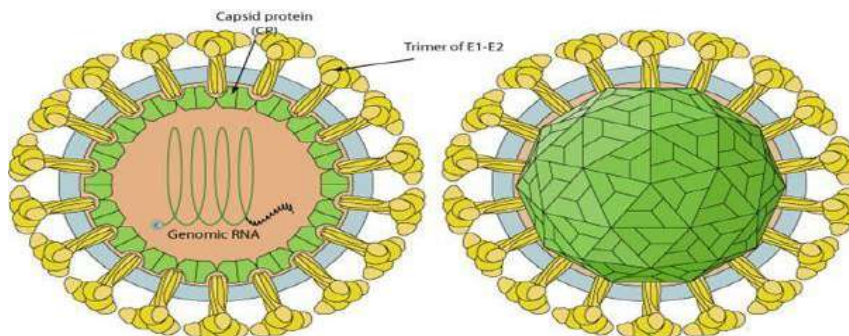
Figura 03: Genoma do CHIKV



Fonte: Adaptado de Volk et al., 2010.

Genoma do CHIKV: fita simples de RNA de polaridade positiva, com cerca de 11-12 kb. Apresenta estrutura cap na extremidade 5' e cauda poli A na extremidade 3'. A partícula viral do CHIKV apresenta simetria icosaédrica com cerca de 70nm de diâmetro e 80 picos formados por proteínas do envelope (E1/E2) (Figura 06).

Figura 04: Partícula viral do CHIKV



Fonte: Volk et al. (2010).

Partícula viral do CHIKV: partícula envelopada, esférica, com simetria icosaédrica, medindo cerca de 65-70 nm de diâmetro. O envelope contém 80 picos, sendo cada pico um trímero de proteínas E1/E2. Conforme disponível em: http://viralzone.expasy.org/all_by_species/625.html.

Três grupos distintos do CHIKV capazes de causar infecção foram determinados por análise filogenética. O primeiro foi classificado como genótipo Centro-Leste-Sul-Africano (ECSA), originado na África. O segundo genótipo foi classificado como Asiático do Caribe; e o terceiro, um genótipo do Oeste Africano, que é mais divergente e menos difundido do que os dois anteriores (VOLK et al., 2010).

A variabilidade genética dos vírus é comprovada através dos diferentes genótipos e linhagens detectados nos estudos evolutivos. Os estudos de caracterização genética dos vírus são importantes para se detectarem as variantes genéticas circulantes, compreender suas origens e monitorar a introdução de novos genótipos e linhagens virais (MENDES et al., 2010; OSMAN et al., 2009). Essas análises são importantes para inferir dinâmicas epidemiológicas de emergência a partir do genoma de vírus sequenciados em curtas escalas de tempo epidêmica (GRUBAUGH et al., 2019). Portanto, os dados genômicos, além de informar o diagnóstico de patógenos, também servem para prever e inferir a epidemiologia das doenças.

O emprego da abordagem do relógio molecular permite estimar a taxa evolutiva do genoma viral a partir da diversidade genética de uma população viral. A taxa evolutiva indica quando os isolados amostrados compartilharam um ancestral comum (GRUBAUGH et al., 2019). Tal informação fornece um limite inferior sobre quando um surto iniciou, e por quanto tempo o vírus estava circulando antes da sua descoberta (*ibidem*).

Análises filogenéticas permitem inferir uma árvore que representa as relações filogenéticas entre os genomas virais amostrados e que apresenta ramos medidos em unidade de tempo (*ibidem*). Cada ramo indica eventos de transmissão viral de um caso para o próximo, fornecendo informações sobre o surto que se desdobra, que podem ser usadas para identificar as cadeias de transmissão para entender as redes de “quem-infectou-quem” e, assim, contribuir com informações que possam

ser usadas para interromper a disseminação do vírus e reduzir a magnitude do surto (GRUBAUGH et al., 2019).

Inferências filogenéticas baseadas em dados genômicos também permitem estimar a taxa na qual o vírus pode estar se espalhando dentro da população, e fornecem informações sobre o papel de uma transmissão zoonótica durante um surto (GRUBAUGH et al., 2019; VOLZ et al., 2009). Além disso, informações genômicas permitem descobrir a identidade e a localização geográfica do hospedeiro reservatório de um vírus (GRUBAUGH et al., 2019). Os métodos de inferência fitogeográfica, por sua vez, permitem reconstruir uma história detalhada da dispersão de um vírus a partir da origem do surto (FARIA et al., 2016). Essas análises fornecem estimativas da localização para cada nó ancestral numa árvore filogenética, usando modelos estocásticos, e também podem esclarecer os fatores que impulsionaram a disseminação do vírus através da integração dos dados genômicos com diversos outros dados (GRUBAUGH et al., 2019).

2.3 ESPECTRO CLÍNICO DA INFECÇÃO PELOS ARBOVÍRUS CHIKUNGUNYA E ZIKA EM UM CENÁRIO DE COCIRCULAÇÃO COM O VÍRUS DENGUE: SEMELHANÇAS E DIFERENÇAS

A semelhança clínica decorrente das infecções pelos arbovírus dengue, Chikungunya e Zika, sobretudo na fase aguda, constitui um dos maiores problemas no acompanhamento dos casos. A cocirculação e a possibilidade de coinfeção, bem como a dificuldade de acesso aos testes diagnósticos são fatores que dificultam o diagnóstico diferencial dessas doenças. O quadro comparativo abaixo demonstra as manifestações clínicas (Quadro 01) mais frequentes e importantes para a diferenciação dos casos.

Quadro 1: Diagnóstico diferencial Dengue x Zika x Chikungunya

Sinais/Sintomas	Dengue	Zika	Chikungunya
Febre (Duração)	> 38°C (4-7 dias)	Sem febre ou subfebril (38°C) 1-2 dias subfebril	Febre alta > 38°C (2- 3 dias)
Rash Frequência	Surge a partir do quarto dia (30% a 50% dos casos)	Surge no primeiro ou segundo dia (90% a 100% dos casos)	Surge no segundo ao quinto dia (50% dos casos)
Mialgia (Frequência)	+++	++	+
Artralgia (Frequência)	+	++	+++
Intensidade da dor articular	Leve	Leve/Moderada	Moderada/Intensa
Edema da Articulação	Raro	Frequente e leve intensidade	Frequente e de moderada a intensa
Conjuntivite	Rara	50% a 90% dos casos	30%
Cefaleia	+++	++	++
Hipertrofia ganglionar	+	+++	++
Discrasia hemorrágica	++	Ausente	+
Risco de morte*	+++	+	++
Acometimento Neurológico	+	+++	++
Leucopenia	+++	+++	+++
Linfopenia	Incomum	Incomum	Frequente
Trombocitopenia	+++	Ausente (raro)	++

Fonte: Brito C, Ver. Soc. Bras. Med. Trop. (2016).

* Pode haver risco de morte nos casos neurológicos como a SGB decorrente de Zika ou para crianças com malformações congênicas graves.

Objetivando orientar os profissionais de saúde e direcionar as ações de vigilância epidemiológica, o Ministério da Saúde estabeleceu parâmetros clínicos para a definição de casos suspeitos de Chikungunya e Zika, assim como já definido para a Dengue. Com relação à dengue, a definição de caso suspeito inclui febre alta de início súbito, com duração máxima de 7 (sete) dias, acompanhada de pelo menos dois dos sintomas, como: cefaleia, dor retro-ocular, mialgia, artralgia, exantema, náuseas, vômitos, petequias, prova do laço positiva, leucopenia.

No que diz respeito à suspeita clínica da Chikungunya, os sinais e sintomas característicos na fase aguda incluem: febre alta, com duração máxima de 7 (sete) dias, acompanhada de artralgia (s) intensa de início súbito, que pode estar associada a cefaleia, mialgias e exantema. Já no caso da Zika, é considerado caso suspeito a pessoa que apresentar exantema maculopapular pruriginoso, acompanhado de pelo menos dois dos seguintes sinais e sintomas, como: febre

baixa ou inaparente, hiperemia conjuntival sem secreção, prurido, poliartralgia, edema periarticular (BRASIL, 2016).

O CHIKV pode causar doença aguda, subaguda e crônica (QUEYRIAUX et al., 2008; SERGON et al., 2008). O período de incubação intrínseco no ser humano ocorre em média de 3 (três) a 7 (sete) dias, podendo variar de 1 (um) a 12 (doze) dias (BURT et al., 2012). O extrínseco, que ocorre no vetor, dura em média 10 (dez) dias.

Após a picada por mosquito infectado, a maioria dos indivíduos poderá apresentar a doença sintomática. No entanto, análises sorológicas indicam que 3% a 28% das pessoas com anticorpos anti-CHIKV apresentam infecção assintomática (SERGON et al., 2008).

A doença aguda dura de 3 (três) a 14 (catorze) dias, e é mais comumente caracterizada por febre de início súbito (tipicamente maior que 39°C) e dor articular intensa. Outros sinais e sintomas podem aparecer, como: cefaleia, mialgia, náusea, vômito, erupção cutânea e conjuntivite (QUEYRIAUX, 2008). A febre pode durar poucos dias até uma semana, e pode ser contínua ou intermitente. Entretanto, a queda de temperatura não está associada à piora dos sintomas, como se observa em infecções causadas pelo vírus da Dengue.

Os sintomas articulares são comumente simétricos e ocorrem frequentemente nas mãos, pés, joelhos e tornozelos. Edema é bastante comum e está frequentemente associado com tenossinovite (SERGON et al., 2008).

Devido à dor articular intensa, ao edema e à rigidez articular, as pessoas ficam incapazes de executar tarefas simples do seu cotidiano, como ir ao trabalho, tomar banho, segurar objetos, entre outros, e podem ficar limitadas.

O exantema normalmente ocorre de dois a cinco dias após o início da febre, e são erupções tipicamente maculopapulares, envolvendo o tronco e as extremidades, mas podem se manifestar nas regiões palmar, plantar e facial como eritema difuso que cede sob pressão. Em crianças, as lesões do tipo vesículo-bolhosas são as manifestações cutâneas mais comuns (BRASIL, 2015a).

Na fase subaguda, predominam os sintomas articulares, que ocorrem em até 50% dos pacientes infectados pelo CHIKV. Caracteriza-se pela persistência da artralgia/artrite, bursite e tenossinovite associadas a rigidez matinal e astenia, com evolução contínua ou intermitente (DUPUIS-MAGUIRAGA et al., 2012; SIMON et al., 2014). Nessa fase também podem ocorrer recorrências da febre, do prurido

generalizado, do exantema maculopapular, além do surgimento de lesões purpúricas, vesiculares e bolhosas. Alguns pacientes podem desenvolver doença vascular periférica, fadiga e sintomas depressivos. Se os sintomas persistirem por mais de três meses, após o início da doença, estará instalada a fase crônica (BRASIL, 2017b).

A prevalência de manifestações articulares crônicas após a infecção por CHIKV varia de 14,4 a 87,2% (BRASIL, 2017b; HOARAU et al., 2010; DUPUIS-MAGUIRAGA et al., 2012; SIMON et al., 2014).

Durante a fase crônica, alguns pacientes poderão ter persistência dos sintomas, principalmente dor articular, musculoesquelética e neuropática, sendo a última muito frequente nesta fase. As manifestações têm comportamento flutuante (SCHILTE et al., 2013). A prevalência da fase crônica é muito variável entre os estudos, podendo atingir mais da metade dos pacientes.

O acometimento articular persistente ou recidivante nas mesmas articulações atingidas durante a fase aguda, caracterizado por dor com ou sem edema, limitação de movimento, deformidade e ausência de eritema são sintomas comuns na fase crônica. Normalmente, o acometimento é poliarticular e simétrico, mas pode ser assimétrico e monoarticular (BRASIL, 2017b; SCHILTE et al., 2013).

Também há relatos de dores nas regiões sacro-ilíaca, lombo-sacra e cervical. Ocasionalmente, articulações incomuns como temporomandibulares (dor na movimentação mandibular) e esterno-claviculares são acometidas. Manifestações decorrentes da síndrome do túnel do carpo, tais como dormência e formigamento das áreas inervadas pelo nervo mediano podem ocorrer (HOARAU et al., 2010; DUPUIS-MAGUIRAGA et al., 2012; SCHILTE et al., 2013; SIMON et al., 2014).

Alguns pacientes poderão evoluir com artropatia destrutiva semelhante à artrite psoriática ou reumatoide. Outras manifestações descritas foram: fadiga, cefaleia, prurido, alopecia, exantema, bursite, tenossinovite, disestesias, parestesias, dor neuropática, fenômeno de Reynaud, alterações cerebelares, distúrbios do sono, alterações da memória, déficit de atenção, alterações do humor, turvação visual e depressão. Alguns trabalhos descrevem que esta fase pode durar até 3 (três) anos; outros fazem menção a 6 (seis) anos de duração (SCHILTE et al., 2013; BRASIL, 2017b).

Dados da Ilha Réunion demonstraram que 80%-93% dos pacientes se queixam de sintomas persistentes três meses após o início da doença, o que diminui para 57% aos 15 (quinze) meses e 47% aos dois anos (BRASIL, 2014).

Manifestações atípicas da infecção por CHIKV podem acontecer comprometendo o sistema neurológico, provocando: meningoencefalite, encefalopatia, convulsões, SGB, síndrome cerebelar, paresia, paralisia, neuropatia. Nos olhos, podem aparecer neurite óptica, iridociclite, episclerite, retinite, uveíte. Em relação ao sistema cardiovascular, pode apresentar miocardite, pericardite, insuficiência cardíaca, arritmias, instabilidade hemodinâmica (SIMON et al., 2014).

Como manifestações dermatológicas, podem surgir a hiperpigmentação fotossensível, úlcera aftosa intertriginosa e a dermatose vesículo-bolhosa. Com relação à função renal, pode surgir nefrite e insuficiência renal aguda. Outras manifestações já foram relatadas, como: discrasias hemorrágicas, pneumonia, insuficiência respiratória, hepatite, pancreatite, hipoadrenalismo (BRASIL, 2017b).

O vírus Chikungunya pode afetar indivíduos de todas as idades e de ambos os sexos. Entretanto, a apresentação clínica é conhecida por variar de acordo com a idade, sendo a muito jovem (neonatal) e a idade avançada os períodos considerados como fator de risco para as doenças mais graves. A presença de comorbidades, como a artrite reumatoide, também vem sendo identificada como fator de risco para pior evolução da doença (GERARDÍN et al., 2008; HOARAU et al., 2010; DUPUIS-MAGUIRAGA et al., 2012; SIMON et al., 2014).

Na região das Américas, até o momento, a letalidade por Chikungunya é menor do que a observada por Dengue; entretanto, no Brasil, o número de óbitos por Chikungunya é alto, e a letalidade tem se mostrado maior que a observada nas Américas. Os casos graves e óbitos ocorrem com maior frequência em pacientes com comorbidades e em extremos de idade (BRASIL, 2017a).

A maioria das infecções por CHIKV que ocorrem durante a gravidez não resulta na transmissão do vírus para o feto. No entanto, casos de transmissão vertical podem ocorrer no momento do parto de gestantes virêmicas e, muitas vezes, provocam infecção neonatal grave (LENGET et al., 2006; GERARDÍN et al., 2008; FRITEL et al., 2010; OPAS, 2014; CDC, 2014).

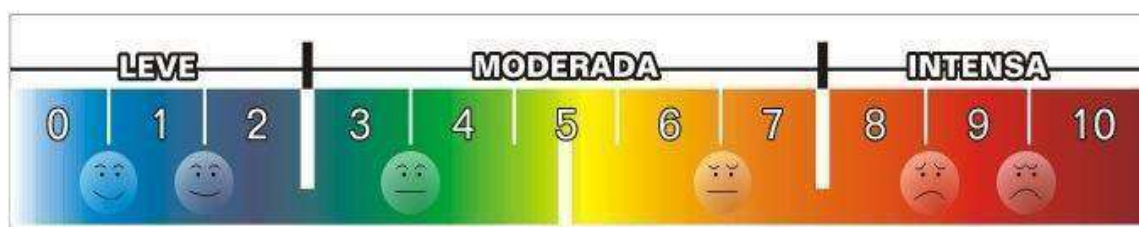
Existem também relatos de abortos espontâneos após a infecção maternal por CHIKV. O risco maior de transmissão parece ser quando mulheres são infectadas durante o período de intraparto. E apesar dos bebês serem considerados

tipicamente assintomáticos ao nascimento, eles podem desenvolver doenças neurológicas, sintomas hemorrágicos e doença do miocárdio (OPAS, 2014; CDC, 2014; BRASIL, 2017a).

Não há evidências de que o vírus seja transmitido através do leite materno (BRASIL, 2015b). Pode ocorrer transmissão por via transfusional; todavia, é rara, se atendidos os protocolos recomendados (CDC, 2014; REPÚBLICA DOMINICANA, 2014).

A dor articular é uma das queixas mais relatadas pelos pacientes infectados pelo vírus Chikungunya em todas as fases da doença. Por isso, é importante que se tenha uma ferramenta que permita a aferição da dor, transformando um dado subjetivo em um dado objetivo que permita avaliar e conduzir adequadamente o caso. Existem várias ferramentas validadas; no entanto, a Escala Analógica Visual (EVA), demonstrada na Figura 07, é uma das mais simples e que pode ser aplicada por qualquer profissional de saúde (PRICE et al., 1983). Desta forma, o MS instituiu a utilização de escalas numéricas ou analógicas de dor como norteadoras da tomada de decisão nos protocolos e diretrizes terapêuticas da dor (BRASIL, 2002; BRASIL, 2012b).

Figura 05: Escala Analógica Visual (EVA)



Fonte: Adaptada ao Português do Brasil por Schestatsky et al., 2011.

Os sintomas da infecção pelo vírus Zika aparecem aproximadamente seis dias após o contato com o vírus, e podem durar até 12 (doze) dias, média de sete dias (IOOS et al., 2014; ZAMMARCHI et al., 2015). Estima-se que apenas 18% dos infectados apresentam manifestações clínicas, sendo as mais comuns: febre baixa ou afebril, exantema maculopapular, prurido, artralgia, edema periarticular, mialgia, dor de cabeça, conjuntivite, dor retro orbitária, linfonodomegalia, úlceras orais, astenia, náuseas, vômitos e diarreia. Complicações neurológicas têm sido relatadas, incluindo a Síndrome de Guilliam Barré (SGB) e casos de microcefalia (IOOS et al., 2014; ZAMMARCHI et al., 2015).

Na maioria dos pacientes, os sintomas são usualmente leves e apresentam resolução espontânea após cerca de 2 (dois) a 7 (sete) dias. No entanto, em alguns pacientes, a artralgia pode persistir por cerca de um mês. Até o momento, não se conhece o tempo de duração da imunidade conferida pela infecção natural do vírus Zika (ZAMMARCHI et al., 2015).

A partir da confirmação do surto de Zika, principalmente na região Nordeste do Brasil, no ano de 2015, o que se observou em seguida foi um aumento na incidência de microcefalia em relação ao esperado. A relação entre esses eventos nesses estados com transmissão autóctone confirmada passou a indicar cada vez mais uma provável relação causal entre Zika em gestantes e microcefalia em recém-nascidos.

Em outubro de 2015, a Secretaria de Vigilância da Saúde de Pernambuco (SEVS/SES-PE) notificou o MS sobre a ocorrência de um surto de neonatos com microcefalia no estado. A partir daquele momento, declarou-se estado de Emergência Sanitária Nacional e se iniciou uma investigação a fim de verificar a hipótese de que a infecção pelo ZIKV em gestantes poderia ser a causa desse surto (BRASIL, 2015b)

Com o avanço das investigações, outras evidências científicas foram reforçando a hipótese da relação causal entre o ZIKV e a microcefalia, a exemplo da confirmação do vírus em sangue e tecidos de um RN com microcefalia e outras malformações que evoluíram para óbito no estado do Ceará (MLAKAR, 2016), bem como após a detecção do RNA viral pela técnica de RT-PCR para ZIKV em líquido amniótico, placenta, sangue do cordão umbilical e tecido cerebral de um feto no estado da Paraíba (MELO et al., 2016).

Outro estudo realizado no Nordeste do Brasil, envolvendo 35 crianças com microcefalia, apontou que 74% das mães com suspeita de infecção pelo ZIKV na gestação relataram *rash* cutâneo durante o 1º e 2º trimestres gestacionais (BRASIL P. et al., 2016). Nesse mesmo estudo, detectou-se uma maior frequência de anormalidades por ultrassonografia em mulheres grávidas com infecção pelo ZIKV em comparação com as que não possuíam anormalidades.

De acordo com Patrícia Brasil et al. (2016), apesar do quadro clínico leve, a infecção pelo ZIKV durante a gravidez pode estar associada com consequências graves, incluindo morte fetal, insuficiência placentária, redução do crescimento fetal e lesões do sistema nervoso central (SNC).

No momento inicial, a microcefalia foi o achado que mais chamou atenção; no entanto, outras alterações neurológicas foram detectadas. Uma série de outras manifestações, incluindo convulsões, irritabilidade, disfunção do tronco encefálico, como problemas de deglutição, contraturas de membros, anormalidades auditivas e oculares e outras anomalias cerebrais detectadas por neuroimagem têm sido relatadas (MOORE, et al., 2017). Portanto, a diversidade de defeitos congênitos detectados nos RN e a junção dessas anormalidades em um único feto infectado pelo ZIKV fez o MS adotar a classificação dos casos como Síndrome Congênita da Zika.

A divulgação dos casos de microcefalia associados ao ZIKV no Brasil chamou a atenção das autoridades da Polinésia Francesa, que iniciaram uma investigação retrospectiva dos casos de microcefalia e verificaram uma relação entre o surto de Zika e o aumento de casos de microcefalia (CAUCHEMEZ, et al., 2016).

Outras alterações neurológicas também têm sido associadas a infecção prévia pelo ZIKV, sendo a SGB uma das complicações mais registradas. Um estudo caso-controle retrospectivo realizado na Polinésia Francesa e publicado em fevereiro de 2016 relatou 42 (quarenta e dois) casos de SGB durante o surto ocorrido no período de 2013-2014, com detecção de IgM ou IgG para Zika em 98% dos pacientes e anticorpos neutralizantes para Zika em 100% dos casos, comparado com 56% do grupo controle. Os sintomas mais comuns foram: fraqueza muscular generalizada (74%) e paralisia facial (64%) (CAUCHEMEZ, et al., 2016).

No Brasil, entre janeiro e novembro de 2015, foram notificados 1.708 (mil, setecentos e oito) casos de SGB, sendo mais significativo o aumento do número de casos em alguns estados, especialmente Alagoas (516,7%), Bahia (196,1%), Rio Grande do Norte (108,7%), Piauí (108,3%), Espírito Santo (78,6%) e Rio de Janeiro (60,9%) (BRASIL, 2015b).

Contudo, ainda não estão estabelecidos de modo definitivo os determinantes relacionados ao aumento da incidência de SGB no Brasil, sobretudo em um cenário de circulação simultânea de Dengue, Chikungunya e Zika – todos potencialmente relacionados à ocorrência de síndromes neurológicas.

2.4 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL ENTRE OS ARBOVÍRUS DENGUE, CHIKUNGUNYA E ZIKA: UM DESAFIO PARA A SAÚDE PÚBLICA

A confirmação laboratorial da dengue é importante para promover o diagnóstico diferencial com outras arboviroses ou outras doenças infecciosas com as quais podem ser clinicamente confundidas e, com isso, dificultar a implementação do tratamento adequado aos doentes, a exemplo dos vírus CHIKV e ZIKV.

Vários métodos têm sido utilizados para detecção de anticorpos do vírus da dengue incluindo inibição de hemaglutinação (HI), testes de neutralização, teste com anticorpos imunoflorescente (ELISA), fixação de complemento, dotblotting, Westwrn blotting. Os mais utilizados para o diagnóstico sorológico da dengue são os testes de ELISA e HI (SHU; HUANG, 2004). A escolha do método depende da fase da infecção e da oportunidade de coleta da amostra biológica.

O DENV pode ser detectado no soro, plasma, células do sangue e outros tecidos cerca de quatro a cinco dias do início dos sintomas, coincidindo com a fase febril da doença. Nesse período, o diagnóstico específico pode ser realizado pelas técnicas de detecção direta (WHO, 2009).

Após o cultivo do vírus, a identificação de seu sorotipo é realizada por imunofluorescência indireta ou Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). O método é considerado “padrão ouro”, no entanto, as dificuldades operacionais, a necessidade de técnicos altamente treinados, a estreita janela de oportunidade para a coleta do espécime clínico e o prazo longo para a finalização do resultado limitam o uso da técnica de isolamento viral na rotina (HUANG, 2004).

Os testes moleculares para a detecção do ácido nucléico viral têm sido utilizados como ferramenta importante para detecção precoce da infecção. No diagnóstico molecular é utilizado RT-PCR, existindo vários protocolos entre eles os de Lanciotti e outros (1992). O teste deve ser realizado até o 5º dia da doença, tem a finalidade de identificar o sorotipo circulante (LANCIOTTI et al., 1992; KAO et al., 2005).

A detecção pode ser realizada em uma diversidade de amostras clínicas, como: sangue, soro, plasma, saliva e urina. Em comparação com o isolamento viral, a técnica RT-PCR possui uma sensibilidade maior, mas com mesma especificidade, é rápida, reprodutível, pode discriminar o sorotipo e quantificar a carga viral (WHO, 2009). Ainda na fase febril, outra técnica utilizada para o diagnóstico da dengue é a

detecção do antígeno viral NS1 por meio de kits comerciais de ensaio imunoenzimático (ELISA) ou teste rápido por imunocromatografia.

Assim como na Dengue, as metodologias utilizadas no diagnóstico laboratorial da Chikungunya são também selecionadas de acordo com a fase de evolução clínica da doença. O diagnóstico laboratorial da infecção pelo CHIKV pode ser realizado de forma direta, através do isolamento viral e da pesquisa do RNA viral em diferentes amostras clínicas; ou de forma indireta, através da pesquisa de anticorpos específicos (BRASIL, 2016c; BRASIL, 2017b).

Para a pesquisa do RNA viral, as principais técnicas moleculares utilizadas são o RT-PCR (*Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction*) e o qRT-PCR (*Real Time RT-PCR*). Essas técnicas permitem detectar o ácido nucleico viral até, aproximadamente, o oitavo dia após o aparecimento dos sintomas, sendo que o período de maior viremia vai do 1º ao 5º dia. Esta é uma ferramenta importante no diagnóstico precoce da infecção (BRASIL, 2017b).

Para a pesquisa de anticorpos específicos, as principais técnicas disponíveis são: o ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) e o teste imunocromatográfico do tipo POC (*Point-of-Care*). Os testes sorológicos permitem a detecção de anticorpos específicos do tipo IgM, que podem ser detectados a partir do segundo dia após o aparecimento dos sintomas (sendo que o período mais indicado para essa investigação sorológica é a partir do 5º dia), e do tipo IgG, a partir do sexto dia (BRASIL, 2017b).

Outra estratégia para confirmação sorológica é a sorologia pareada, em que duas amostras devem ser coletadas: a primeira, na fase aguda da doença; e a segunda, aproximadamente 15 (quinze) dias após a primeira. O aumento de 4 (quatro) vezes no título dos anticorpos demonstra a reatividade específica (BRASIL, 2017b).

Técnicas que necessitam do isolamento viral, como o teste de neutralização por redução de placas (PRNT, sigla do inglês *Plaque Reduction Neutralization Test*), são usualmente utilizadas como padrão ouro para a confirmação do diagnóstico de diversas arboviroses. Entretanto, são procedimentos demorados e que, na maioria das vezes, exigem laboratórios com nível de segurança biológica 3 (BSL3) (BRASIL, 2017b).

As amostras clínicas utilizadas para o diagnóstico podem ser: sangue, plasma, soro, líquido cefalorraquidiano (LCR), saliva e urina. As amostras

destinadas ao isolamento viral e à pesquisa de RNA devem ser mantidas em freezer, a -70°C até o uso, e as amostras para sorologia podem ser mantidas a -20°C.

O diagnóstico do vírus Zika pode ser confirmado por amplificação do genoma viral por meio da Reação em Cadeia da Polimerase com Transcrição Reversa (RT-PCR), considerado padrão ouro para o diagnóstico etiológico. No entanto, o custo, o risco de contaminação e a cinética da viremia podem influenciar nos resultados, a depender do tempo e do tipo de material coletado (sangue, saliva, urina, líquido e líquido amniótico, entre outros) (EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2014).

Alguns estudos estimam que o vírus Zika pode estar presente no sangue e na saliva de indivíduos infectados até o sétimo dia do início dos sintomas. Na urina, já foi detectado até 30 dias do início dos sintomas; e no sêmen, em pacientes do sexo masculino, pode ser detectado num período de 3 (três) a 8 (oito) semanas do início dos sintomas (YADAV et al., 2016; ATIF et al., 2016; YOUNGER, 2016).

O exame ELISA também é capaz de detectar anticorpos anti-IgM e IgG contra o ZIKV; no entanto, a baixa viremia e o risco de reação sorológica cruzada com outros flavivírus, principalmente a Dengue, podem ocorrer (EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2014).

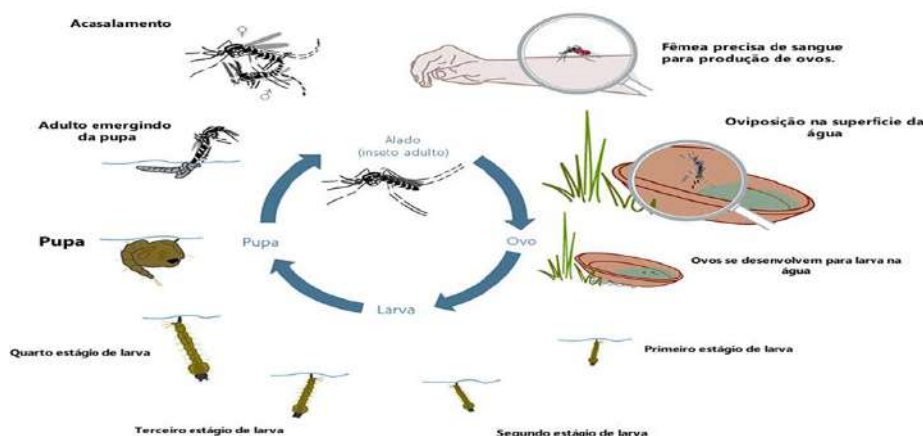
2.5 VETORES E VIGILÂNCIA ENTOMOLÓGICA DE ARBOVÍRUS

O *Aedes Aegypti* é considerado o principal vetor responsável pela manutenção da transmissão da Dengue ao longo de várias décadas, bem como pela transmissão de novas arboviroses, como Chikungunya, em 2014, e Zika, em 2013 (FARIA, et al., 2016). Outros vetores, como *Aedes Albopictus* e *Aedes Polynesiensis* também são considerados transmissores secundários dessas arboviroses.

Um conjunto de condições propicia a adaptação do *Aedes Aegypti* ao território brasileiro; no entanto, a condição climática é considerada como o principal fator. O clima tropical, quente e úmido de grande parte do país, com alternância de períodos de chuvas e estiagem aumenta a velocidade de proliferação dos mosquitos e com isso os riscos de epidemias.

O ciclo de vida do mosquito *Aedes* é composto por quatro fases: ovo, larval, pupa e alada. Após a eclosão dos ovos, inicia-se a fase larval, que dura normalmente cinco dias. Em seguida, as larvas se transformam em pupas, que vivem na água e, após dois ou três dias, transformam-se em mosquitos adultos (Figura 08).

Figura 06: Ciclo de vida do *Aedes Aegypti*



Fonte: Adaptado de Silva; Silva (1999).

Em condições normais, o ciclo completo dura 10 (dez) dias, podendo ser reduzido para 5 (cinco) dias, a depender das condições ambientais. Um mosquito adulto normalmente vive de 30 (trinta) a 45 (quarenta e cinco dias) e, neste período de vida, a fêmea pode depositar até 450 (quatrocentos e cinquenta) ovos, o que torna a propagação muito rápida (SILVA; SILVA, 1999).

A condição de pobreza de grande parte da população brasileira que habita as periferias dos grandes centros urbanos, não tendo acesso a ações de saneamento básico, como distribuição de água encanada e coleta regular do lixo, também predispõe a manutenção do mosquito nessas áreas.

A proliferação do mosquito está associada às péssimas condições de vida da população, principalmente aquela que vive em situação de vulnerabilidade social, sem acesso a saneamento básico, água potável, habitação de qualidade e coleta de lixo. Portanto, as condições de pobreza em que vive grande parte da população brasileira favorece a manutenção da doença que, apesar de atingir a população de um modo geral, atinge de forma mais severa aquela mais carente e exposta a moradias e condições de vida mais precárias. O grande fluxo de pessoas que se

deslocam facilmente para as cidades turísticas brasileiras, também contribui para a disseminação dos vetores.

2.6 UTILIZAÇÃO DE MODELOS MATEMÁTICOS PARA COMPREENSÃO, PREDIÇÃO DE SURTOS E EPIDEMIAS DE DOENÇAS INFECCIOSAS

As arboviroses como Dengue, Chikungunya e Zika, transmitidas por mosquitos, podem provocar surtos e epidemias em uma determinada área e em um curto período. A disseminação dessas doenças de forma acelerada pode acontecer por diversos fatores, dentre eles: o processo de urbanização da população vivendo em aglomerados e sem imunidade aos vírus e as mudanças climáticas ambientais em locais onde os vetores estão presentes. Para entender os sistemas, estudar os efeitos dos vários componentes e fazer previsões sobre o comportamento epidemiológico de doenças infecciosas, modelos matemáticos são desenvolvidos e utilizados.

Um modelo matemático é uma descrição de um sistema usando linguagens e ferramentas matemáticas, e se baseia nas características de fenômenos biológicos que são transcritos na forma de hipóteses matemáticas a serem testadas e avaliadas através de modelos analíticos e de simulação (BRAUER; WU; DRIESSCHE, 2008).

A epidemiologia matemática é essencialmente interdisciplinar e vem sendo utilizada por diversos pesquisadores e em várias áreas do conhecimento na tentativa de compreender, prevenir, controlar, planejar e, talvez, erradicar doenças infecciosas, a exemplo da Dengue, Chikungunya e Zika.

Portanto, os modelos matemáticos são importantes para se compreender melhor a evolução e disseminação das doenças, e avaliar os impactos epidemiológico, ambiental e econômico, bem como as alternativas de monitoramento e controle do risco de transmissão de doenças, a exemplo das transmitidas por vetores, entre outras doenças infecciosas.

Os modelos são validados com base em observações em campo de anos anteriores para serem utilizados em projeções futuras e simulações com diferentes parâmetros que podem influenciar a dinâmica de transmissão da infecção em uma

determinada população. Para se construir modelos matemáticos e epidemiológicos dinâmicos, é necessário representar o estado do indivíduo em relação à doença e acompanhar a evolução desse estado com o passar do tempo. De acordo com a literatura, cada indivíduo da população pode passar por diferentes estados durante a epidemia, sendo os mais usados os estados de Suscetível, Exposto, Infectado, Recuperado e Imune, usados para humanos; e Suscetível e Infectado, usados para mosquitos (HOLMES, BARTLEY, GARNETT, 1998).

Variantes de modelos podem surgir, a fim de detalhar melhor os parâmetros de transmissão e refinar os resultados com base em determinadas características ou outros parâmetros de interesse do estudo. Portanto, uma vez que o modelo foi formulado, devem-se incorporar somente as informações que são relevantes para o objetivo específico ou para a questão biológica.

No estado suscetível, os indivíduos estão suscetíveis à doença, pois não possuem anticorpos suficientes para o combate da infecção. O estado desse elemento é rotulado com a letra “S”. O estado infectado se refere aos indivíduos que estão infectados pelo agente patogênico de algum vírus e aptos para transmitir a doença. Na modelagem, o estado infectado é rotulado com a letra “I”.

A condição de indivíduos expostos ocorre logo após contraírem a doença, porém ainda não estão aptos a transmiti-la, e são rotulados pela letra “E”. Esta condição é caracterizada pela impossibilidade de transmissão da doença devido à baixa carga viral do indivíduo. Portanto, assim que imediatamente infectado, o indivíduo permanece um certo tempo nesse estado enquanto o vírus se reproduz. Ao final deste período, passa ao estado infectado, ficando apto para transmitir a doença. Após passar pelos estados latente e infectado, o indivíduo passa para o estado de recuperado da infecção, e é rotulado pela letra “R”.

Por fim, no estado Imune, o doente está completamente imune à doença e possui anticorpos suficientes para se proteger. No caso da Chikungunya e Zika, após a infecção, o indivíduo adquire imunidade permanente; e no caso da Dengue, por conta dos quatro sorotipos, verifica-se que a imunidade é permanente em relação ao sorotipo contraído e temporária em relação aos outros. Portanto, no caso da dengue, após um determinado tempo, o indivíduo volta a ficar suscetível aos outros sorotipos pelos quais ainda não foi infectado (sorotipos heterólogos) e imune apenas aos sorotipos com que já foi infectado (sorotipo homólogo). Para rotular o estado de imunidade parcial e temporária se utiliza a letra “M”.

Com relação aos mosquitos, os estados são caracterizados como: suscetível e infectado. O estado suscetível significa a fase em que o mosquito ainda não foi infectado pelo vírus da doença e sempre estará apto a ser infectado; e, no caso da Dengue, por qualquer um dos sorotipos. Esse estado representa o mosquito já em sua fase alada/adulta, quando interage com o sistema e o meio ambiente. O estado infectado indica que o mosquito já foi e continua infectado pelo vírus da doença e encontra-se apto a transmitir. O mosquito pode ser infectado por um vírus específico ou, no caso da dengue, por um sorotipo.

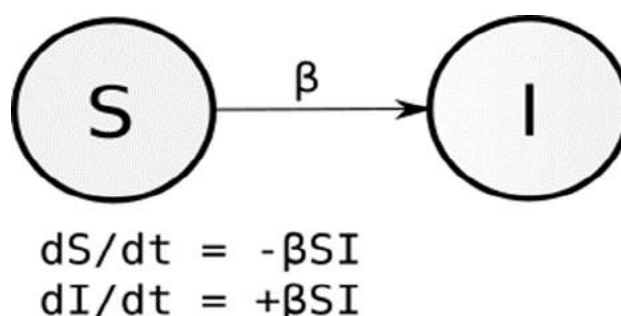
Nos modelos compartimentais, a população (humanos e mosquitos) é dividida em categorias ou compartimentos de acordo com seu estado de saúde e definições de fluxos de indivíduos entre os compartimentos, levando-se em conta: as características da doença, o hábito dos indivíduos, a dinâmica de transmissão da doença, aspectos sazonais e ambientais, distribuição da população, entre outros (HOLMES, BARTLEY, GARNETT, 1998).

Vários outros estudos já utilizaram modelos matemáticos para avaliar a propagação da dengue (LOURENÇO; RECKER, 2014). No presente estudo, onde avaliamos a dinâmica de transmissão do vírus Zika em Feira de Santana – BA, considerando os aspectos teóricos e epidemiológicos sobre a infecção pelo ZIKV nos seres humanos e nos vetores, foi utilizado o modelo S, I, R para representar os estados e caracterizar os indivíduos.

- Modelo Suscetível – Infectado (SI)

O modelo compartimental SI assume que indivíduos podem se tornar infecciosos através de contatos β , e que a infecção é crônica e dura a vida toda (BRAUER, WU, DRIESSCHE, 2008) (Figura 09).

Figura 07: Modelo Suscetível – Infectado (SI)

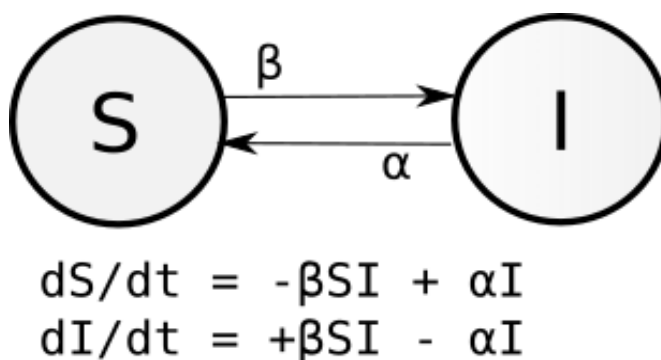


Fonte: Adaptado de BRAUER; WU; DRIESSCHE, 2008

- Modelo Suscetível – Infectado – Suscetível (SIS)

O modelo epidemiológico compartimental SIS (BRAUER; WU; DRIESSCHE, 2008) é utilizado para modelar doenças em que os indivíduos não obtêm imunidade, voltando a se tornarem suscetíveis à doença após o período de infecção. Neste modelo, é assumido que indivíduos podem se tornar infecciosos (β) por algum tempo, mas voltam à suscetibilidade ao se recuperarem da infecção (α). Isso significa que os indivíduos podem ser reinfetados ao longo da vida. Como os indivíduos não adquirem imunidade à doença, podem contraí-la novamente, ou seja, forma-se um ciclo $S \rightarrow I \rightarrow S$ (Figura 10).

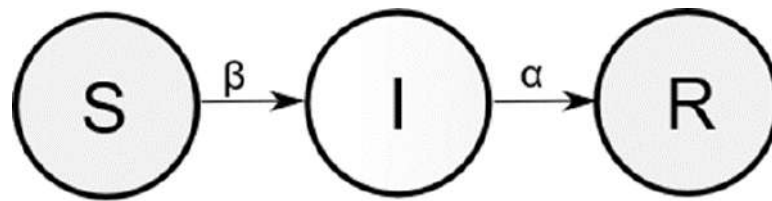
Figura 08: Modelo Suscetível – Infectado – Suscetível (SIS)



Fonte: Adaptado de BRAUER; WU; DRIESSCHE, 2008

- Modelo Suscetível – Infectado – Recuperado (SIR)

Neste modelo, o indivíduo infectado torna-se imune à doença após sua recuperação, não podendo voltar a ser infectado e permanecendo no estado de imunidade total no compartimento de indivíduos recuperados. O modelo epidemiológico SIR (KERMACK; McKENDRICK, 1927; HOLMES; BARTLEY; GARNETT, 1998) é um dos mais utilizados para representação de doenças infecciosas e também utiliza estratégia de compartimentos (KERMACK; McKENDRICK, 1927; HOLMES; BARTLEY; GARNETT, 1998); porém, diferente do modelo SI, o qual possui apenas dois compartimentos, o modelo SIR possui três compartimentos, sendo eles Suscetíveis (S), Infectados (I) e Recuperados (R) (Figura 11).

Figura 09: Modelo Suscetível – Infectado – Recuperado (SIR)

$$dS/dt = -\beta SI$$

$$dI/dt = +\beta SI - \alpha I$$

$$dR/dt = +\alpha I$$

Fonte: Adaptado de KERMACK; McKENDRICK, 1927

Neste modelo, os indivíduos podem se tornar infecciosos (β) por algum tempo; mas, ao se recuperarem (α), permanecem imunes para toda a vida. Isto significa que os indivíduos não podem ser reinfectados. Esse modelo está relacionado a doenças em que os indivíduos que foram infectados se recuperam e adquirem imunidade permanente (PAN, 2007; ANTONIAZI, 2008), como os casos de infecção pelos vírus Chikungunya e Zika. Por isso, este modelo foi aplicado no presente estudo.

Outros modelos podem ser formulados, a depender do processo epidêmico e das características biológicas da enfermidade, e estes determinam as regras de transmissão usadas na modelagem.

3 METODOLOGIA

3.1 TIPO DE ESTUDO

Esta pesquisa é um recorte do projeto intitulado **“Estudo da diversidade genética, história evolutiva, caracterização clínica, epidemiológica e hematológica dos indivíduos infectados pelos vírus Chikungunya e Zika, e a sua coevolução com outros arbovírus humanos no semiárido baiano e na região metropolitana de Salvador”**. Visando a atingir os objetivos propostos, o estudo foi subdividido em 2 (dois) subprojetos com metodologias distintas, descritos a seguir:

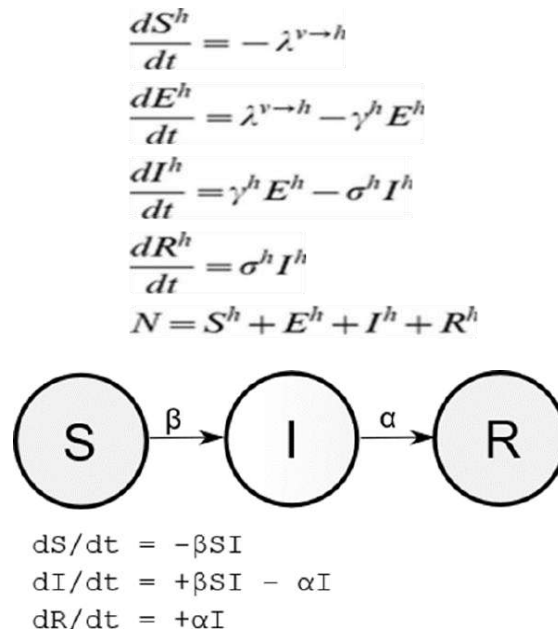
- O subprojeto 1 responde as questões relacionadas à dinâmica de transmissão do ZIKV e suas repercussões clínicas e sociais nos indivíduos infectados, incluindo-se aí a Síndrome Congênita do Zika.
- O subprojeto 2 responde as questões relacionadas à caracterização do genótipo do CHIKV circulante no município do estudo até 2016, bem como buscou identificar possíveis mutações do referido vírus.

A fim de atender os objetivos propostos para cada subprojeto, apresentaremos a seguir as abordagens metodológicas utilizadas em cada estudo. Com relação à dinâmica de transmissão do vírus Zika em Feira de Santana – BA, no período entre 2016 e 2017 (subprojeto 1), foi realizado um estudo Entoepidemiológico com a utilização de um Modelo Matemático envolvendo as Equações Diferenciais Ordinárias (ODE) e a abordagem de Montagem de Markov-Chain Monte Carlo (MCMC), utilizado anteriormente para estudar a introdução do vírus dengue na Ilha da Madeira em 2012 (LOURENÇO; RECKER, 2014).

No presente estudo, o modelo proposto para capturar a dinâmica de transmissão do vírus Zika entre hospedeiros humanos e mosquitos foi o Modelo SIR – Suscetível-Infeccioso-Recuperado, pelo qual se presume que: a população humana tenha tamanho constante (N); seja totalmente suscetível ao vírus; após as

picadas de mosquitos infecciosos ($\lambda^{v \rightarrow h}$), os indivíduos entram na fase de incubação (E^h) com duração média de $1/\gamma^h$ dias; posteriormente, tornem-se infecciosos (I^h) por $1/\sigma^h$ dias; e que, finalmente, tornem-se recuperados (R^h) com imunidade vitalícia, conforme representação descrita na Figura 01, abaixo:

Figura 10: Modelo Suscetível-Infeccioso-Recuperado (SIR)

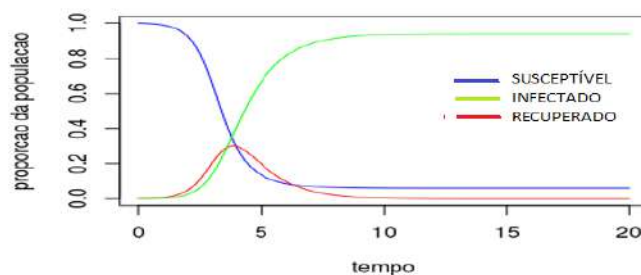


Fonte: Adaptado de KERMACK E MCKENDRICK, 1927.

Portanto, no modelo SIR, os indivíduos podem se tornar infecciosos (β) por algum tempo; mas, ao se recuperarem (α), permanecem imunes para toda a vida. Isto implica dizer que os indivíduos não serão reinfectados.

Na Figura 02, abaixo, segue a representação gráfica do Modelo SIR, em que $S = S(t)$ é o número de indivíduos suscetíveis, $I = I(t)$ é o número de indivíduos infectados e $R = R(t)$ é o número de indivíduos recuperados:

Figura 11: Gráfico do Modelo Suscetível – Infectado – Recuperado (SIR)



Fonte: Adaptado de KERMACK E MCKENDRICK, 1927.

O número reprodutivo (R_0) e o número reprodutivo efetivo (R_e) foram calculados a partir do modelo SIR, que pode ser diretamente da equação dos infectados, em que $R_0 = \beta / \alpha$ e $R_e = \beta S / \alpha$. Neste estudo, o MCMC original baseado em mínimos quadrados foi transformado em um MCMC Bayesiano.

Com relação aos fatores climáticos e ambientais, o modelo levou em consideração inúmeros fatores locais que contribuíram para a epidemia de ZIKV no município, tais como: temperatura, umidade, chuva e ciclo de vida do mosquito. A umidade e precipitação foram incluídas como variáveis climáticas críticas.

A estrutura do modelo foi adaptada para relaxar os principais pressupostos de modelagem sobre a proporção entre os mosquitos e o sucesso da eclosão de ovos. A população de mosquitos foi dividida em dois estágios de vida: fêmeas aquáticas e adultas. Os mosquitos adultos foram subdivididos nas etapas consideradas epidemiologicamente relevantes para a transmissão arboviral, incluindo o período caracterizado como suscetível, bem como o período de incubação e o infeccioso. Diferentemente dos hospedeiros humanos, os mosquitos permanecem infecciosos por toda a vida.

O modelo ODE compreendeu 8 (oito) parâmetros entomológicos dependentes do clima, que incluíram: taxa de transição aquática para adulta; taxa de mortalidade aquática; taxa de mortalidade adulta; taxa de oviposição; período de incubação; probabilidade de transmissão para humanos; taxa de sucesso de incubação; e taxa de picada, dependendo da temperatura e da umidade.

Ainda considerando o subprojeto 1, e com o objetivo de avaliar os aspectos clínicos e identificar possíveis alterações no metabolismo lipídico dos indivíduos infectados pelo ZIKV, foi realizado um estudo de caso controle envolvendo pacientes com suspeita de infecção por arbovírus. Foram selecionados dois grupos: um grupo caso constituído por aqueles com diagnóstico laboratorial positivo para ZIKV e um grupo controle constituído dos casos com resultados negativos para ZIKV. Foi realizada uma análise lipídômica, utilizando as amostras clínicas de sangue dos pacientes desses dois grupos.

Com relação à infecção congênita pelo ZIKV, foi realizado um estudo prospectivo envolvendo as mães e os RN com suspeita de SCZ, a fim de se descreverem os desfechos clínicos, epidemiológicos e sociais em Feira de Santana-

BA no período de 2015 a 2018. Para tanto, foram utilizados os dados do Sistema RESP-Microcefalia e se realizou o acompanhamento dos casos durante o estudo.

Quanto ao subprojeto 2, foi realizado um estudo epidemiológico de corte transversal para a caracterização do genótipo do CHIKV circulante no município do estudo até 2016, bem como para a identificação de possíveis mutações do referido vírus. As análises filogenéticas geradas a partir das sequências detectadas nas amostras dos indivíduos positivos para CHIKV foram confrontadas com outras existentes no GeneBank através do programa BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). As árvores filogenéticas foram obtidas através do alinhamento de sequências usando o programa *Multiple Alignment using Fast Fourier Transform* (MAFFT) e editadas manualmente usando *AliView*, que são métodos de bioinformática utilizados nas análises.

3.2 CAMPO DE ESTUDO

O campo empírico da pesquisa foi o município Feira de Santana-BA, escolhido intencionalmente em função do mesmo apresentar cocirculação dos arbovírus Chikungunya e Zika, e ser endêmico para dengue, bem como por ter sido o primeiro município da Bahia a confirmar a transmissão autóctone do CHIKV genótipo ECSA (TEIXEIRA et al., 2015), em 2014, e de ter registrado a partir de 2015 casos de Síndrome de Guilliam Barré (SGB), microcefalia e outras más formações em RN de gestantes infectadas pelo vírus Zika (FEIRA DE SANTANA, 2015).

Feira de Santana está localizada a 110 (cento e dez) Km de distância da capital baiana, e situada entre o maior entroncamento rodoviário do nordeste brasileiro, por onde circulam pessoas de várias regiões do país. O município é polo do Núcleo Regional de Saúde (NRS), que abrange 72 (setenta e dois) municípios da macrorregião centro-leste do estado da Bahia, e está situado a 12°16'00" de latitude sul e 38°58'00" de longitude oeste, com altitude de 234 (duzentos e trinta e quatro) metros. Apresenta clima semiárido, com população de 617.528 (seiscentos e dezessete mil, quinhentos e vinte e oito) habitantes (IBGE, 2010).

Com relação à rede de atenção à saúde, o município possui 110 (cento e dez) Unidades de Saúde da Família (USF), 18 (dezoito) equipes do Núcleo de Apoio à Saúde da Família (NASF) e 15 (quinze) Unidades Básicas de Saúde (UBS). Conta com 965 (novecentos e sessenta e cinco) Agentes Comunitários de Saúde (ACS) e cerca de 300 (trezentos) Agentes Comunitários de Endemias (ACE) atuando no controle do vetor (FEIRA DE SANTANA, 2019).

A maioria dos casos suspeitos de Chikungunya e Zika, durante a epidemia, foram atendidos nas unidades de média complexidade, representadas pelas 07 (sete) policlínicas existentes no município (FEIRA DE SANTANA, 2016). Por isso, essas unidades e o ambulatório de infectologia da vigilância epidemiológica foram os locais selecionados para a coleta de dados da pesquisa.

Com relação à assistência ao pré-natal, parto e puerpério, o município dispõe de uma maternidade, o Hospital Inácia Pinto dos Santos, conhecida mais popularmente como Hospital da Mulher, que atende a população residente em Feira de Santana e demais municípios da macrorregião. Por isso, a instituição foi também incluída como unidade de referência para a coleta de dados secundários relacionados ao parto e ao recém-nascido.

3.3 POPULAÇÃO DO ESTUDO

Foram elegíveis diferentes populações visando a atender os propósitos estabelecidos em cada estudo. Portanto, no que se refere ao subprojeto 1, fizeram parte do estudo os casos suspeitos de Zika registrados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) e os casos de microcefalia registrados no município. Foram excluídos os casos com diagnóstico laboratorial comprovando infecções por outras etiologias.

Com relação às mães e os RN suspeitos de infecção congênita pelo ZIKV, fizeram parte do estudo todos os RN notificados no sistema RESP-Microcefalia no período, e acompanhados no Ambulatório de Infectologia Pediátrica (AIP) da Secretaria Municipal de Saúde de Feira de Santana, no período de 2015 a 2018. Desta forma, a amostra foi selecionada por conveniência.

Com relação à análise lipidômica, foram participantes do estudo os indivíduos que estavam apresentando sinais e sintomas compatíveis com infecção pelo ZIKV, apresentando exantema e/ou prurido com ou sem febre no momento da coleta das amostras clínicas.

Quanto ao subprojeto 2, fizeram parte do estudo os indivíduos com febre de início súbito acompanhada de dor nas articulações e mialgia com ou sem exantema, ocorridas nos últimos 15 (quinze) dias. A amostra prevista para o estudo também foi selecionada por conveniência.

Foram excluídos da análise os casos não localizados nos endereços, bem como aqueles com informações incompletas, que não tornaram possível a sua identificação, e ainda aqueles com confirmação diagnóstica por outras etiologias.

3.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE COLETA DE DADOS

Os dados climáticos e pluviométricos locais (precipitação, umidade, temperatura) foram adquiridos do Banco de Dados Meteorológico de Educação e Pesquisa (BDMEP, 1961) do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil. Os dados secundários sobre casos de ZIKV e de microcefalia foram coletados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), do Sistema de Informação sobre Nascidos Vivos (SINASC) e do Sistema de Resposta em Emergência em Saúde Pública (RESP – Microcefalia). Os dados sócio demográficos foram coletados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE).

De forma complementar, foram coletados dados de prontuários relacionados aos RN e aos partos realizados nas maternidades de referência do município (Hospital Inácia Pinto dos Santos/Hospital da Mulher, Maternidade do Hospital da Criança) e nas maternidades (Maternidade Stella Gomes e Materday, e Hospital Unimed), para os partos ocorridos na rede privada.

Foram utilizados dois formulários de pesquisa – Formulários 1 e 2 (Apêndices C e D, respectivamente). O Formulário 1 foi aplicado na coleta de dados referentes ao estudo sobre a SCZ, e o Formulário 2 foi utilizado para coleta dos dados referentes ao estudo sobre a caracterização dos pacientes com Chikungunya (subprojeto 2).

Para a mensuração da dor autorreferida por cada participante, foi utilizada a Escala Analógica Visual (EVA). Foram coletadas amostras clínicas de sangue, saliva e urina dos participantes para a confirmação etiológica ou o descarte laboratorial dos casos. Os critérios para coleta e envio das amostras clínicas para os laboratórios responsáveis pelo processamento das amostras foram estabelecidos previamente conforme descrição a seguir.

3.4.1. Procedimentos de coleta das amostras clínicas de sangue, saliva e urina dos participantes do estudo

Foram coletadas amostras de sangue, saliva e urina dos indivíduos com sintomatologia compatível com Chikungunya e Zika. Com relação às mães e os RN com suspeita de SZC, foram coletadas amostras clínicas de sangue da mãe e da criança após o nascimento; e para os casos em que a coleta pôde ser realizada no momento do parto, foi coletado sangue do cordão umbilical, urina e fragmento de placenta do RN, e da genitora sangue, urina e colostro.

O volume de sangue foi o correspondente a 16 (dezesesseis) mL do sangue periférico coletado de cada indivíduo em dois tubos de coleta, sendo um contendo Ácido Etileno-diamino Tetracético (EDTA) e outro tubo seco, para separação de plasma e soro respectivamente.

Os tubos de coleta das amostras foram identificados com etiquetas apropriadas contendo: nome do paciente, tipo de amostras, data da coleta. Após a coleta no laboratório da Secretaria Municipal de Saúde, as amostras de sangue foram centrifugadas imediatamente para a separação de soro e plasma, e mantidas congeladas a -20°C até o transporte para o – Laboratório de Microbiologia Aplicada a Saúde Pública da Universidade Estadual de feira de Santana (LAMASP/UEFS), onde foram armazenadas e congeladas em freezer a -70°C, e enviadas posteriormente em gelo seco para o Laboratório de Hematologia, Genética e Biologia Computacional do Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz (FIOCRUZ/BA), em Salvador.

As amostras de saliva e urina também foram coletadas em coletor universal e identificadas previamente (saliva e urina). Em seguida, armazenadas em freezer a

70°C negativos. Com relação à coleta de saliva, os pacientes foram orientados a primeiro enxaguar a boca com 5 (cinco) mL de água potável e, depois, colhessem a saliva em um coletor universal estéril.

Todas as coletas das amostras clínicas seguiram as normas técnicas preconizadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) com relação às medidas de biossegurança (uso de equipamentos de proteção individual) e foram supervisionadas por um biomédico que participou do estudo.

Objetivando uniformizar as orientações e estabelecer boa comunicação com os profissionais dos serviços de saúde, os pesquisadores capacitaram previamente as equipes dos serviços com relação aos procedimentos técnicos científicos padronizados sobre a coleta, processamento, acondicionamento e envio das amostras para o laboratório colaborador da pesquisa (FIOCRUZ/BA), onde as amostras foram analisadas.

Os procedimentos para diagnóstico molecular das amostras clínicas foram realizados pela equipe do laboratório de arbovírus da Fiocruz-BA através da extração de Ácido Ribonucleico (RNA) nas amostras de plasma, soro, urina e placenta em tubo seco, de acordo com as instruções do fabricante do kit QIAmp Viral RNA minikit (QIAGEN). A extração do RNA viral é imprescindível para a realização de todos os ensaios envolvendo diagnóstico molecular da infecção por ZIKV, que consiste na detecção do RNA viral na amostra. Para realizar a extração do RNA das amostras supracitadas, incluindo repetições necessárias, foram utilizadas duas unidades do kit QIAmp Viral RNA minikit (QIAGEN) contendo colunas para 1000 (mil) amostras cada, totalizando 2000 (duas mil) amostras.

Após isolamento do RNA, as amostras foram dosadas para conhecimento das concentrações de ácido nucleico, utilizando o espectrofotômetro NanoDrop 2000 UV-Vis disponível no laboratório. Esse equipamento também permite conhecer o grau de pureza do RNA extraído. Essas informações são importantes para a realização de ensaios posteriores, como as reações de PCR e sequenciamento, pois esses ensaios necessitam de concentrações padronizadas para o fornecimento de resultado fidedigno e confiável.

O RNA isolado foi destinado às reações de PCR em Tempo Real quantitativo (qPCR) para os genes do envelope dos arbovírus CHIKV, ZIKV e DENV, utilizando o Kit Ensaio TaqMan™ *One Step Multiplex* – Zika, Pan Dengue, Chikungunya e fago MS2 (controle exógeno) (Thermo Fisher). Os *primers* e sondas que compõem esse

kit foram desenhados com base nas sequências genômicas dos arbovírus circulantes no Brasil. Para a realização desses ensaios foram utilizados 13 (treze) kits com capacidade para 96 (noventa e seis) reações cada, totalizando 1248 (mil, duzentas e quarenta e oito) reações.

As amostras cujos resultados foram negativos para o qPCR foram também avaliadas por RT-PCR convencional qualitativo, utilizando iniciadores direcionados às regiões NS1 e NS5 para o ZIKV, NS1 para DENV e E1 para CHIKV, através do Kit OneStep-RT-PCR (Qiagen).

Para as reações de RT-qPCR em tempo real e RT-PCR convencional foram utilizados controles positivos construídos no laboratório da Fiocruz-BA a partir de plasmídeos contendo a região gênica de interesse. Os plasmídeos específicos para ZIKV, DENV e CHIKV (pGEM) foram submetidos à clonagem em bactérias Dh5 α , seguida de minipreparação e maxipreparação plasmidial para aumentar a quantidade e pureza do material, de acordo com os fornecedores. Posteriormente, os plasmídeos purificados foram submetidos a clivagens com enzimas de restrição de sítio único específicas e, após a confirmação da linearização por eletroforese, foi induzida a transcrição *in vitro* utilizando o kit SP6/T7 *Transcription Kit* (Roche). O RNA foi purificado e submetido às reações de RT-PCR.

Os produtos de PCR foram visualizados em gel de agarose em concentração otimizada, seguido de purificação através do kit *QIAquick Gel Extraction* (Qiagen), conforme protocolo do fabricante e, posteriormente, as sequências foram obtidas em equipamento sequenciador de DNA.

Objetivando minimizar a ocorrência de “falsos-negativos” na RT-qPCR e RT-PCR convencional, que podem surgir como resultado da baixa carga viral do paciente no momento da coleta de amostra de sangue, foi realizado o isolamento viral.

O diagnóstico sorológico foi realizado nas amostras coletadas de todos os pacientes para detecção dos anticorpos (IgG e IgM) por ELISA anti-DENV, anti-CHIKV e anti-ZIKV. Em indivíduos com manifestações agudas e em neonatos foram realizados testes ELISA-IgM (anti-DENV, NS1, anti-ZIKV, anti-CHIKV); para gestantes, foram acrescentados o ELISA-IgG.

Como avaliação de diagnóstico diferencial, foram realizadas sorologias para Toxoplasma, Rubéola, Citomegalovírus, Herpes, Sífilis e HIV (TORCHS) nos casos de bebês com suspeita de infecção congênita e suas mães. Esses testes foram

realizados pelo Laboratório da Maternidade Inácia Pinto e/ou pelo Laboratório Central da Bahia (LACEN-BA).

Para o diagnóstico etiológico da dengue, foram empregados testes de ELISA para anticorpos IgG e IgM, e para antígeno NS1. Para o diagnóstico sorológico de Chikungunya, foram empregados também kits comerciais de ELISA para Anticorpos IgG e IgM. As amostras foram guardadas para realização de sorologia para vírus Zika através de aquisição de kits comerciais ou enviadas para testagem por MAC-ELISA “*in house*” em um laboratório colaborador.

3.5 VARIÁVEIS DO ESTUDO

Com relação ao subprojeto 1, as variáveis epidemiológicas utilizadas foram: número de casos de Zika e suspeitos de SCZ por semanas epidemiológicas, bem como dados climáticos e pluviométricos como relação à temperatura, umidade, chuva e ciclo de vida do mosquito. A umidade e precipitação foram incluídas como variáveis climáticas críticas.

No que se refere às análises relacionadas à SCZ, foram incluídas as variáveis socioeconômicas, demográficas e clínicas da mãe, tais como: idade, escolaridade, raça/cor, ocupação, renda familiar, estado civil, endereço residencial (rua e bairro de residência), tipo de habitação, número de pessoas residentes no domicílio, coleta de lixo, energia elétrica e abastecimento de água.

Já as variáveis obstétricas maternas foram: número de gestações e de abortos; número de consultas de pré-natal; comorbidades maternas; intercorrências durante a gestação; uso de fumo, bebidas alcoólicas, produtos tóxicos e drogas ilícitas durante a gestação; histórico de doença exantemática na gestação: sinais e sintomas apresentados, data do início dos sintomas e trimestre de gestação.

Dentre as variáveis demográficas, antropométricas e clínicas do recém-nascido, foram consideradas: sexo, data de nascimento, idade gestacional ao nascer, perímetro cefálico ao nascer, peso ao nascer, comprimento ao nascer, momento de detecção da microcefalia, local do parto e tipo de parto.

Variáveis laboratoriais com resultados de exames realizados pela mãe e o nascido vivo: resultados de exames moleculares e marcadores sorológicos para a

detecção de antígenos para dengue, Chikungunya, Zika, toxoplasmose, rubéola, sífilis, citomegalovírus, herpes (TORSCH), parvovírus B19, (reagente, não reagente, não realizado).

Variáveis relacionadas aos sinais detectados nos nascidos vivos por meio de exames de imagem, como Ultrassonografia Transfontanela (USTF), Tomografia Computadorizada (TMC) ou Ressonância Magnética (RM): lesões neurológicas de calcificações ou microcalcificações cerebrais, dilatação ventricular ou ventriculomegalia, lisencefalia, atrofia cerebral e digenesia do corpo caloso, entre outros (presença ou ausência).

Para o subprojeto 2, foram selecionadas as variáveis sociodemográficas (idade, sexo, escolaridade, ocupação e raça/cor), clínicas (data de início dos sintomas, sinais e sintomas, intensidade da dor, articulações afetadas, presença ou ausência de comorbidades), data da coleta dos exames e resultados dos exames laboratoriais para CHIKV (reagente, não reagente, inconclusivo) dos indivíduos examinados.

3.6 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados referentes ao subprojeto 1 foram tabulados e analisados através do pacote estatístico R, (função `heatmap.2`; v 3.0.1) e apresentados sob a forma de tabelas, gráficos e mapas, sendo utilizada a estatística Bayesiana.

A análise dos dados do estudo envolvendo os casos de SCZ foi feita através do *Software Stata* versão 14 e do programa *Statistical Package for Social Science* (SPSS) versão 22.0. Foram utilizadas as médias, desvio padrão, mínimo e máximo para as variáveis contínuas, e frequências e porcentagens para as variáveis categóricas.

Com relação às análises filogenéticas das sequências do CHIKV geradas, as mesmas foram confrontadas com outras existentes no GeneBank através do programa BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) para a verificação de similaridade em diferentes trechos das sequências geradas com as já depositadas no banco. As árvores filogenéticas foram obtidas através do alinhamento de sequências usando o MAFFT, que é um Programa de alinhamento múltiplo para

sequências de aminoácidos ou nucleotídeos, e foram editadas manualmente usando *AliView*, que é um visualizador e editor de alinhamento.

3.7 ASPECTOS ÉTICOS

A fim de cumprir as normas previstas na Resolução nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde, buscamos respeitar os princípios básicos da bioética: a autonomia, a não maleficência, a beneficência, a justiça e equidade (BRASIL, 2012a). Em obediência a esta Resolução, a presente pesquisa tomou precauções para que todos os direitos dos sujeitos da pesquisa fossem respeitados. Para isso, foi elaborado um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) adequado à compreensão dos diferentes sujeitos da pesquisa (APÊNDICE A). Como um dos grupos da população do estudo envolve crianças menores de idade, foi utilizado o Termo de Assentimento livre e Esclarecido (TALE) para que as mães e/ou responsáveis pelos menores autorizassem a participação da criança no referido estudo (APÊNDICE B).

Os pesquisadores asseguram que foi mantido o anonimato das informações, buscando respeitar a integridade moral, intelectual, social e cultural dos sujeitos envolvidos na pesquisa. Portanto, respeitando a autonomia do sujeito, deixamos claro que a sua participação no estudo era livre, podendo abandonar a pesquisa a qualquer momento. Foi assegurado aos participantes do estudo o apoio da equipe da Secretaria de Saúde, que é parceira desta pesquisa, quanto à disponibilidade de um profissional Psicólogo para atender às necessidades de apoio emocional em caso de algum participante expressar livremente o desejo, e estando em acordo.

Como benefícios da pesquisa, após sua conclusão, apresentaremos os resultados para os profissionais de saúde, bem como para os gestores do município. O TCLE foi assinado em duas vias por cada sujeito, ficando uma via em posse do pesquisado e outra em posse do pesquisador. O projeto já foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Pesquisa Gonçalo Muniz, Salvador- BA, conforme Parecer número 1.100.349 (ANEXO 14).

4 RESULTADOS

Pela abrangência do objeto do estudo, dois arbovírus emergentes, e pela concomitância da circulação destes, o estudo apresentou algumas limitações, a saber: a) a semelhança clínica dos sinais e sintomas, o que levava a confundir na definição de caso; b) a semelhança dos vírus Dengue e Zika que, por serem do mesmo gênero (*flavivírus*) e da mesma família (*flaviridae*), apresentavam reação cruzada, dificultando o diagnóstico do ZIKV pelo método sorológico; c) curto período de viremia, principalmente do ZIKV, fez com que muitos indivíduos infectados não chegassem ao serviço de saúde em período adequado para a coleta de material para exames. Aliada a isso, a estrutura insuficiente dos serviços de saúde para a coleta, processamento, armazenamento e envio das amostras para análise foi um dificultador do andamento da pesquisa, uma vez que as análises laboratoriais foram realizadas no laboratório do Instituto Gonçalo Muniz, em Salvador – BA.

Essas dificuldades, embora tenham repercutido como atraso no desenvolvimento da pesquisa, foram paulatinamente superadas, graças ao empenho dos pesquisadores, dos gestores e demais profissionais envolvidos.

Apresentamos, a seguir, os resultados de cada subprojeto (1 e 2) da pesquisa em forma de artigos científicos, alguns dos quais já publicados em periódicos nacionais e internacionais, e outros encontram-se em processo de submissão.

O **subprojeto 1**, que envolve os estudos sobre a Dinâmica de transmissão do ZIKV, as repercussões clínicas e sociais nos indivíduos infectados, incluindo a Síndrome Congênita do Zika em Feira de Santana – BA, abrange os seguintes artigos:

Artigo 1 (publicado): *Epidemiological and ecological determinants of Zika vírus transmission in an urban setting.*

Artigo 2 (em processo de submissão): Achados clínicos em recém-nascidos com Síndrome Congênita do Zika em um município do Nordeste do Brasil.

Artigo 3 (em processo de submissão): Alterações oculares em recém-nascidos com Síndrome Congênita do Zika, Bahia-Brasil.

Artigo 4 (publicado): *Genetic evidence of Zika vírus in mother's breast milk and body fluids of a newborn with severe congenital defects.*

Artigo 5 (submetido): Desigualdades sociais no contexto da Síndrome Congênita do Zika.

Artigo 6 (publicado): Análise lipidômica revela alteração sérica de plasmalógenos em pacientes infectados pelo vírus ZIKV.

Já o **subprojeto 2** se refere à caracterização do genótipo do CHIKV circulante no município do estudo até 2016, e à avaliação de possíveis mutações do referido vírus representado no artigo abaixo:

Artigo 7 (publicado): *Persistence of Chikungunya ECSA genotype and local outbreak in an upper medium class neighborhood in Northeast Brazil.*

SUBPROJETO 1 – ARTIGO 1

LOURENÇO, J.; LIMA, Maricelia. M. de; ALCANTARA, Luiz C. J. et al. *Epidemiological and ecological determinants of Zika vírus transmission in an urban setting*. *Elife*, 6, e29820, 2017. DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29820>.



RESEARCH ARTICLE



Epidemiological and ecological determinants of Zika virus transmission in an urban setting

José Lourenço^{1*}, Maricelia Maia de Lima², Nuno Rodrigues Faria¹, Andrew Walker¹, Moritz UG Kraemer¹, Christian Julian Villabona-Arenas³, Ben Lambert¹, Erenilde Marques de Cerqueira⁴, Oliver G Pybus¹, Luiz CJ Alcantara², Mario Recker⁵

¹Department of Zoology, University of Oxford, Oxford, United Kingdom;

²Laboratory of Haematology, Genetics and Computational Biology, FIOCRUZ, SalvadorBahia, Brazil; ³Institut de Recherche pour le Développement, UMI 233, INSERM U1175 and Institut de Biologie Computationnelle, IIRMM, Université de Montpellier, Montpellier, France; ⁴Centre of PostGraduation in Collective Health, Department of Health, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de SantanaBahia, Brazil; ⁵Centre for Mathematics and the Environment, University of Exeter, Penryn, United Kingdom

Abstract The Zika virus has emerged as a global public health concern. Its rapid geographic expansion is attributed to the success of *Aedes* mosquito vectors, but local epidemiological drivers are still poorly understood. Feira de Santana played a pivotal role in the Chikungunya epidemic in Brazil and was one of the first urban centres to report Zika infections. Using a climate-driven transmission model and notified Zika case data, we show that a low observation rate and high vectorial capacity translated into a significant attack rate during the 2015 outbreak, with a subsequent decline in 2016 and fade-out in 2017 due to herd-immunity. We find a potential Zika-related, low risk for microcephaly per pregnancy, but with significant public health impact given high attack rates. The balance between the loss of herd-immunity and viral re-importation will dictate future transmission potential of Zika in this urban setting.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29820.001>

*For correspondence: jose.lourenco@zoo.ox.ac.uk

Competing interests: The authors declare that no competing interests exist.

Funding: See page 19

Received: 21 June 2017

Accepted: 04 September 2017

Published: 09 September 2017

Reviewing editor: Mark Jit, London School of Hygiene & Tropical Medicine, and Public Health England, United Kingdom

© Copyright Lourenço et al. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use and redistribution provided that the original author and source are credited.

Introduction

The first cases of Zika virus (ZIKV) in Brazil were concurrently reported in March 2015 in Camaçari city in the state of Bahia (Campos et al., 2015) and in Natal, the state capital city of Rio Grande do Norte (Zanluca et al., 2015). During that year, the epidemic in Camaçari quickly spread to other municipalities of the Bahia state, including the capital city of Salvador, which together accounted for over 90% of all notified Zika cases in Brazil in 2015 (Faria et al., 2016a). During this period, many local Bahia health services were overwhelmed by an ongoing Chikungunya virus (CHIKV, East Central South African genotype) epidemic, that was first introduced in 2014 in the city of Feira de Santana (FSA) (Nunes et al., 2015; Faria et al., 2016b). The role of FSA in the establishment and subsequent spread of CHIKV highlights the importance of its socio-demographic and climatic setting, which may well be representative for the transmission dynamics of arboviral diseases in the context of many other urban centres in Brazil and around the world.

On the 1st February 2015 the first ZIKV cases were reported in FSA, followed by a large epidemic that continued into 2016. The rise in ZIKV incidence in FSA coincided temporally with an increase in

eLife digest Mosquitoes can transmit viruses that cause Zika, dengue and several other tropical diseases that affect humans. Zika virus usually causes mild symptoms, but it is thought that infection during pregnancy can lead to brain abnormalities, including microcephaly, where babies are born with an abnormally small head. Recent studies have shed light on how the Zika virus spread from Africa to reach South America, the Caribbean and North America. However, much less is known about the ecological factors that contribute to the spread of the virus within towns, cities and other local areas.

In 2015, Brazil was struck by an outbreak of the Zika virus that led to an international public health emergency. Lourenço et al. used a mathematical model to explore the local conditions within Feira de Santana (a major urban center in Brazil) that contributed to the outbreak. The model took into account numerous factors, including temperature, humidity, rainfall and the mosquito life-cycle, which made it possible to reconstruct the history of the virus over the past three years and to make projections for the next decades.

It revealed that most of the infections occurred during 2015, with approximately 65% of the population infected. The incidences of new infections declined in 2016, as increasing numbers of local people had already been exposed to the virus and became immune. Temperature and humidity appeared to have played a critical role in sustaining the mosquito population carrying the Zika virus.

Further analysis suggests that the risk of Zika virus causing microcephaly is very low – only 0.3–0.5% of the pregnant women in Feira de Santana who were infected with Zika gave birth to a baby with the condition. What therefore makes Zika a public health concern is the combination of a low risk with very high infection rates, which can affect a large number of pregnancies.

This study will help researchers and policy makers to predict how the Zika virus will behave in the coming years. It also highlights the limitations and successes of the current system of surveillance. Moreover, it will help to identify critical time periods in the year when mosquito control strategies should be implemented to limit the spread of this virus. In future, this could help shape new local strategies to control Zika virus, dengue and other diseases carried by mosquitoes.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29820.002>

cases of Guillain-Barré syndrome (GBS) and microcephaly (Faria et al., 2016a), with an unprecedented total of 21 confirmed cases of microcephaly in FSA between January 2015 and May 2017. There is wide statistical support for a causal link between ZIKV and severe manifestations such as microcephaly (Rubin et al., 2016; de Araújo et al., 2016; Soares de Araújo et al., 2016; Honein et al., 2017; Brasil et al., 2016; de Oliveira et al., 2017), and the proposed link in 2015 led to the declaration of the South American epidemic as an international public health emergency by the World Health Organization (WHO) in 2016; the response to which has been limited to vector control initiatives and advice to delay pregnancy in the affected countries (WHO, 2016b; WHO, 2016a). With few cohort studies published (Honein et al., 2017; Brasil et al., 2016) and the lack of an established experimental model for ZIKV infection (Aman and Kashanchi, 2016; Dowall et al., 2016), modelling efforts have taken a central role for advancing our understanding of the virus's epidemiology (Chowell et al., 2016; Ferguson et al., 2016; Bogoch et al., 2016; Nishiura et al., 2016; Zhang et al., 2016; Perkins et al., 2016; Messina et al., 2016). In particular, our knowledge on parameters of public health importance, such as the basic reproduction number (R_0), the duration of infection (Ferguson et al., 2016), attack and reporting rates (Kucharski et al., 2016), the risk of sexual transmission (Maxian et al., 2017; Gao et al., 2016; Moghadas et al., 2017) and birth-associated microcephaly (Bewick et al., 2016; Perkins et al., 2016) has advanced significantly from studies using transmission models. Climate variables are critical for the epidemiological dynamics of Zika and other arboviral diseases, such as dengue (Lourenço and Recker, 2014; Feldstein et al., 2015; Kraemer et al., 2015; van Panhuis et al., 2015) and chikungunya (Poletti et al., 2011; Mouton et al., 2004; Saje et al., 2016). Although these have also been previously addressed in mapping and/or modelling studies (e.g. (Bogoch et al., 2016; Zhang et al., 2016; Perkins et al., 2016; Messina et al., 2016)), their effects as ecological drivers for the

emergence, transmission and endemic potential of the Zika virus, especially in the context of a well described outbreak, have not yet been addressed in detail.

In this study, focusing on an urban centre of Brazil (Feira de Santana), we explicitly model the mosquito-vector lifecycle under seasonal, weather-driven variations. Using notified case data of both the number of suspected Zika infections and confirmed microcephaly cases, we demonstrate how the combination of high suitability for viral transmission and a low detection rate resulted in an extremely high attack rate during the first epidemic wave in 2015. The rapid accumulation of herd-immunity significantly reduced the number of cases during the following year, when total ZIKV-associated disease was peaking at the level of the country. Projecting forward we find that the demographic loss of herd-immunity together with the frequency of reintroduction will dictate the risk of reemergence and endemic establishment of Zika in Feira de Santana. The conclusions of this study should be transferable to major urban centres of Brazil and elsewhere with similar climatic and demographic settings.

Methods summary

To model the transmission dynamics of ZIKV infections and estimate relevant epidemiological parameters, we fitted an ento-epidemiological, climate-driven transmission model to ZIKV incidence and climate data of FSA between 2015 and 2017 within a Bayesian framework, similar to our previous work on a dengue outbreak in the Island of Madeira (Loureño and Recker, 2014).

The model is based on ordinary differential equations (ODE) describing the dynamics of viral infections within the human and mosquito populations (Equations 1-5 and 6-10, respectively). The human population is assumed to be fully susceptible before the introduction of ZIKV and is kept constant in size throughout the period of observation. After an infectious mosquito bite, individuals first enter an incubation phase, after which they become infectious to a mosquito for a limited period of time. Fully recovered individuals are assumed to retain life-long immunity. We assumed that sexual transmission did not significantly contribute to transmission dynamics and therefore ignored its effects (Yakob et al., 2016; Moghadas et al., 2017; Maxian et al., 2017).

For the dynamics of the vector populations we divided mosquitoes into two life-stages: aquatic and adult females. Adult mosquitoes were further divided into the epidemiologically relevant stages for arboviral transmission: susceptible, incubating and infectious. In contrast to human hosts, mosquitoes remain infectious for life. The ODE model comprised 8 climate-dependent entomological parameters (aquatic to adult transition rate, aquatic mortality rate, adult mortality rate, oviposition rate, incubation period, transmission probability to human, hatching success rate and biting rate), whose dependencies on temperature, rainfall and humidity were derived from other studies (see Table 1).

Four parameters (baseline mosquito biting rate, mosquito sex ratio, probability of transmission from human-to-vector and human lifespan) were fixed to their expected mean values, taken from the literature (see Table 2). To estimate the remaining parameters, alongside parameter distributions regarding the date of first infection, the human infectious and incubating periods, and the observation rate of notified ZIKV cases, we fitted the ODE model to weekly notified cases of ZIKV in FSA using a Bayesian Markov-chain Monte Carlo (MCMC) approach. The results are presented both in

Table 1. Model climate-dependent parameters.

Notation	Description
$\epsilon_A(t)$	transition rate from aquatic to adult mosquito life-stages
$\mu_A(t)$	mortality rate of aquatic mosquito life-stage
$\mu_V(t)$	mortality rate of adult mosquito life-stage
$\theta^v(t)$	(human) intrinsic oviposition rate of adult mosquito life-stage
$\gamma^v(t)$	(vector) extrinsic incubation period of adult mosquito life-stage
$\phi^{v \rightarrow h}(t)$	vector-to-human probability of transmission per infectious bite
$c^v(t)$	egg hatching success
$a^v(t)$	adult vector biting rate

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29820.003>

Table 2. Model constant parameters.

Notation	Value	Description	References
a^v	0.25 per day	mosquito biting rate	[76, 88]
f	0.5	proportion of females (sex ratio)	[52, 59]
ϕ^{h-v}	0.5	human-to-vector probability of transmission per infectious bite	–
$1/\mu^h$	75 years	human mean lifespan	[83]

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29820.004>

terms of mean dynamic behaviour of the ODE under the MCMC solutions and posterior distributions of key epidemiological parameters. A full description of the fitting approach and the estimated parameters can be found in the section Materials and methods.

Results

On the 1st February 2015 the first Zika virus (ZIKV) case was reported in Feira de Santana (FSA). Weekly cases remained very low for the following two months, adding up to just 10 notified cases by the end of March that year (Figure 1A). A rapid increase in the number of cases was observed in April, coinciding with Micaêta, a local carnival-like festival that takes place across the urban centres of Bahia. The epidemic peaked in July 2015, which was followed by a sharp decline in notified cases over the next 1–2 months. This first epidemic wave was followed by a significantly smaller outbreak in 2016, peaking around March, and an even smaller outbreak in 2017 with no discernable epidemic peak.

Confirmed (and monthly aggregated) microcephaly (MC) cases were absent by November 2015, after which a small epidemic was observed with peak counts in January 2016. We found a time lag of 5–6 months (20–24 weeks) between the first reported Zika epidemic wave and the MC peak in case counts. This coincides with previous observations suggesting a link between the development of neurological complications in newborns and ZIKV infection during the second trimester (Faria et al., 2016a). We note that our lag may be offset by around 1–4 weeks, however, since the date of MC cases in our dataset represents the date of diagnostic confirmation, which is usually done postpartum.

Overall, the epidemic behaviour in FSA was in sharp contrast with trends observed in notified cases across Brazil (BR) as a whole, for which the second epidemic in 2016 was approximately 6 times larger than the one in 2015 (Figure 1A), suggesting the Bahia state as a focus point in the emergence and initial spread of ZIKV in Brazil (Faria et al., 2016c; Faria et al., 2016a). Nonetheless, a clear temporal synchronization between country level and FSA case counts could be observed.

The age distribution of notified ZIKV cases in FSA suggested a higher proportion of cases between 20 and 50 years of age, but with no discernible differences between the two epidemics (Figure 1B, top panel). However, when corrected for the expected number of cases assuming an equal risk of infection per age class, we found the number of cases within this age group to be closer to most other groups (incidence rate ratio, IRR, close to 1, Figure 1B, bottom panel). The per capita case counts within the youngest age class (<1 years) appeared higher than expected, with an IRR significantly above 1 and also higher in 2016 (IRR = 4.4, 95% CI [2.8, 7.0]) than in 2015 (IRR = 1.95, 95% CI [1.5, 2.6]), possibly indicating biased reporting and/or health care seeking with increased awareness of the disease. There was also a consistent trend towards reduced IRR in the elderly (>65 years), although with significant uncertainties. Finally, a small increase in IRR could be detected in the 20–34 year olds, which could potentially be a signature of sexual transmission in this age group (Gao et al., 2016; Carlson et al., 2016; Foy et al., 2011; Turmel et al., 2016; Yakob et al., 2016; Maxian et al., 2017; Moghadas et al., 2017). At this stage and without more detailed data it was not possible to ascertain whether these findings indicated age-related risk of disease, age-dependent exposure risk or simply notification biases in particular age groups, however.

The spatial distribution of total notified cases for BR highlighted the expected clustering of ZIKV cases within the Bahia state by the end of 2015 as well as the wider geographical range by July 2016 (Figure 1C). We speculate that the difference in geographical range could explain the higher number of cases observed during the 2016 epidemic at the country level. This, on the other hand, did

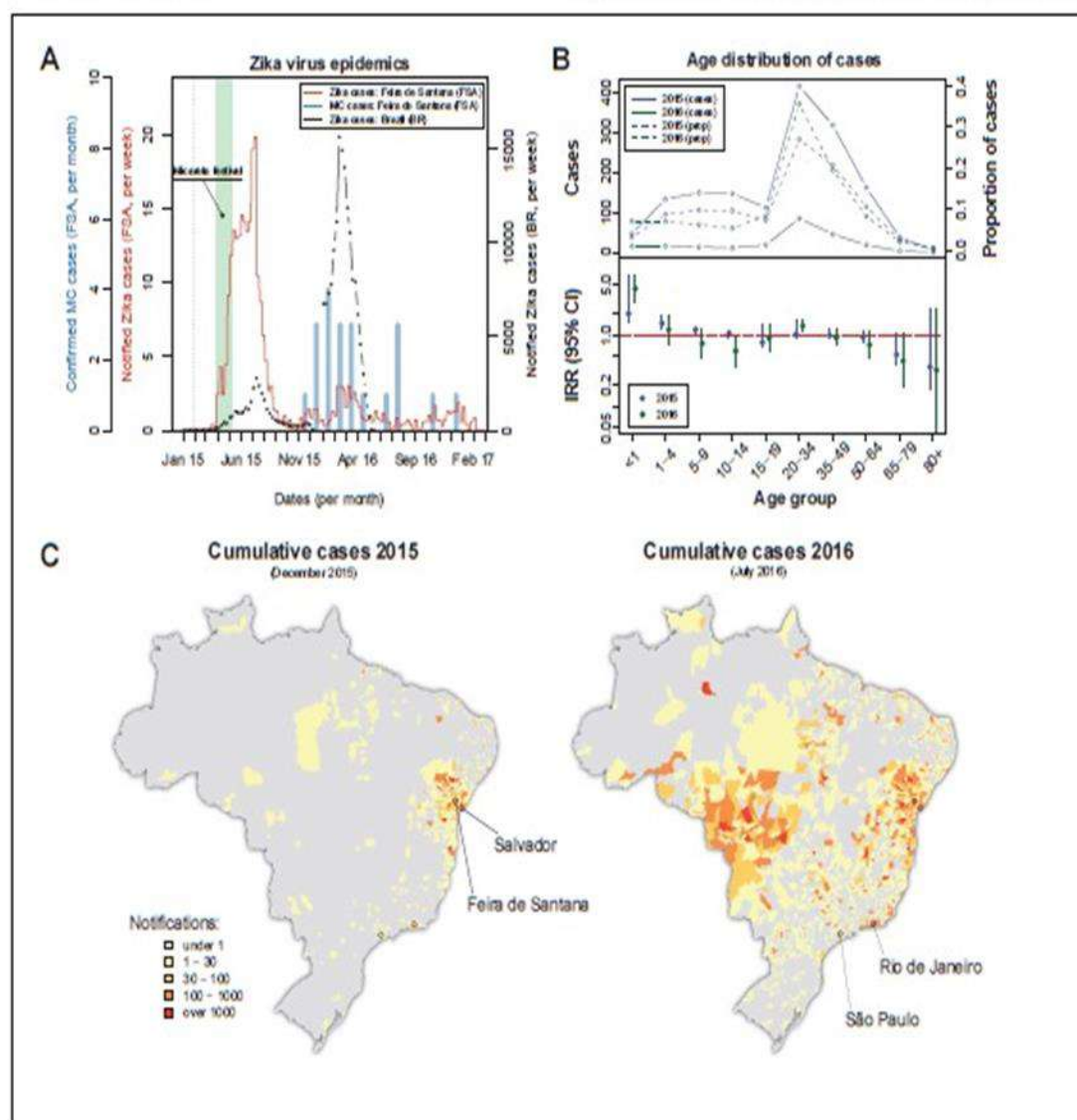


Figure 1. Zika virus epidemics in Feira de Santana and Brazil (2015–2016). (A) Comparison of weekly notified Zika cases (full red line) with monthly Microcephaly cases (blue bars) in Feira de Santana (FSA), overlaid with total Zika cases at the level of the country (BR, black dotted line). BR data for weeks 50–52 was missing. Green area highlights the time period for the Micaêta festival and the dotted grey line the date of first notification. Incidence series is available as Dataset 3 and Microcephaly series as Dataset 4. (B) Age distribution and incidence rate ratio (IRR) for the 2015 (blue) and 2016 (green) FSA epidemics (data available as Dataset 2). The top panel shows the number of cases per age (full lines) and the proportion of total cases per age class (dashed lines), which peak at the age range 20–30. The bottom panel shows the age-stratified incidence risk ratio (IRR, plus 95% CI), with the red dotted line indicating $IRR = 1$. (C) Spatial distribution of cumulative notified cases in BR at the end of 2015 (left) and mid-2016 (right). Two largest urban centres in the Bahia state (Salvador, Feira de Santana) and at the country level (São Paulo, Rio de Janeiro) are highlighted.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29820.005>

not explain why the second epidemic in FSA was nearly 7 times smaller than the first and with only sporadic cases in 2017. To answer this question and to obtain robust parameter estimates of ZIKV epidemiological relevance we utilised a dynamic transmission model, which we fitted to notified

case data and local climate variables of FSA within a Bayesian framework (see Materials and methods).

Climate-driven vectorial capacity

The reliance on *Aedes* mosquitoes for transmission implies that the transmission potential of ZIKV is crucially dependent on temporal trends in the local climate. We therefore investigated daily rainfall,

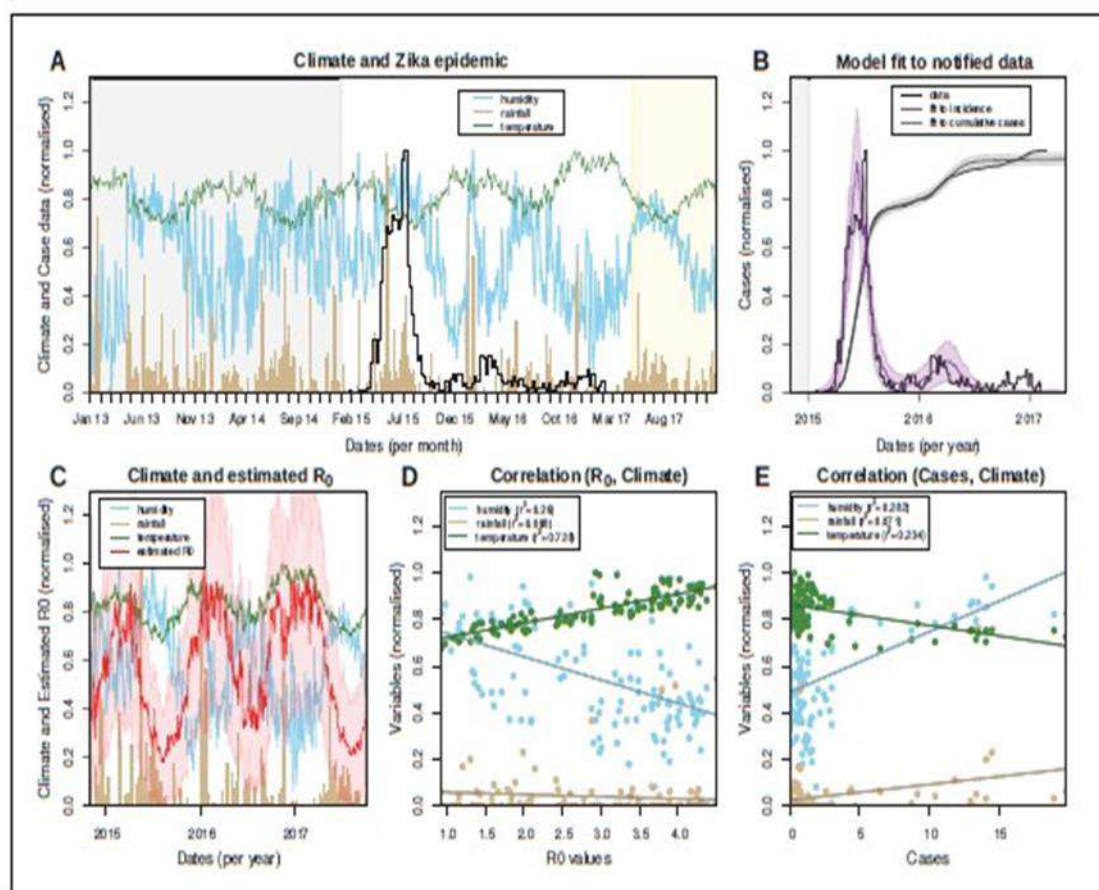


Figure 2. Eco-epidemiological factors and model fit to notified cases. (A) Zika case data (black) and daily climatic series for rainfall (gold), humidity (blue) and mean temperature (green) for Feira de Santana (FSA). Climate data available as Dataset 1. (B) Resulting Bayesian MCMC fit to weekly (black line: data, purple line: model fit) and cumulative incidence (black line: data, grey line: model fit). (A,B) The grey areas highlight the period before the Zika outbreak, the white areas highlight the period for which notified case data was available, and the yellow shaded areas highlight the period for which mean climatic data was used (see Materials and Methods). (C) Climatic series as in A and estimated R_0 for the period of the outbreak (2015–2017) (R_0 absolute values in Figure 2—figure supplement 3). (D) Correlations between the estimated R_0 and climatic variables (intercepts: 0.839 for humidity, 0.067 for rainfall and 0.658 for temperature). (E) Correlations between the case counts and climatic variables (intercepts: 0.487 for humidity, 0.024 for rainfall and 0.862 for temperature). (D,E) Points presented are from timepoints (weeks) for which incidence was notified. (A–E) Y-axis normalised between 0 and 1 for visualisation purposes.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29820.006>

The following figure supplements are available for figure 2:

Figure supplement 1. Relationship between temperature and egg hatching success.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29820.007>

Figure supplement 2. Prior selection and sensitivity.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29820.008>

Figure supplement 3. Eco-epidemiological factors and model fit to notified cases.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29820.009>

humidity and mean temperature data in FSA between 2013 and May 2017 (Figure 2A). The data showed erratic fluctuations in rainfall with sporadic episodes of intense rain but without a clear seasonal trend. Temperature, on the other hand, presented a much clearer seasonal signature with fixed amplitudes between 22 and 27 degree Celsius, peaking between December and May. Humidity showed an intermediate scenario and appeared correlated with periods of intense rainfall but negatively correlated with temperature.

By fitting our climate-driven transmission model to the local climate and ZIKV case data (see Material and Methods and Figure 2B) we obtained parameter estimates for the mosquito lifespan as well as the viral extrinsic incubation period (EIP) for the same period. Mosquito lifespan and EIP are main drivers of vectorial capacity and both showed seasonal oscillations with median values of around 9 and 5 days, respectively (Figure 2—figure supplement 3), which are in line with ranges found in the literature (Trpis *et al.*, 1995; Trpis and Hausermann, 1986; Andraud *et al.*, 2012; Hugo *et al.*, 2014 and Table 3). Importantly, there was a strong negative temporal correlation between these two variables, with periods of longer EIP coinciding with shorter lifespans and vice-versa. This negative relationship resulted in large temporal variations in vectorial capacity and thus seasonal oscillations in the daily reproductive numbers, R_0 , with a median value of 2.7 in the period 2015–2017 (range 1.0–4.3, Figure 2—figure supplement 3), and 2.2 before 2015, peaking in the local summer months between December and April (Figure 2C). Importantly, R_0 remained above 1 for the entire period, indicating a high suitability for ZIKV in FSA. It should be noted that R_0 in this context is a time-dependent variable, i.e. $R_0(t)$, but out of convenience we simply refer to it as R_0 .

We also looked at the relationship between each climatic variable and R_0 and case counts (Figure 2D and E, respectively). The transmission potential was strongly and positively correlated with temperature ($r^2 = 0.728$) and negatively with humidity ($r^2 = 0.26$). As expected, from the highly random patterns in the climate series, there was no correlation between R_0 and rainfall ($r^2 = 0.008$). In contrast, there was an opposite trend in the relationship between the climatic variables and case counts, with a positive correlation with humidity ($r^2 = 0.28$) and a negative correlation with temperature ($r^2 = 0.23$). As with R_0 there was only a weak observable trend in the relationship between rainfall and the number of Zika cases. It should be understood that this macroscopic analysis does not take into account the expected temporal lags due to mosquito development, incubation periods etc., so the purpose here was simply to identify a general qualitative relationship between climate, vectorial capacity and disease incidence.

Model fit and parameter estimates

Four parameters of public health importance were estimated by our MCMC framework: the date of introduction, the human infectious period, the human (intrinsic) incubation period, and the case observation rate (Table 4). The posterior for the introduction date showed a strong support for an introduction into FSA in early-mid December 2014 (estimated median: 10th of December), i.e. around 7–8 weeks before the first notified case (Figure 3A). The estimated human infectious period was ~6 days (Figure 3C, median = 5.9, 95% CI [5.47–6.14]), which was very similar to the estimated incubation period (Figure 3D, median = 5.8, 95% CI [5.6–6.15]) and in line with previously estimated ranges for ZIKV (Table 3). In this context it is important to note that informative priors had been used for these 2 parameters (Figure 2—figure supplement 2), and the posterior for the incubation period presented an adjustment of ~ -0.5 days relative to the proposed distribution from the literature.

Table 3. Literature-based reports on key ZIKV epidemiological and entomological parameters.

Parameter/Function	Values and ranges reported	References
Intrinsic incubation period	6.5, 5.9 days	[34, 50]
Human infectious period	4.7, 9.9 days	[34, 50]
Extrinsic incubation period	8.2, 10, 7 days	[34, 51, 84]
Attack rates	74, 50, 73, 94, 52%	[17, 26, 47, 28]
R_0	3.2, 2.5, 4.8, 2.05, 2.6–4.8, 4.3–5.8, 1.8–20	[17, 37, 38, 47, 64]
Observation rate	0.024, 0.06, 0.03, 0.11	[17, 37, 47]

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29820.010>

Table 4. Model estimated parameters.

Notation	Description	Ranges / priors
t_0	time point of first case (in a human)	$(0, \infty)$
K	aquatic carrying capacity	$(0, \infty)$
η	linear factor for mosquito mortality	$(0, \infty)$
α	linear factor for extrinsic incubation period	$(0, \infty)$
ρ	non-linear factor for effects of humidity and rainfall	$(0, \infty)$
σ^h	human infectious period	$(0, 15)$
γ^h	human (intrinsic) incubation period	$(0, 15)$
ξ	observation rate	$(0, 1)$

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29820.11>

Of particular interest here was the very low observation rate (Figure 3B), with a median of just under 0.004 (median = 0.0039, 95% CI [0.0038–0.0041]), which equates to less than 4 in 1000 infections having been notified during the epidemic in FSA. Although lower than other previously reported estimates, this would explain the relatively long period of low viral circulation before the epidemic took off in April 2015. That is, based on our estimates, there were around 2,700 Zika infections during the first 2 months, of which only 10 were notified. More importantly, when applying this rate to the total number of cases we found that by the end of the first epidemic wave around 65% (95% CI [57.0–72.9]) of the population in FSA had been infected by the virus. This high attack rate is not unusual for Zika, however, and is in general agreement with observations elsewhere (Table 3).

Future transmission potential for Zika virus

As illustrated by the cumulative attack rate in Figure 4A, and similar to estimates from other regions in the world (Table 3), nearly 65% of the population got infected by ZIKV by the end of 2015, which rose to over 75% (95% CI [76.9–84.3]) by the end of 2016. During the first wave most cases occurred off-season, here defined by our estimated daily reproductive number (R_d), while the second wave appeared much more synchronized with the period of high transmission potential. Notably, this temporal phenomenon has also been observed for the chikungunya virus (CHKV) when it was first introduced into FSA in 2014 (Farla et al., 2016b).

The amassed accumulation of herd-immunity during the first wave resulted in a marked difference between the estimated basic reproductive number, R_0 , and the effective reproductive ratio (R_e) by the end of 2015 (Figure 4A). This in turn might explain the marked reduction in Zika cases in FSA in 2016, at a time when the virus was infecting large numbers of individuals elsewhere in the country (Figure 1A,C). At the start of 2016, R_e was estimated to be more than 3 times smaller than R_0 , which increased to 5 by the beginning of 2017. Projecting into the future using average climate data for this region showed that the mean effective reproductive number is expected to remain low and close to 1 for the next few years, suggesting a very weak potential for ZIKV endemicity in the near future. In fact, the sporadic nature of Zika cases in 2017 strongly suggest that herd immunity in this region is at a sufficiently high level to prevent sustained transmission. Furthermore, during 2017, R_e was on average less than 1 (mean: 0.62, range: 0.25–1.06), and we would therefore argue that the small number of cases (1.4% of 2015–2017) were mostly a result of small transmission chains, either from resonant transmission from the previous year, or from introduction events from nearby locations. Crucially, this would also explain why our ODE model matched both the dynamics and the sizes of the first two epidemic waves in FSA between 2015 and 2016 but failed to capture the small number of cases during 2017 (Figure 2B).

Without external introductions of infectious individuals (human or vector) our results predicted an epidemic fade-out by 2017, in accordance with the lack of notified cases after March 2017 (Figure 4A). We therefore projected ZIKV's epidemic potential over the next two decades (until 2040) using stochastic simulations (see Material and Methods) while assuming different rates of viral introduction (Figure 4B,C). Our results showed that the potential for ZIKV to cause another outbreak or to establish itself endemically in FSA is strongly dependent on the frequency of re-introductions, whereby higher rates of external introductions might in fact help to sustain high levels of herd

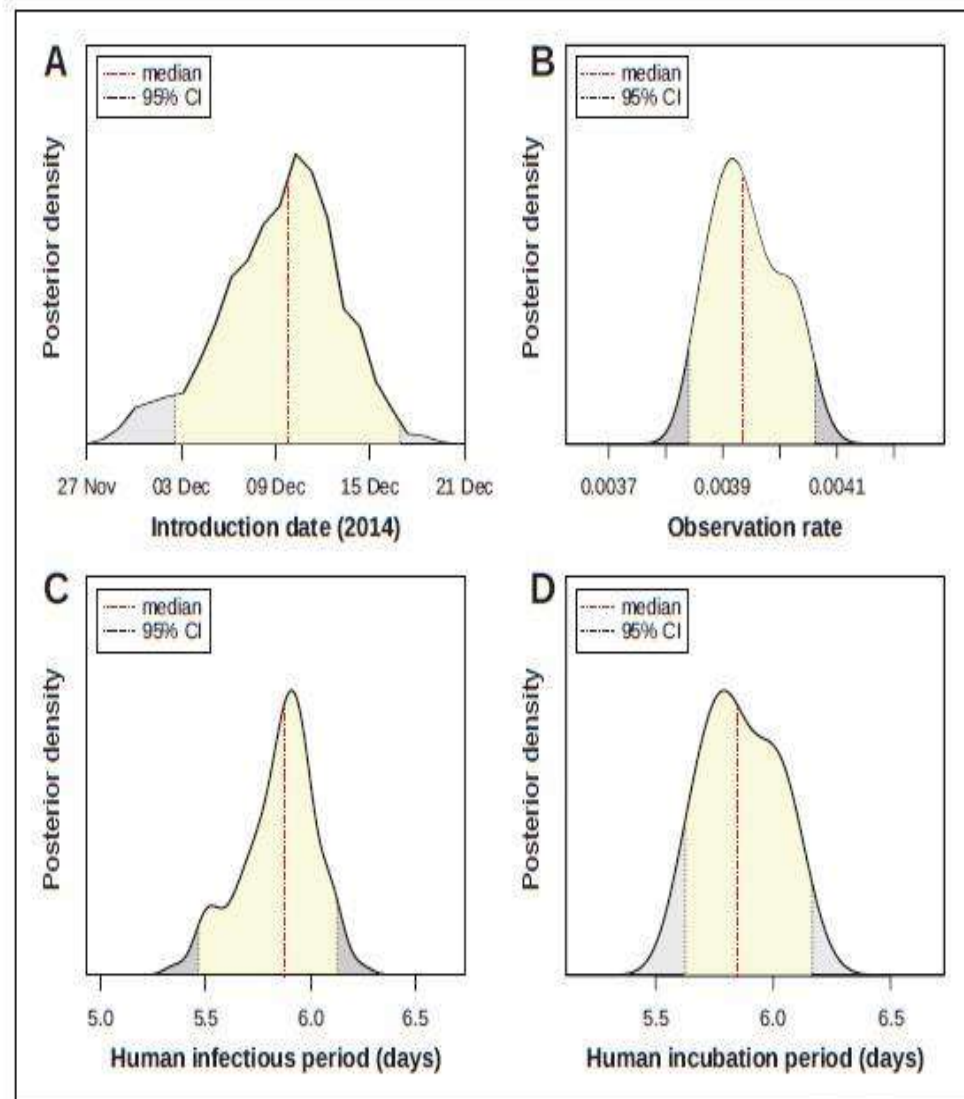


Figure 3. Estimated epidemiological and ecological parameters. MCMC posterior distributions, based on model fitting to notified case data between 2015–2017 and obtained from sampling 1 million MCMC steps after burn-in. (A) Posterior of the introduction date with median 10th December 2014 (95% CI [01–16 Dec]). (B) Posterior of the observation rate with median 0.0039 (95% CI [0.0038–0.0041]). (C) Posterior of the human infectious period with median 5.9 days (95% CI [5.47–6.14]). (D) Posterior of the human (intrinsic) incubation period with median 5.8 days (95% CI [5.6–6.15]). Representative samples of 500 MCMC chain states are available in *Supplementary files 1–6*. See *Figure 3—figure supplement 1* for sample chain behaviour.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29820.012>

The following figure supplements are available for figure 3:

Figure supplement 1. Sensitivity output for MCMC chains.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29820.013>

Figure supplement 2. Epi-epidemiological factors and model fit to notified cases when using 2 observation rates.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29820.014>

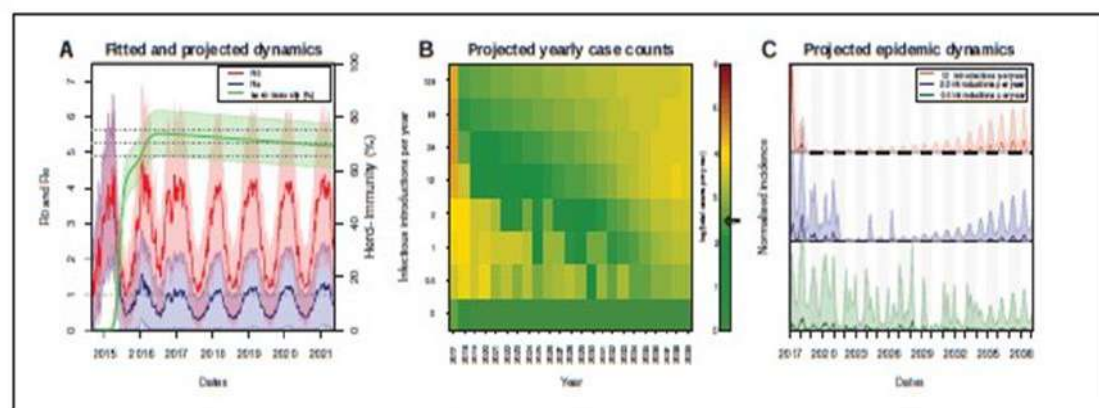


Figure 4. Projected Zika virus dynamics and transmission potential. (A) Fitted and projected epidemic attack rate (% population infected, or herd-immunity, green), basic reproduction number (R_0 , red) and effective reproduction number (R_e , blue). (B) Heatmap showing the projected total number of annual cases depending on rate of external introduction of infectious individuals. The black arrow in the color scale marks the total number of real cases necessary for 1 notified case to be reported in FSA. (C) Projected epidemic dynamics when considering less than 1 (green), 2 (blue) and 12 (red) external introductions per year. Grey and white shaded areas delineate different years. The Y-axes are normalised to 1 in each subplot for visualisation purposes. In (B, C) results are based on 1000 stochastic simulations with parameters sampled from the posterior distributions (Figure 3). Representative model solutions for incidence, R_0 and R_e for 500 MCMC chain samples are available in Supplementary files 1–6 (both deterministic and stochastic). DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29820.015>

immunity, whereas infrequent introductions are more likely to result in notable outbreaks. That is, semi-endemic behaviour was only observed in simulations with low introduction rates (Figure 4B–C), as these scenarios strike a fine balance between a low number of new cases affecting herd-immunity levels and population turnover. In contrast, high introduction rates quickly exhaust the remaining susceptible pool, resulting in very long periods without epidemic behaviours.

Sensitivity to reporting and microcephaly risk

In effect, our estimated observation rate entails the proportion of real infections that would have been notified if symptomatic and correctly diagnosed as Zika. Based on the previously reported Yap Island epidemic of 2007 (Duffy et al., 2009), the percentage of symptomatic infections can be assumed to be close to 18%. Unfortunately, measures of the proportion of individuals seeking medical attention and being correctly diagnosed do not exist for FSA, although it is well known that correct diagnosis for DENV is imperfect in Brazil (Silva et al., 2016). We therefore performed a sensitivity analysis by varying both the proportions of infected symptomatic individuals seeking medical attention and the proportion of those being correctly diagnosed for Zika. Figure 5A shows that if any of these proportions is less than 10%, or both between 15–20%, our observation rate of 3.9 per 1000 infections can easily be explained.

Finally we investigated the sensitivity of our results with regards to the expected number of newborns presenting microcephaly (MC). Following the observation that virtually all reported MC cases were issued before the summer of 2016 and with a lag of 5–6 months (Figure 1A), we assumed that the vast majority of Zika-associated MC cases would have been a consequence of the first epidemic wave in 2015. We used the estimated attack rate of approximately 65% from 2015 (Figure 4A) and varied the local birth rate and the theoretical risk of MC to obtain an expected number of cases. In agreement with other reports (de Araújo et al., 2016; Cauchemez et al., 2016; Jaenisch et al., 2016; Johansson et al., 2016), our model predicted a relatively low risk for MC given ZIKV infection during pregnancy (Figure 5B,C). In particular, using a conservative total of 21 confirmed MC cases in FSA, i.e. rejecting suspected or other complications, we estimate an average risk of approximately 0.35% of pregnancies experiencing ZIKV infection. Including the 3 foetal deaths where ZIKV infections were confirmed during pregnancy, i.e. using a total of 24 cases, only increased the risk to 0.39%. More generally, based on the results from our fitting approach and using the average birth

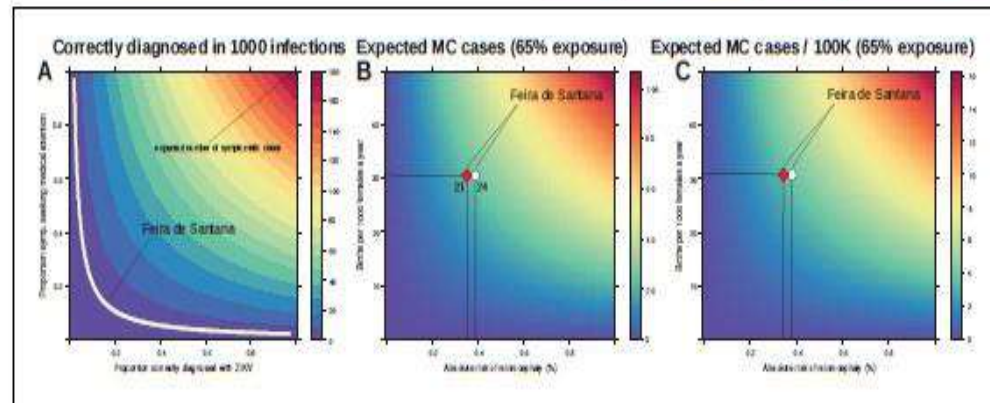


Figure 5. Sensitivity to reporting and microcephaly risk in Feira de Santana (FSA). (A) The observation rate (OR) can be expressed as the product of the proportion of cases that are symptomatic [0.18 (Duffy et al., 2009)], with the proportion of symptomatic that seek medical attention, and the proportion of symptomatic that upon medical attention get correctly diagnosed with Zika. In the white area the expected number of notified cases is the range obtained from fitting FSA case data (OR = 0.0039, 95% CI [0.0038–0.0041], Figure 3). (B) Expected number of cases of microcephaly (MC) for theoretical ranges of birth rate (per 1000 females) and risk of MC assuming 65% exposure of all pregnancies as estimated by our model for 2015 in FSA. (C) Expected number of MC per 100,000 individuals under the same conditions as in B. The symbols in B and C represent the total confirmed MC cases (21, red diamond), and the 21 MC plus 3 fetal deaths with confirmed Zika infection (24, white circle); the dashed horizontal line marks the number of births for FSA in 2015, and the vertical lines are the estimated risks per pregnancy.

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29820.016>

rates of FSA as guideline, we estimate that on average 3–4 MC cases are expected per 100 k individuals at 65% exposure to the virus.

Discussion

Using an ento-epidemiological transmission model, driven by temporal climate data and fitted to notified case data, we analysed the 2015–2017 Zika outbreak in the city of Feira de Santana (FSA), in the Bahia state of Brazil and determined the conditions that led to the rapid spread of the virus as well as its future endemic and epidemic potential in this region. Given FSA's high suitability for ZIKV mosquito-vectors and its particular geographical setting as a state commerce and transport hub, our results should have major implications for other urban centres in Brazil and elsewhere.

The pattern of reported ZIKV infections in FSA was characterized by a large epidemic in 2015, in clear contrast to total reports at the country-level, peaking during 2016. Most notably for FSA was the epidemic decay in 2016 and fadeout in 2017. In order to resolve whether this was due to a lower transmission potential of ZIKV in 2016/2017 in FSA, we calculated the daily reproductive number (R_0) between 2013 and 2017 but found no notable decrease in 2016. Interestingly, the maximum R_0 in that period was observed in the season 2015/2016, coinciding with El Niño (Golden Gate Weather Services, 2017) and thus in line with the hypothesis that this phenomenon may temporarily boost arboviral potential (Caminade et al., 2017; van Panhuis et al., 2015). By fitting our model to weekly case data we also estimated the observation rate, i.e. the fraction of cases that were notified as Zika out of the estimated total number of infections. It has previously been reported that the vast majority of Zika infections go unnoticed (Table 3), which is in agreement with our estimates of an observation rate below 1%. Based on this, around 65% of the local population were predicted to have been infected by ZIKV during the first wave in 2015, which is in the same range as the reported Zika outbreaks in French Polynesia (66%) (Cauchemez et al., 2016) and Yap Island (73%) (Duffy et al., 2009). The accumulation of herd-immunity caused a substantial drop in the virus's effective reproductive number (R_e) and hence a significantly lower number of cases during the second wave in 2016 and subsequent demise in 2017. In the context of FSA, it is possible that the high similarity of case definition to DENV, the concurrent CHIKV epidemic, and the low awareness of ZIKV at that time could have resulted in a significant number of ZIKV infections being classified as either dengue or

chikungunya. Furthermore, based on our analysis, we would argue that the percentage of correctly diagnosed ZIKV infections and infected individuals seeking medical attention must have been exceptionally low (both lower than 20%).

The age structure of notified cases showed a higher than expected incidence risk ratio (IRR) for individuals under the age of 4 years and a lower than expected risk for individuals aged + 50 years. This contrasts the observation during the Zika outbreak on Yap Island in 2007, where all age classes, except the elderly, presented similar attack rates (Duffy et al., 2009). We note here, however, that the Yap Island analysis was based on both a retrospective analysis of historical hospital records and prospective surveillance (serology, surveys). It is therefore possible that the signatures amongst the youngest and oldest individuals in FSA may reflect deficiencies and/or biases in local notified data. Such signatures could emerge by both a rush of parents seeking medical services driven by a hyped media coverage or prioritization of child-care due to the emergence of microcephaly during the Zika epidemic and a small proportion of the elderly seeking or having access to medical attention. In fact, the increased risk in young children in 2016 may have been a result of increased awareness as well as the interventions by the WHO in the second year. We also found a small increase in IRR in the 20–34 years age group, particularly during 2016, which could be indicative of the small contribution of sexual transmission (Moghadas et al., 2017; Maxian et al., 2017). Most of these observations are speculative, however, and more detailed data will be required to fully understand these age-related risk patterns. For instance, initiatives such as the ZIBRA Project (ZIBRA, 2016; Faria et al., 2016; Faria et al., 2017), which perform mobile and real-time sampling with portable genome sequencing, could prove to be essential for a retrospective and future analysis of the ZIKV epidemic in Brazil, especially in areas where high levels of herd-immunity will prevent large-scale circulation in the coming years (Ferguson et al., 2016).

The implicit consideration of climate variables as drivers of vector biology allowed us to ascertain the relative roles of temperature, humidity and rainfall for Zika's basic and effective reproductive potentials (R_0 and R_e , respectively). Similar to other studies in temperate and tropical settings, we found that temperature, with its direct influence on mosquito lifespan, aquatic development and extrinsic incubation period, was the key driver of seasonal oscillations in the transmission potential (Lourenço and Recker, 2014; Mordecai et al., 2016; Mourya et al., 2004; Feldstein et al., 2015). Rainfall, on the other hand, only seemed to play a marginal role and we argue that it may be a relevant player for arboviral transmission mainly in tropical regions subject to intense rain seasons, such as areas in South East Asia (Cuong et al., 2011; Hii et al., 2012; Xuan et al., 2014). We also noted that the correlations between climatic variables and case counts were inverted when addressed against the transmission potential. For instance, while temperature was positively correlated with R_0 it was negatively correlated with Zika cases. This implies that the transmission potential is readily responsive to climatic variation but that the Zika epidemics in FSA showed a slight but expected delay in relation to the peak in transmission potential, with case numbers generally increasing after a stable period of maximum R_0 , followed by epidemic peaks that tended to coincide with declining R_0 . An interesting observation is that the 2015 epidemic peaked approximately 3 months after the estimated peak in the virus's transmission potential, whereas there was much higher synchrony during the second wave in 2016. The same behaviour has been described for the CHIKV outbreak in FSA in 2014–2015 and which has been linked to highly discordant spatial distributions between the first two epidemics (Faria et al., 2016b). It is likely that similar spatial effects (Kraemer et al., 2017) were present in FSA's ZIKV outbreaks. Unfortunately we did not have access to sufficiently detailed spatial data to explore this hypothesis further.

A phylogenetic analysis has proposed that the introduction of ZIKV into Bahia took place between March and September 2014, although without direct evidence for its circulation in FSA at that time (Naccache et al., 2016). Our estimated date of introduction showed support for a date in early-mid December 2014, a few months after the proposed introduction into Bahia and just over 7 weeks before the first case of Zika was notified in FSA. Similar periods between the first notification and estimated introduction often represent the time taken to complete one or more full transmission cycles (human-mosquito-human) before a cluster of cases is generated of sufficient size for detection by passive surveillance systems (Lourenço and Recker, 2014). The case data also shows a 2 months period after the first notification during which weekly case numbers remained extremely low. This long period was unexpected as persistent circulation of ZIKV could hardly be justified by the observed total of only 10 cases. Given our estimated observation rate, however, the number of ZIKV

infections during this time could have amounted to over 2700 actual cases. In April, the number of cases increased rapidly, coinciding with the Micareta festival, which we argue may have played a role in igniting the exponential phase of the epidemic by facilitating human-vector mixing as well as a more rapid geographical expansion.

After calibrating our model to the 2015–2017 epidemic, we projected the transmission of ZIKV beyond 2017 using stochastic simulations and average climatic variables for this region. Without the possibility of externally acquired infections, local extinction was very likely by 2017 due to the high levels of herd-immunity. According to our study, Zika's reproductive potential (R_t) reached its lowest point in 2017, and it is expected to remain low for the next couple of years, given the slow replenishment of susceptibles in the population through births. When explicitly modelling the importation of infectious cases our projections for the next two decades corroborated the conclusions of previous modelling studies that suggest a weak endemic potential for ZIKV after the initial exhaustion of the susceptible pool (Ferguson et al., 2016; Kucharski et al., 2016). However, our simulations also showed that the future epidemic behaviour is strongly dependent on the frequency of re-introductions, where sporadic and unpredictable epidemics could still be in the order of hundreds of cases. Furthermore, given our estimated observation rate for the 2015–2017 epidemic, passive surveillance systems are unlikely to fully detect the scale and occurrence of such small epidemics, missing their actual public health impact, and as such efforts should thus be placed to improve ZIKV detection and diagnosis in order to optimize the local reporting rates and potential for control.

Human sexual and vertical transmission of ZIKV is an important public health concern, especially within the context of potential Zika-associated microcephaly (MC) and other neurological complications in pre- and neonatals. With a total of over 10,000 live births in 2015 in FSA, our crude estimate for the risk of Zika-associated MC per pregnancy was below 4 cases per 100,000 individuals in a generalized population under an attack rate of 65%. As discussed elsewhere (Cauchemez et al., 2016), this risk is extremely low when compared to other known viral-associated complications, such as those caused by infections by cytomegalovirus (CMV) and the rubella virus (RV) (De Santis et al., 2006; Naing et al., 2016). It is therefore crucial to reiterate that what makes the ZIKV a public health concern is not necessarily the per pregnancy risk of neurological complications, but rather the combination of low risk with very high attack rates. Other studies have reported that the risk for complications during the 1st trimester of gestation is higher than the one estimated here. For example, in the French Polynesia (FP) outbreak (Cauchemez et al., 2016), the risk associated with ZIKV infection during the 1st trimester was 1%, while the overall, full pregnancy risk was 0.42%, similar to our FSA estimates. For the Yap Island epidemic, no microcephaly cases have been reported. With an estimated 24 births per 1000 females (census 2000 as in (Duffy et al., 2009)) and using an overall risk of approximately 0.4% per pregnancy, only 0–3 cases per 100,000 individuals would have been expected. However, the island's small population size (7391 individuals (Duffy et al., 2009)) together with a general baseline of 0–2 microcephaly cases per 100,000 in many areas of the world (Johansson et al., 2016; Butler, 2016; EUROCAT, 2003) would explain the absence of reported cases. It is also important to consider that a variety of birth defects have been found to be statistically associated with Zika virus infection during pregnancy, of which MC is one possible outcome. While the risk for birth defects per pregnancy is consistently reported to be high, estimations for the risk of MC vary considerably. For example, recent clinical trials (Honein et al., 2017; Brasil et al., 2016) suggested that the risk of Zika-associated MC could be an order of magnitude higher than the estimate reported in this or other previous studies (Cauchemez et al., 2016; Duffy et al., 2009). At this stage it is not possible to explain these differences, but it is tempting to speculate that other factors must influence either the actual or estimated risk. For example, there could be diagnostic biases or differences between epidemiological and clinical studies. Alternatively, viral or host genetic background, as well as the pre-exposition to other arboviruses may influence the absolute risk experienced by local populations or cohorts.

Official notification of Zika infections in Brazil started on the 1st of January 2016, although cases were reported in many other regions in Brazil during 2015. It is therefore plausible that the observation rate changed upon official guidelines and that the capacity to accurately diagnose and report Zika infections could have been lower in 2015 compared subsequent years. To explore this, we reran our fitting approach allowing for a possible change in the observation rate for 2016 and onwards (Figure 3—figure supplement 2) and found a similar observation rate for 2015 (0.0039 versus 0.0034) as well as a similar attack rate between the two model variants. However, the estimated

observation rate for 2016 and beyond was ~ 4 times larger than for 2015, implying a positive change due to changes in the surveillance system. Nevertheless, only about 13–14 out of 1000 Zika cases were reported after the 1st of January 2016. It is hard to discern where the positive changes took place, but we suggest the revised diagnosis guidelines may have increased the proportion correctly diagnosed while the proportion of symptomatic individuals visiting medical facilities did not change. It is also tempting to speculate that the 2015/2016 imbalance in reporting may have been a general phenomenon across Brazil. As described elsewhere, it is thus possible that FSA is a good example of states and urban centres that may have witnessed larger epidemics than reported in 2015 (de Oliveira et al., 2017). This, together with our conclusion that low MC risk with very high attack rates makes ZIKV a public health concern, could explain why most MC reports at the level of the country were in 2015 (de Oliveira et al., 2017), although for many regions the total reported number of ZIKV cases may have been surprisingly small that year.

There are certain limitations to our approach, many of which could be revisited when more detailed data becomes available. For example, we assumed homogeneous mixing between human and mosquito hosts but it is possible that spatio-temporal heterogeneities may have played a role in FSA. Furthermore, we have curated and integrated functional responses of key entomological parameters to temperature, rainfall and humidity variation, which were originally reported for dengue viruses. Our fitting approach is also dependent on notified case data and it is possible that the reported cases are not representative of the initial expansion of the virus, which may have thwarted the obtained posterior of the introduction date. Finally, our future projections for the endemic and epidemic potential of ZIKV are based on average climatic trends of past years and do not capture the occurrence of natural variation between years, in particular for years affected by major Southern American climate events, such as the El Niño (Caminade et al., 2017).

In this study we have addressed the local determinants of ZIKV epidemiology in the context of a major urban centre of Brazil. Our results imply that control and surveillance of ZIKV should be boosted and focused in periods of high temperature and during major social events. These factors could identify windows of opportunity for local interventions to mitigate ZIKV introduction and transmission and should be transferable to other areas for which both temperature data and community event schedules are available. We further confirm that the high transmission potential of ZIKV in urban centres can lead to the exhaustion of the local susceptible pool, which will in turn dictate the long-term epidemic and endemic behaviour of the virus. Depending on the rate of re-introduction, sporadic outbreaks are to be expected, although these will be unlikely to result in a notable increase in the number of microcephaly cases due to their limited sizes and low risk per pregnancy. Nonetheless, these local sporadic occurrences could still have important public health consequences, and we argue that much better diagnostics and reporting rates are required for local authorities to detect and respond to such events in the near future. Our integrated mathematical framework is capable of deriving key insights into the past and future determinants of ZIKV epidemiology and its findings should be applicable to other major urban centres of Brazil and elsewhere.

Materials and methods

Demographic and socio-economic setting

Feira de Santana (FSA) is a major urban centre of Bahia, located within the state's largest traffic junction, serving as way points to the South, the Southeast and central regions of the country. The city has a population of approximately 620,000 individuals (2015) and serves a greater geographical setting composed of 80 municipalities (municípios) summing up to a population of 2.5 million. Although major improvements in water supply have been accomplished in recent decades, with about 90% of the population having direct access to piped water, supply is unstable and is common practice to resort to household storage. Together with an ideal (tropical) local climate, these are favourable breeding conditions for species of the *Aedes* genus of mosquitoes, which are the main transmission vectors of ZIKV, CHIKV and the dengue virus (DENV) that are all co-circulating in the region (Kraemer et al., 2015; Carlson et al., 2016). FSA's population is generally young, with approximately 30% of individuals under the age of 20 and 60% under the age of 34. In the year of 2015, the female:male sex ratio in FSA was 0.53 and the number of registered births was 10,352, leading to a birth rate standard measure of 31 new-borns per 1000 females in the population.

Climate data

Local climatic data (rainfall, humidity, temperature) for the period between January 2013 and May 2017 was collected from the Brazilian open repository for education and research (BDMEP, Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa) (Brazil BDMEP, 1961). The climate in FSA is defined as semi-arid (warm but dry), with sporadic periods of rain concentrated within the months of April and July. Between 2013 and 2015, mean yearly temperature was 24.6 celsius (range 22.5–26.6), total precipitation was 856 mm (range 571–1141), and mean humidity levels 79.5% (range 70.1–88.9%). Temperature, humidity and precipitation per day is available as Dataset 1.

Zika virus notified case data

ZIKV surveillance in Brazil is conducted through the national notifiable diseases information system (Sistema de Informação de Agravos de Notificação, SINAN), which relies on passive case detection. Suspected cases are notified given the presence of pruritic maculopapular rash (flat, red area on the skin that is covered with small bumps) together with two or more symptoms among: low fever, or polyarthralgia (joint pain), or periarticular edema (joint swelling), or conjunctival hyperemia (eye blood vessel dilation) without secretion and pruritus (itching) (Brazil SINAN, 2016; Brazil, 2016). The main differences to case definition of DENV and CHIKV are the particular type of pruritic maculopapular rash and low fever (as applied during the Yap Island ZIKV epidemic (Duffy et al., 2009)). The data presented in Figure 1 for both Brazil and FSA represents notified suspected cases and is available as Dataset 3 (please refer to the Acknowledgement section for sources). Here, we use the terms epidemic wave and outbreak interchangeably (but see (Perkins et al., 2016)).

Microcephaly and severe neurological complications case data

A total of 53 suspected cases with microcephaly (MC) or other neurological complications were reported in FSA between January 2015 and February 2017. Using guidelines for microcephaly diagnosis provided in March 2016 by the WHO (as in (Faría et al., 2016d)), a total of 21 cases were confirmed after birth and follow-up. A total of 3 fetal deaths were reported for mothers with confirmed ZIKV infection during gestation but for which no microcephaly assessment was available. The first confirmed microcephaly case was reported on the 24th of November 2015 and virtually all subsequent cases were notified before August 2016 (with the exception of 2). The microcephaly case series can be found in Dataset 4.

Ento-epidemiological dynamic model

The ordinary differential equations (ODE) model and the Markov-chain Monte Carlo (MCMC) fitting approach herein used are based on the framework previously proposed to study the introduction of dengue into the Island of Madeira in 2012 (Loureño and Redeker, 2014). We have changed this framework to relax major modelling assumptions on the mosquito sex ratio and success of egg hatching, have included humidity and rainfall as critical climate variables, and have also transformed the original least squares based MCMC into a Bayesian MCMC. The resulting framework is described in the following sections, in which extra figures are added for completeness.

The dynamics of infection within the human population are defined in Equations 1–5. In summary, the human population is assumed to have constant size (N) with mean life-expectancy of μ^h years, and to be fully susceptible before introduction of the virus. Upon challenge with infectious mosquito bites (λ^{v-h}), individuals enter the incubation phase (E^h) with mean duration of $1/\gamma^h$ days, later becoming infectious (I^h) for $1/\sigma^h$ days and finally recovering (R^h) with life-long immunity.

$$\frac{dS^h}{dt} = \mu^h N - \lambda^{v-h} - \mu^h S^h \quad (1)$$

$$\frac{dE^h}{dt} = \lambda^{v-h} - \gamma^h E^h - \mu^h E^h \quad (2)$$

$$\frac{dI^h}{dt} = \gamma^h E^h - \sigma^h I^h - \mu^h I^h \quad (3)$$

$$\frac{dR^h}{dt} = \sigma^h I^h - \mu^h R^h \quad (4)$$

$$N = S^h + E^h + I^h + R^h \quad (5)$$

For the dynamics of the mosquito population (Equations 6-10), individuals are divided into two pertinent life-stages: aquatic (eggs, larvae and pupae, A) and adult females (V) as in (Yang et al., 2009). The adults are further divided into the epidemiologically relevant stages for arboviral transmission: susceptible (S^v), incubating (E^v) for $1/\gamma^v$ days and infectious (I^v) for life. The '(dot)' notation is here adopted to distinguish climate-dependent entomological factors (further details in the following sections).

$$\frac{dA}{dt} = \dot{c}^v f \dot{\theta}^v \left(1 - \frac{A}{K(R+1)}\right) V - (\dot{c}_A^v + \dot{\mu}_A^v) A \quad (6)$$

$$\frac{dS^v}{dt} = \dot{c}_A^v A - \lambda^{h \rightarrow v} - \dot{\mu}_V^v S^v \quad (7)$$

$$\frac{dE^v}{dt} = \lambda^{h \rightarrow v} - \dot{\gamma}^v E^v - \dot{\mu}_V^v E^v \quad (8)$$

$$\frac{dI^v}{dt} = \dot{\gamma}^v E^v - \dot{\mu}_V^v I^v \quad (9)$$

$$V = S^v + E^v + I^v \quad (10)$$

Here, the coefficient $\dot{c}^v$ is the fraction of eggs hatching to larvae and f the resulting female proportion. For simplicity and lack of quantifications for local mosquito populations, it is assumed that the sex ratio remains at 1:1 (i.e. $f = 0.5$). Moreover, $\dot{c}_A^v$ denotes the rate of transition from aquatic to adult stages, $\dot{\mu}_A^v$ the aquatic mortality, $\dot{\mu}_V^v$ the adult mortality, and $\dot{\theta}^v$ is the success rate of oviposition. The logistic term $(1 - \frac{A}{K(R+1)})$ can be understood as the ecological capacity to receive aquatic individuals (Tran et al., 2013), scaled by a carrying capacity term $K(R+1)$ in which K determines the maximum capacity and R is the local rainfall contribution (further details on following sections).

From Equations 6-10, the mean number of viable female offspring produced by one female adult during its life-time, i.e. the basic offspring number Q , was derived (Equation 11). Most parameters defining Q are climate-dependent, and for fixed mean values of the climate variables (ex. mean rainfall $\bar{R}$), expressions were derived for the expected population sizes of each mosquito life-stage modelled (A_0, V_0) which are used to initialize the vector population (Equations 12-13).

$$Q = \frac{\dot{c}_A^v \dot{\gamma}^v \dot{\theta}^v}{\dot{c}_A^v + \dot{\mu}_A^v \dot{\mu}_V^v} \quad (11)$$

$$A_0 = K(\bar{R} + 1) \left(1 - \frac{1}{Q}\right) \quad (12)$$

$$V_0 = K(\bar{R} + 1) \left(1 - \frac{1}{Q}\right) \frac{\dot{c}_A^v}{\dot{\mu}_V^v} \quad (13)$$

Viral transmission

In respect to the infected host-type being considered, the vector-to-human ($\lambda^{v \rightarrow h}$) and human-to-vector ($\lambda^{h \rightarrow v}$) incidence rates are assumed to be, respectively, density-dependent and frequency-dependent (Equations 14-15). Here, a^v is the biting rate and $\phi^{v \rightarrow h}$ and $\phi^{h \rightarrow v}$ are the vector-to-human and human-to-vector transmission probabilities per bite. Conceptually, this implies that (i) an increase in the density of infectious vectors should directly raise the risk of infection to a single human, while (ii) an increase in the frequency of infected humans raises the risk of infection to a mosquito biting at a fixed rate. The basic reproductive number (R_0) is defined similarly to previous modelling approaches (Equation 16) (Wearing and Rohani, 2006; Lourenço and Recker, 2013). We further derived an expression for the effective reproductive ratio (R_e , Equation 17), taking into account the susceptible proportion of the population in real-time.

$$\lambda^{v \rightarrow h} = (a^v \phi^{v \rightarrow h} I^v S^h / N) \propto I^v \quad (14)$$

$$\lambda^{h \rightarrow v} = (a^h \phi^{h \rightarrow v} I^h S^v / N) \propto I^h / N \quad (15)$$

$$R_0 = \frac{(V/N) - \dot{a}^v - \dot{a}^h - \dot{\phi}^{v \rightarrow h} - \dot{\phi}^{h \rightarrow v} - \dot{\gamma}^v - \dot{\gamma}^h}{\dot{\mu}_V^v (\sigma^h + \mu^h) (\dot{\gamma}^h + \dot{\mu}^h) (\dot{\gamma}^v + \dot{\mu}_V^v)} \quad (16)$$

$$R_e = (S^h / N) \times (S^v / N) \times R_0 / (V / N) \quad (17)$$

Markov chain monte carlo fitting approach

For the fitting process, the MCMC algorithm by Lourenco et al. is here altered to a Bayesian approach by formalising a likelihood and parameter priors (Lourenco and Redker, 2014). For this, the proposal distributions (q) of each parameter were kept as Gaussian (symmetric), effectively retaining a random walk Metropolis kernel. We define our acceptance probability α of a parameter set Θ , given model ODE output y as:

$$\alpha = \min\left\{1, \frac{\pi(y|\Theta^*)p(\Theta^*)q(\Theta^*|\Theta^*)}{\pi(y|\Theta^*)p(\Theta^*)q(\Theta^*|\Theta^*)}\right\} \quad (18)$$

where Θ^* and Θ^o are the proposed and current (accepted) parameter sets (respectively); $\pi(y|\Theta^*)$ and $\pi(y|\Theta^o)$ are the likelihoods of the ODE output representing the epidemic data given each parameter set; $p(\Theta^o)$ and $p(\Theta^*)$ are the prior-related probabilities given each parameter set. We fit the Zika virus cumulative case counts per week, for which no age-related or geographical data is taken into consideration.

For computational reasons and based on a previous approach (Dorigatti et al., 2013), the likelihoods π were calculated as the product of the conditional Poisson probabilities of each epidemic data (d_i) and ODE (y_i) data point:

$$\pi(y|\Theta) = \prod_{i=1}^N \Pr\{y_i = d_i\} \quad (19)$$

Note, in this case where we have low cases numbers in a large population, the Poisson likelihood represents a reasonable approximation to the Binomial process, which is expected to underlie the observed data.

Fitted parameters

With the MCMC approach described above, all combinations of the open parameters in the ODE system that most likely represent the outbreak are explored (Table 4). In summary, the MCMC estimates the distributions for: (1) the carrying capacity K , an indirect estimate of the number of adult mosquitoes per human; (2) time point of the first case t_0 , assumed to be in a human; (3) a linear coefficient η that scales the effect of temperature on aquatic and adult mortality rates; (4) a linear coefficient α that scales the effect of temperature on the extrinsic incubation period; (5) a non-linear coefficient ρ that scales the effects of humidity and rainfall on entomological parameters; (6) the human infectious period $1/\sigma^h$; and (7) the human incubation period $1/\gamma^h$.

By introducing the linear coefficients η and α , the relative effect of temperature variation on mortality and incubation is not changed per se, but instead the baselines are allowed to be different from the laboratory conditions used by Yang et al. (Yang et al., 2009). For solutions in which $\eta, \alpha \rightarrow 1$, the laboratory-based relationships are kept. For a discussion on possible biological factors that may justify η and α please refer to the original description of the method in (Lourenco and Redker, 2014) and (Brady et al., 2013). Finally, the introduction of ρ allows the MCMC to vary the strength by which entomological parameters react to deviations from local humidity and rainfall means. In practice, the effect of rainfall and humidity can be switched off when $\rho \rightarrow 0$ and made stronger when $\rho \rightarrow +\infty$ (details below).

Initial analysis of the MCMC output raised an identifiability issue between the human infectious period ($1/\sigma^h$) and the linear coefficient (η) that scales the effect of temperature on vector mortality (η scales the baseline mortality without changes to the response of mortality to temperature). Hence, changes in both η and $1/\sigma^h$ result in similar scaling effects on the transmission potential R_0 (Equation 16) and thus unstable MCMC chains for η and $1/\sigma^h$, with the resulting posteriors appearing to be bimodal (for which there was no biological support). We addressed this issue by using informative priors for four parameters for which biological support exists in the literature: η , $1/\sigma^h$, $1/\gamma^h$, and α . Gaussian priors were used with means and standard deviations taken from the literature (see Figure 2—figure supplement 2).

Constant parameters

The framework described above has only 4 fixed parameters that are neither climate-dependent nor estimated in the MCMC approach (Table 2). Amongst these, $\phi^{h \rightarrow v}$ is the per bite probability of transmission from human-to-mosquito, which we assume to be 0.5 (Lounibos and Escher, 2008; Mohammed and Chadee, 2011); the sex ratio of the adult mosquito population f is assumed to be 1:1 (Lounibos and Escher, 2008; Mohammed and Chadee, 2011); the life-expectancy of the human population is assumed to be an average of 75 years (WHO, 2016c); and the biting rate is taken to be on average 0.25 although with the potential to vary dependent on humidity levels (details below) (Trpis and Hausmann, 1986; Yasuno and Tonn, 1970).

Climate-Dependent parameters

For each of the temperature-dependent entomological parameters, polynomial expressions are found de novo or taken from previous studies fitting laboratory entomological data with temperature (T) values used in Celsius. For rainfall (R) and humidity (U), positive or negative relationships to entomological parameters are introduced using simple expressions, with values used after normalization to $[0, 1]$. We assume that some parameters are affected by a combination of temperature with either rainfall or humidity, but take their effects to be independent. A list of climate-dependent parameters and references is found in Table 1.

Polynomials of 4th degree for the mortality (μ_A^v, μ_V^v) and success oviposition (θ^v) rates are taken from the study by Yang and colleagues under temperature-controlled experiments on populations of *Aedes aegypti* (Equations 19–21) (Yang et al., 2009). For aquatic to adult (ϵ_A^v) rate we use the 7th degree polynomial of the same study (Equation 20). For the relationship between the extrinsic incubation period ($1/\gamma^v$) and temperature we apply the formulation by Focks et al. which assumes that replication is determined by a single rate-controlling enzyme (Focks et al., 1995; Schofield et al., 1981; Otero et al., 2006) (Equation 24). The probability of transmission per mosquito bite ($\phi^{v \rightarrow h}$) is here modelled (Equation 25) as estimated by Lambrechts and colleagues (Lambrechts et al., 2011). Finally, the relationship between temperature and the fraction of eggs that successfully hatch (c^v) is estimated de novo (Equation 26) by fitting a 3rd degree polynomial to *Aedes aegypti* and *albopictus* empirical data described by Dickerson et al. (see Figure 2—figure supplement 1) (Dickerson, 2007; Mohammed and Chadee, 2011).

$$\epsilon_A^v(T) = 0.131 - 0.05723T + 0.01164T^2 - 0.001341T^3 + 0.00008723T^4 - 0.00003017T^5 + 5.153 \times 10^{-8}T^6 - 3.42 \times 10^{-10}T^7 \quad (20)$$

$$\mu_A^v(T) = 2.13 - 0.3797T + 0.02457T^2 - 0.0006778T^3 + 0.00006794T^4 \quad (21)$$

$$\mu_V^v(T) = 0.8692 - 0.1599T + 0.01116T^2 - 0.0003408T^3 + 0.000003809T^4 \quad (22)$$

$$\theta^v(T) = -5.4 + 1.8T - 0.2124T^2 + 0.01015T^3 - 0.0001515T^4 \quad (23)$$

$$\gamma^v(T) = \frac{0.003359 \frac{1}{28} \times \exp\left(\frac{1.900}{R} \left(\frac{1}{28} - \frac{1}{T}\right)\right)}{1 + \exp\left(\frac{6.303 \times 10^{25}}{R} \left(\frac{1}{-2.176 \times 10^8} - \frac{1}{T}\right)\right)} \quad (24)$$

$$\phi^{v \rightarrow h}(T) = 0.001044T \times (T - 12.286) \times (32.461 - T)^{1/2} \quad (25)$$

$$c^v(T) = (-184.8 + 27.94T - 0.9254T^2 + 0.009226T^3) / 100.0 \quad (26)$$

We normalise the time series of rainfall (R) and humidity (U), further using the mean normalised values ($\bar{R}, \bar{U}$) as reference for extreme deviations from the expected local tendencies (Bicout and Sabatier, 2004; Tran et al., 2013). Rainfall is assumed to affect positively the fraction of eggs that successfully hatch (c^v) (Alto and Juliano, 2001; Rossi et al., 2015; Tran et al., 2013; Madeira et al., 2002). A similar positive relationship is taken for the vector biting rate (a^v) and humidity levels (Yasuno and Tonn, 1970), in contrast to a negative effect on the adult mosquito mortality rate (μ_A^v) (Alto and Juliano, 2001).

$$c^v(R) = (R - \bar{R}) / \sqrt{1 + (R - \bar{R})^2} \quad (27)$$

$$a^v(U) = (U - \bar{U}) / \sqrt{1 + (U - \bar{U})^2} \quad (28)$$

$$\mu_A^v(U) = \bar{U} - (U - \bar{U}) / \sqrt{1 + (U - \bar{U})^2} \quad (29)$$

Below is the complete formulation for each entomological parameter in time (t), depending on the climatic variables for which relationships are assumed to exist, including the MCMC fitted linear (α , η) and non-linear (ρ) factors described above.

$$\epsilon_A^v(t) = \epsilon_A^v(T) \quad (30)$$

$$\mu_A^v(t) = \eta \mu_A^v(T) \quad (31)$$

$$\mu_V^v(t) = \eta \mu_V^v(T) [1 + \mu_V^v(U)]^\rho \quad (32)$$

$$\theta^v(t) = \theta^v(T) \quad (33)$$

$$\gamma^v(t) = \alpha \gamma^v(T) \quad (34)$$

$$\phi^{v \rightarrow h}(t) = \phi^{v \rightarrow h}(T) \quad (35)$$

$$c^v(t) = c^v(T) [1 + c^v(R)]^\rho \quad (36)$$

$$a^v(t) = a^v [1 + a^v(U)]^\rho \quad (37)$$

Stochastic formulation of the ento-epidemiological model

A stochastic version of the ento-epidemiological framework was developed by introducing demographic stochasticity in the transitions of the dynamic system. This followed the original strategy described in (Lourengo and Redker, 2014), in which multinomial distributions are used to sample the effective number of individuals transitioning between classes per time step. Multinomial distributions are generalized binomials - *Binomial*(n, p) - where n equals the number of individuals in each class and p the probability of the transition event (equal to the deterministic transition rate). This approach has also been demonstrated elsewhere (Lampoudi et al., 2009).

Source code

The approach used in this study uses code in C/C++, bash and R scripts and is available at https://github.com/lourengo/ArboWeD2/tree/ArboWeD2_V1. A copy is archived at <https://github.com/elifesciences-publications/ArboWeD2>.

Acknowledgements

We are most grateful to Wanderson Klebeler de Oliveira, Livia Carla Vinhal, Mariana Pastorello Verotti, Giovanini Evelim Coelho and Claudio Maierovitch Pessanha Henrique from the Brazilian Ministry of Health for providing epidemiological data regarding Zika virus notified cases in Brazil. MML and EMC curated the Zika virus notified cases in Feira de Santana. JL and ASW received funding from the European Research Council under the European Union's Seventh Framework Programme (FP7/2007-2013)/ERC grant agreement no. 268904 – DIVERSITY. MR was supported by a Royal Society University Research Fellowship. The European Research Council under the European Union's Seventh Framework Program (FP7/2007-2013)/ERC grant agreement no. 614725-PATHPHYLODYN funded OP. MUGK's contribution was made possible by the generous support of the American people through the United States Agency for International Development Emerging Pandemic Threats Program-2 PREDICT-2 (Cooperative Agreement No. AID-OAA-A-14-00102). CJVA was supported by a fellowship from the Labex EpiGenMed, via the National Research Agency, Program for Future Investment and University of Montpellier [ANR-10-LA-12-01]. BL received funding from the Engineering and Physical Sciences Research Council (EPSRC) in the UK. NRF was supported by a Sir Henry Dale Fellowship jointly funded by the Wellcome Trust and the Royal Society (grant number 204311/Z/16/Z). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Additional information

Funding

Funder	Grant reference number	Author
European Research Council	268904 - DIVERSITY	José Lourengo Andrew Walker

Wellcome Trust and Royal Society	204311/Z/16/Z	Nuno Rodrigues Faria
International Development Emerging Pandemic Threats Program 2	AID-OAA-A-14-00102	Moritz UG Kraemer
Labex EpiGenMed	ANR-10-LABX-12-01	Christian Julian Villabona-Arenas
Engineering and Physical Sciences Research Council		Ben Lambert
European Research Council	614725-PATHPHYLODYN	Oliver G Pybus
Royal Society		Mario Recker

The funders had no role in study design, data collection and interpretation, or the decision to submit the work for publication.

Author contributions

José Lourenço, Conceptualization, Data curation, Formal analysis, Methodology; Maricelia Maia de Lima, Mario Recker, Conceptualization, Data curation, Investigation, Writing—original draft, Writing—review and editing; Nuno Rodrigues Faria, Conceptualization, Resources, Supervision, Investigation, Writing—original draft, Writing—review and editing; Andrew Walker, Data curation, Funding acquisition, Project administration; Moritz UG Kraemer, Erenilde Marques de Cerqueira, Conceptualization, Data curation; Christian Julian Villabona-Arenas, Ben Lambert, Conceptualization, Investigation, Methodology; Oliver G Pybus, Resources, Data curation, Supervision; Luiz CJ Alcantara, Conceptualization, Data curation, Funding acquisition, Investigation, Writing—original draft, Project administration, Writing—review and editing

Author ORCIDs

José Lourenço, <http://orcid.org/0000-0002-9318-2581>

Nuno Rodrigues Faria, <http://orcid.org/0000-0001-8839-2798>

Moritz UG Kraemer, <http://orcid.org/0000-0001-8838-7147>

Christian Julian Villabona-Arenas, <http://orcid.org/0000-0001-9928-3968>

Mario Recker, <http://orcid.org/0000-0001-9489-1315>

Decision letter and Author response

Decision letter <https://doi.org/10.7554/eLife.29820.028>

Author response <https://doi.org/10.7554/eLife.29820.029>

Additional files

Supplementary files

• Source data 1. Dataset 1. Climate time series for Feira de Santana (2013–2017), including daily temperature, humidity and rainfall (FSA_climate_series.xls).

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29820.017>

• Source data 2. Dataset 2. Age-related data for Feira de Santana (2015), including case counts per age, total population numbers and gender ratios (FSA_age_data.xls).

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29820.018>

• Source data 3. Dataset 3. Total weekly notified cases in Feira de Santana (2015–2017) (FSA_incidence_series.xls).

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29820.019>

• Source data 4. Dataset 4. Total notified cases of Microcephaly in Feira de Santana (2015–2017), including confirmed and suspected/not confirmed (FSA_Microcephaly_series.xls).

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29820.020>

• Supplementary file 1. Sample model deterministic solutions for incidence (Incidence_detsolution.csv).

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29820.021>

• Supplementary file 2. Sample model deterministic solutions for R0 (R0_detsolution.csv).

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29820.022>

• Supplementary file 3. Sample model deterministic solutions for Re (Re_detosolution.csv).

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29820.023>

• Supplementary file 4. Sample model stochastic solutions for incidence (Incidence_stosolution.csv).

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29820.024>

• Supplementary file 5. Sample model stochastic solutions for R0 (R0_stosolution.csv).

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29820.025>

• Supplementary file 6. Sample model stochastic solutions for Re (Re_stosolution.csv).

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29820.026>

• Transparent reporting form

DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.29820.027>

References

- Alto BW, Juliano SA. 2001. Precipitation and temperature effects on populations of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae): implications for range expansion. *Journal of Medical Entomology* **38**:646–656. DOI: <https://doi.org/10.1603/0022-2585-38.5.646>, PMID: 11580037
- Aman MJ, Kashanchi F. 2016. Zika Virus: A New Animal Model for an Arbovirus. *PLOS Neglected Tropical Diseases* **10**:e0004702–e0004703. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004702>, PMID: 27149628
- Andraud M, Hens N, Marais C, Beutels P. 2012. Dynamic epidemiological models for dengue transmission: a systematic review of structural approaches. *PLoS One* **7**:e49085. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0049085>, PMID: 23139836
- Bewick S, Fagan WF, Calabrese JM, Agosto F. 2016. Zika Virus: Endemic Versus Epidemic Dynamics and Implications for Disease Spread in the Americas. *bioRxiv* 041897.
- Bicout DJ, Sabatier P. 2004. Mapping Rift Valley Fever vectors and prevalence using rainfall variations. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* **4**:33–42. DOI: <https://doi.org/10.1089/153036604773082979>, PMID: 15018771
- Bogoch II, Brady OJ, Kraemer MUG, German M, Creatore MJ, Brent S, Watts AG, Hay SI, Kulkarni MA, Brownstein JS, Khan K. 2016. Potential for Zika virus introduction and transmission in resource-limited countries in Africa and the Asia-Pacific region: a modelling study. *The Lancet Infectious Diseases* **16**:1237–1245. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30270-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30270-5), PMID: 27593384
- Brady OJ, Johansson MA, Guerra CA, Bhatt S, Golding N, Pigott DM, Delatte H, Grech MG, Leishman PT, Maciel-de-Freitas R, Styer LM, Smith DL, Scott TW, Gething PW, Hay SI. 2013. Modelling adult *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* survival at different temperatures in laboratory and field settings. *Parasites & Vectors* **6**:351. DOI: <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-351>, PMID: 24330720
- Brazil P, Pereira JP, Moreira ME, Ribeiro Nogueira RM, Damasceno L, Wakimoto M, Rabello RS, Valderramos SG, Halai U-A, Salles TS, Zin AA, Horowitz D, Daltro P, Boechat M, Raja Gabaglia C, Carvalho de Sequeira P, Pilotto JH, Medialdea-Carrera R, Cotrim da Cunha D, Abreu de Carvalho LM, et al. 2016. Zika Virus Infection in Pregnant Women in Rio de Janeiro. *New England Journal of Medicine* **375**:2321–2334. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1602412>
- Brazil BDMEP. 1961. Banco de Dados Meteorológicos para Ensino e Pesquisa. <http://www.inmet.gov.br/projetos/rede/pesquisa/> [Accessed June 2017].
- Brazil SINAN. 2016. Sistema de Informação de Agravos de Notificação (national notifiable diseases information system). <http://portal.anan.saude.gov.br> [Accessed June 2017].
- Brazil ZG. 2016. National guidelines for Zika virus pathology and diagnosis. <http://portal.saude.saude.gov.br/images/pdf/2016/março/07/Nota-Informativa-zika.pdf> [Accessed January 2017].
- Butler D. 2016. Zika virus: Brazil's surge in small-headed babies questioned by report. *Nature* **530**:13–14. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature.2016.19259>, PMID: 26842033
- Caminade C, Turner J, Metelmann S, Hesson JC, Blagrove MS, Solomon T, Morse AP, Baylis M. 2017. Global risk model for vector-borne transmission of Zika virus reveals the role of El Niño 2015. *PNAS* **114**:119–124. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1614303114>, PMID: 27994145
- Campos GS, Bandeira AC, Sardi SI. 2015. Zika Virus Outbreak, Bahia, Brazil. *Emerging Infectious Diseases* **21**:1885–1886. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2110.150847>, PMID: 26401719
- Carlson CJ, Dougherty ER, Getz W. 2016. An Ecological Assessment of the Pandemic Threat of Zika Virus. *PLOS Neglected Tropical Diseases* **10**:e0004968. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004968>, PMID: 27564232
- Cauchemez S, Besnard M, Bompard P, Dub T, Guillet-Artur P, Eyrolle-Gugnot D, Salje H, Van Kerkhove MD, Abadie V, Garel C, Fontanet A, Mallet HP. 2016. Association between Zika virus and microcephaly in French Polynesia, 2013–15: a retrospective study. *The Lancet* **387**:2125–2132. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00651-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00651-6), PMID: 26993883
- Champagne C, Salthouse DG, Paul R, Cao-Lormeau VM, Roche B, Cazelles B. 2016. Structure in the variability of the basic reproductive number (R0) for Zika epidemics in the Pacific islands. *eLife* **5**:e19874. DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.19874>, PMID: 27897973

- Chowell G, Hincapié-Palacio D, Ospina J, Fell B, Tariq A, Dahal S, Moghadas S, Smirnova A, Simonsen L, Viboud C. 2016. Using phenomenological models to characterize transmissibility and forecast patterns and final burden of Zika epidemics. *PLoS Currents* **8**. DOI: <https://doi.org/10.1371/currents.outbreaks.f14b2217c902f453d9320a43a35b9583>, PMID: 27366586
- Quang HQ, Hien NT, Duong TN, Phong TV, Cam NN, Farrar J, Nam VS, Thai KT, Horby P. 2011. Quantifying the emergence of dengue in Hanoi, Vietnam: 1998–2009. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **5**:e1322. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001322>, PMID: 21980544
- de Araújo TVB, Rodrigues LC, de Alencar Ximenes RA, de Barros Miranda-Filho D, Montarroyos UR, de Melo APL, Valongueiro S, de Albuquerque M, Souza WV, Braga C, Filho SPB, Cordeiro MT, Vazquez E, Di Cavalcanti Souza Cruz D, Henriques CMP, Bezerra LCA, da Silva Castanha PM, Dhalia R, Marques-Júnior ETA, Martelli CMT, investigators from the Microcephaly Epidemic Research Group, Brazilian Ministry of Health, Pan American Health Organization, Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira, State Health Department of Pernambuco. 2016. Association between Zika virus infection and microcephaly in Brazil, January to May, 2016: preliminary report of a case-control study. *The Lancet Infectious Diseases* **16**:1356–1363. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30318-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30318-8), PMID: 27641777
- de Oliveira WK, de França GVA, Carmo EH, Duncan BB, de Souza Kuchenbecker R, Schmidt MI. 2017. Infection-related microcephaly after the 2015 and 2016 Zika virus outbreaks in Brazil: a surveillance-based analysis. *The Lancet* **390**:861–870. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31368-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31368-5), PMID: 28647172
- De Santis M, Cavaliere AF, Straface G, Caruso A. 2006. Rubella infection in pregnancy. *Reproductive Toxicology* **21**:390–398. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2005.01.014>, PMID: 16580940
- Dorigatti I, Cauchemez S, Ferguson NM. 2013. Increased transmissibility explains the third wave of infection by the 2009 H1N1 pandemic virus in England. *PNAS* **110**:13422–13427. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1303117110>, PMID: 23882078
- Dowall SD, Graham VA, Rayner E, Atkinson B, Hall G, Watson RJ, Bosworth A, Bonney LC, Kitchen S, Hewson R. 2016. A Susceptible Mouse Model for Zika Virus Infection. *PLOS Neglected Tropical Diseases* **10**:e0004658. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004658>, PMID: 27149521
- 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. 2009. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *New England Journal of Medicine* **360**:2536–2543. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0805715>, PMID: 19516034
- EUROCAT. 2003. European surveillance of congenital anomalies, final activity report 2002–2003. http://ec.europa.eu/health/ph_threats/non_com/docs/eurocat_en.pdf [Accessed January 2017].
- Fagbamigbe AH. 1979. Zika virus infections in Nigeria: virological and seroepidemiological investigations in Oyo State. *Journal of Hygiene* **83**:213–219. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0022272400025997>, PMID: 489960
- Farla NR, Azevedo R, Kraemer MUG, Souza R, Cunha MS, Hill SC, Théze J, Borsali MB, Bowden TA, Rissanen L, Rocco IM, Nogueira JS, Maeda AY, Vasami F, Macedo FLL, Suzuki A, Rodrigues SG, Cruz ACR, Nunes BT, Medeiros DBA, et al. 2016a. Zika virus in the Americas: Early epidemiological and genetic findings. *Science* **352**:345–349. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1250336>, PMID: 27013429
- Farla NR, Lourenço J, Marques de Cerqueira E, Maia de Lima M, Carlos Junior Alcantara L. 2016b. Epidemiology of Chikungunya Virus in Bahia, Brazil, 2014–2015. *PLoS Currents* **8**. DOI: <https://doi.org/10.1371/currents.outbreaks.c97507e3e48ef6946401755c468c28b2>
- Farla NR, Quick J, Claro IM, Théze J, de Jesus JG, Giovanetti M, Kraemer MUG, Hill SC, Black A, da Costa AC, Franco LC, Silva SP, Wu CH, Raghwan J, Cauchemez S, du Plessis L, Verotti MP, de Oliveira WK, Carmo EH, Coelho GE, et al. 2017. Establishment and cryptic transmission of Zika virus in Brazil and the Americas. *Nature* **546**:406–410. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature22401>, PMID: 28538727
- Farla NR, Sabino EC, Nunes MR, Alcantara LC, Loman NJ, Pybus OG. 2016c. Mobile real-time surveillance of Zika virus in Brazil. *Genome Medicine* **8**:97. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13073-016-0356-2>, PMID: 27683027
- Feldstein LR, Brownstein JS, Brady OJ, Hay SI, Johanson MA. 2015. Dengue on islands: a Bayesian approach to understanding the global ecology of dengue viruses. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **109**:303–312. DOI: <https://doi.org/10.1093/trstmh/trv012>, PMID: 25771261
- Ferguson NM, Cucunubá ZM, Dorigatti I, Nedjati-Gilani GL, Donnelly CA, Basanez M-G, Nouvellet P, Leask J. 2016. Countering the Zika epidemic in Latin America. *Science* **353**:353–354. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1250336>
- Focks DA, Daniels E, Haile DG, Keesling JE. 1995. A simulation model of the epidemiology of urban dengue fever: literature analysis, model development, preliminary validation, and samples of simulation results. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **53**:489–506. DOI: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1995.53.489>, PMID: 7485707
- Foy BD, Kobylinski KC, Chilson Foy JL, Bittich BJ, Travassos da Rosa A, Haddow AD, Lanciotti RS, Tesh RB. 2011. Probable non-vector-borne transmission of Zika virus, Colorado, USA. *Emerging Infectious Diseases* **17**:880–882. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid1705.101939>, PMID: 21529401
- Funk S, Kucharski AJ, Camacho A, Eggo RM, Yakob L, Murray LM, Edmunds WJ. 2016. Comparative analysis of dengue and Zika outbreaks reveals differences by setting and virus. *PLOS Neglected Tropical Diseases* **10**:e0005173. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005173>, PMID: 27926933
- Gao D, Lou Y, He D, Porco TC, Kuang Y, Chowell G, Ruan S. 2016. Prevention and Control of Zika as a Mosquito-Borne and Sexually Transmitted Disease: A Mathematical Modeling Analysis. *Scientific Reports* **6**:28070. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep28070>, PMID: 27312324

- Golden Gate Weather Services. 2017. El Niño and La Niña Years and intensities - based on oceanic Niño Index (ONI) - Golden Gate Weather Services. <http://ggweather.com/enso/oni.htm> [Accessed June 2017].
- Hill YL, Zhu H, Ng N, Ng LC, Rocklöv J. 2012. Forecast of dengue incidence using temperature and rainfall. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 6:e1908. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001908>, PMID: 23209852
- Honein MA, Dawson AL, Petersen EE, Jones AM, Lee EH, Yazdy MM, Ahmad N, Macdonald J, Evert N, Bingham A, Ellington SR, Shapiro-Mendoza CK, Oduyebo T, Fine AD, Brown CM, Sommer JN, Gupta J, Caviochia P, Slavinski S, White JL, et al. 2017. Birth defects among fetuses and infants of us women with evidence of possible zika virus infection during pregnancy. *JAMA* 317:59. DOI: <https://doi.org/10.1001/jama.2016.19006>, PMID: 27960197
- Hugo LE, Jeffery JA, Trewin BJ, Wockner LF, Nguyen TY, Nguyen HL, Nghia le T, Hine E, Ryan PA, Kay BH. 2014. Adult survivorship of the dengue mosquito *Aedes aegypti* varies seasonally in central Vietnam. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 8:e2669. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002669>, PMID: 24551251
- Jaenisch T, Rosenberger K, Brito C, Brady O, Brasil P, Marques E. 2016. Estimating the risk for microcephaly after Zika virus infection in Brazil. *Bulletin of the World Health Organization*:1–15. DOI: <https://doi.org/10.2471/BLT.16.178608>
- Johansson MA, Mier-y-Teran-Romero L, Reefhuis J, Gilboa SM, Hills SL. 2016. Zika and the Risk of Microcephaly. *New England Journal of Medicine* 375:1–4. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMp1605367>, PMID: 27222919
- Kraemer MU, Sinka ME, Duda KA, Mylne AQ, Shearer FM, Barker CM, Moore CG, Carvalho RG, Coelho GE, Van Bortel W, Hendrickx G, Schaffner F, Eliazar IR, Teng HJ, Brady OJ, Messina JP, Pigott DM, Scott TW, Smith DL, Wint GR, et al. 2015. The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. *eLife* 4:e08347. DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.08347>, PMID: 26126267
- Kraemer MUG, Faria NR, Reiner RC, Golding N, Nikolay B, Stasse S, Johansson MA, Saje H, Faye O, Wint GRW, Niedrig M, Shearer FM, Hill SC, Thompson RN, Biazio D, Taveira N, Nax HH, Pradelski BSR, Nsoesie EO, Murphy NR, et al. 2017. Spread of yellow fever virus outbreak in Angola and the Democratic Republic of the Congo 2015–16: a modelling study. *The Lancet Infectious Diseases* 17:330–338. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30513-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30513-8), PMID: 28017559
- Kucharski AJ, Funk S, Eggo RM, Mallet HP, Edmunds WJ, Nilles EJ. 2016. Transmission Dynamics of Zika Virus in Island Populations: A Modelling Analysis of the 2013–14 French Polynesia Outbreak. *PLOS Neglected Tropical Diseases* 10:e0004726. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004726>, PMID: 27186984
- Lambrechts L, Paalijms KP, Fansiri T, Carrington LB, Kramer LD, Thomas MB, Scott TW. 2011. Impact of daily temperature fluctuations on dengue virus transmission by *Aedes aegypti*. *PNAS* 108:7460–7465. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1101377108>, PMID: 21502510
- Lampouli S, Gillespie DT, Petzold LR. 2009. The multinomial simulation algorithm for discrete stochastic simulation of reaction-diffusion systems. *The Journal of Chemical Physics* 130:094104. DOI: <https://doi.org/10.1063/1.3074302>, PMID: 19275393
- Lessler J, Ott CT, Carcelen AC, Konikoff JM, Williamson J, Bi Q, Kucirka LM, Cummings DA, Reich NG, Chaisson LH. 2016. Times to key events in Zika virus infection and implications for blood donation: a systematic review. *Bulletin of the World Health Organization* 94:841–849. DOI: <https://doi.org/10.2471/BLT.16.174540>, PMID: 27821887
- Li ML, Wong PS, Ng LC, Tan CH. 2012. Oral Susceptibility of Singapore *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus) to Zika Virus. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 6:e1792. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001792>, PMID: 22953014
- Lounibos LP, Escher RL. 2008. Sex ratios of mosquitoes from long-term censuses of Florida tree holes. *Journal of the American Mosquito Control Association* 24:11–15. DOI: <https://doi.org/10.2987/5456.1>, PMID: 18437808
- Lourenço J, Recker M. 2013. Natural, persistent oscillations in a spatial multi-strain disease system with application to dengue. *PLoS Computational Biology* 9:e1003308. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003308>, PMID: 24204241
- Lourenço J, Recker M. 2014. The 2012 Madeira dengue outbreak: epidemiological determinants and future epidemic potential. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 8:e3083. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003083>, PMID: 25144749
- Madeira NG, Macharelli CA, Carvalho LR. 2002. Variation of the oviposition preferences of *Aedes aegypti* in function of substratum and humidity. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 97:415–420. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0074-02762002000300025>, PMID: 12048575
- Maxian O, Neufeld A, Talis EJ, Childs LM, Blackwood JC. 2017. Zika virus dynamics: When does sexual transmission matter? *Epidemics*. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.epidem.2017.06.003>, PMID: 28688996
- Messina JP, Kraemer MU, Brady OJ, Pigott DM, Shearer FM, Weiss DJ, Golding N, Ruktanonchai CW, Gething PW, Cohn E, Brownstein JS, Khan K, Tatem AJ, Jaenisch T, Murray CJ, Marinho F, Scott TW, Hay SI. 2016. Mapping global environmental suitability for Zika virus. *eLife* 5:e15272. DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.15272>, PMID: 27090089
- Moghadas SM, Shoukat A, Espindola AL, Pereira RS, Abdirizak F, Laskowski M, Viboud C, Chowell G. 2017. Asymptomatic Transmission and the Dynamics of Zika Infection. *Scientific Reports* 7:5829. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-05013-9>, PMID: 28724972
- Mohammed A, Chadee DD. 2011. Effects of different temperature regimens on the development of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) mosquitoes. *Acta Tropica* 119:38–43. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2011.04.004>, PMID: 21549680

- Mordecai E, Cohen J, Evans MV, Gudapati P, Johnson LR, Miazgowicz K, Murdock CC, Rohr JR, Ryan SJ, Savage V, Shocket M, Ibarra AS, Thomas MB, Weikel DP. 2016. Temperature determines Zika, dengue and chikungunya transmission potential in the Americas. *bioRxiv*. 063735.
- Mourya DT, Yadav P, Mishra AC. 2004. Effect of temperature stress on immature stages and susceptibility of *Aedes aegypti* mosquitoes to chikungunya virus. *The American journal of tropical medicine and hygiene* **70**: 346–350. PMID: 15100445
- Naccache SN, Théze J, Sardi SI, Somasekar S, Greninger AL, Bandeira AC, Campos GS, Tauro LB, Faria NR, Pybus OG, Chiu CY. 2016. Distinct Zika Virus Lineage in Salvador, Bahia, Brazil. *Emerging Infectious Diseases* **22**:1788–1792. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2210.160663>, PMID: 27448188
- Naling ZW, Scott GM, Shand A, Hamilton ST, van Zuylen WJ, Basha J, Hall B, Craig ME, Rawlinson WD. 2016. Congenital cytomegalovirus infection in pregnancy: a review of prevalence, clinical features, diagnosis and prevention. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology* **56**:9–18. DOI: <https://doi.org/10.1111/ajog.12408>, PMID: 26391432
- Nishiura H, Kinoshita R, Mizumoto K, Yasuda Y, Nah K. 2016. Transmission potential of Zika virus infection in the South Pacific. *International Journal of Infectious Diseases* **45**:95–97. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2016.02.017>, PMID: 26923081
- Nunes MR, Faria NR, de Vasconcelos JM, Golding N, Kraemer MU, de Oliveira LF, Azevedo RS, da Silva DE, da Silva EV, da Silva SP, Carvalho VL, Coelho GE, Cruz AC, Rodrigues SG, Vianez JL, Nunes BT, Cardoso JF, Tesh RB, Hay SI, Pybus OG, et al. 2015. Emergence and potential for spread of Chikungunya virus in Brazil. *BMC Medicine* **13**:102. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12916-015-0348-x>, PMID: 25774325
- Otero M, Solari HG, Schweigmann N. 2006. A stochastic population dynamics model for *Aedes aegypti*: formulation and application to a city with temperate climate. *Bulletin of Mathematical Biology* **68**:1945–1974. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11538-006-9067-y>, PMID: 16832731
- Perkins TA, Siraj AS, Ruktanonchai CW, Kraemer MU, Tatem AJ. 2016. Model-based projections of Zika virus infections in childbearing women in the Americas. *Nature Microbiology* **1**:16126. DOI: <https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.126>, PMID: 27562260
- Poletti P, Messeri G, Ajelli M, Vallorani R, Rizzo C, Merler S. 2011. Transmission potential of chikungunya virus and control measures: the case of Italy. *PLoS One* **6**:e18860. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018860>, PMID: 21559329
- Rossi MM, Lopez LF, Massad E. 2015. The dynamics of temperature- and rainfall-dependent dengue transmission in tropical regions. *Annals of Biometrics & Biostatistics* **2**:1–6.
- Rublin EJ, Greene MF, Baden LR. 2016. Zika virus and microcephaly. *New England Journal of Medicine* **374**:984–985. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMe1601862>, PMID: 26862812
- Selje H, Cauchemez S, Alera MT, Rodriguez-Barraquer I, Thaisomboonsuk B, Srikiatkachom A, Lago CB, Villa D, Klungthong C, Tac-An IA, Fernandez S, Velasco JM, Roque VG, Nisalak A, Macareo LR, Levy JW, Cummings D, Yoon IK. 2016. Reconstruction of 60 years of chikungunya epidemiology in the Philippines demonstrates episodic and focal transmission. *Journal of Infectious Diseases* **213**:604–610. DOI: <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv470>, PMID: 26410592
- Schofield RM, Shape PJ, Magnuson CE. 1981. Non-linear regression of biological temperature-dependent rate models based on absolute reaction-rate theory. *Journal of Theoretical Biology* **88**:719–731. DOI: [https://doi.org/10.1016/0022-5193\(81\)90246-0](https://doi.org/10.1016/0022-5193(81)90246-0), PMID: 6790878
- Silva MM, Rodrigues MS, Paploski IA, Kikuti M, Kasper AM, Cruz JS, Queiroz TL, Tavares AS, Santana PM, Araújo JM, Ko AI, Reis MG, Ribeiro GS. 2016. Accuracy of Dengue Reporting by National Surveillance System, Brazil. *Emerging Infectious Diseases* **22**:336–339. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2202.150495>, PMID: 26812472
- Soares de Araújo JS, Regis CT, Gomes RG, Tavares TR, Rocha Dos Santos C, Assunção PM, Nóbrega RV, Pinto DF, Bezerra BV, Mattos SD. 2016. Microcephaly in north-east Brazil: a retrospective study on neonates born between 2012 and 2015. *Bulletin of the World Health Organization* **94**:835–840. DOI: <https://doi.org/10.2471/BLT.16.170639>, PMID: 27821886
- Dickerson CZ. 2007. The effects of temperature and humidity on the eggs of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Texas. In: *Doctor of Philosophy*. College Station, Texas: Texas A and M University.
- Tran A, L'Ambert G, Lacour G, Benoit R, Demarchi M, Cros M, Caillly P, Aubry-Kientz M, Balenghien T, Ezanno P. 2013. A rainfall- and temperature-driven abundance model for *Aedes albopictus* populations. *International Journal of Environmental Research and Public Health* **10**:1698–1719. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph10051698>, PMID: 23624579
- Triplis M, Häusermann W. 1986. Dispersal and other population parameters of *Aedes aegypti* in an African village and their possible significance in epidemiology of vector-borne diseases. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **35**:1263–1279. DOI: <https://doi.org/10.4269/ajtmh.1986.35.1263>, PMID: 3789275
- Triplis M, Häusermann W, Craig GB. 1995. Estimates of population size, dispersal, and longevity of domestic *Aedes aegypti* aegypti (Diptera: Culicidae) by mark-release-recapture in the village of Shauri Moyo in eastern Kenya. *Journal of Medical Entomology* **32**:27–33. DOI: <https://doi.org/10.1093/jmedent/32.1.27>, PMID: 7869339
- Turmel JM, Abgueuen P, Hubert B, Vandamme YM, Maquart M, Le Guillou-Guillemette H, Leparc-Goffart I. 2016. Late sexual transmission of Zika virus related to persistence in the semen. *The Lancet* **387**:2501. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30775-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30775-9)
- van Panhuis WG, Choisy M, Xiong X, Chok NS, Akarasevi P, Iamsirithaworn S, Lam SK, Chong CK, Lam FC, Phommasek B, Vongphrachanh P, Bouaphanh K, Rekol H, Hien NT, Thai PQ, Duong TN, Chuang JH, Liu YL, Ng

- LC, Shi Y, et al. 2015. Region-wide synchrony and traveling waves of dengue across eight countries in Southeast Asia. *PNAS* **112**:13069–13074. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1501375112>, PMID: 26438851
- Wearing HJ, Rohani P. 2006. Ecological and immunological determinants of dengue epidemics. *PNAS* **103**: 11802–11807. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0602960103>, PMID: 16868086
- WHO. 2016a. Mosquito (vector) control: emergency response and preparedness for Zika virus. World Health Organization. <http://bit.ly/ZikaEmergencyPrepar> [Accessed June 2017].
- WHO. 2016b. WHO Director-General summarizes the outcome of the Emergency Committee regarding clusters of microcephaly and Guillain-Barré syndrome. World Health Organization. <http://bit.ly/HealthEmergency> [Accessed June 2017].
- WHO. 2016c. World Health Organization – Brazil – Statistics. World Health Organization. <http://www.who.int/countries/bra/en/> [Accessed June 2017].
- Wong PS, Li MZ, Chong CS, Ng LC, Tan CH. 2013. *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse): a potential vector of Zika virus in Singapore. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **7**:e2348. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002348>, PMID: 23936579
- Xuan LTT, Van Hau P, Thu DT, Toan DTT. 2014. Estimates of meteorological variability in association with dengue cases in a coastal city in northern Vietnam: an ecological study. *Global Health Action* **7**:23119. DOI: <https://doi.org/10.3402/gha.v7.23119>, PMID: 28672611
- Yakob L, Kucharski A, Hue S, Edmunds WJ. 2016. Low risk of a sexually-transmitted Zika virus outbreak. *The Lancet Infectious Diseases* **16**:1100–1102. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30324-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30324-3), PMID: 27676337
- Yang HM, Macoris ML, Galvani KC, Andrighetti MT, Wandesley DM. 2009. Assessing the effects of temperature on the population of *Aedes aegypti*, the vector of dengue. *Epidemiology and Infection* **137**:1188–1202. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0950268809002040>, PMID: 19192322
- Yasuno M, Tonn RJ. 1970. A study of biting habits of *Aedes aegypti* in Bangkok, Thailand. *Bulletin of the World Health Organization* **43**:319–325. PMID: 5312528
- Zanluca C, Melo VC, Mosimann AL, Santos GI, Santos CN, Luz K. 2015. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **110**:569–572. DOI: <https://doi.org/10.1590/0074-02760150192>, PMID: 26061233
- Zhang Q, Sun K, Chinazzi M, Pastore-Piontti A, Dean NE, Rojas DP, Merler S, Mistry D, Poletti P, Rossi L, Bray M, Halloran ME, Longini IM, Vespignani A. 2016. Projected spread of Zika virus in the Americas. *bioRxiv* 066456.
- ZIBRA. 2016. Zika in Brazil Real Time Analysis Project. <http://www.zibra-project.org/> [Accessed June 2017].

Epidemiological and ecological determinants of Zika virus transmission in an urban setting

Supplementary Material

Methods

The ordinary differential equations (ODE) model and the Markov-chain Monte Carlo (MCMC) fitting approach herein used are based on the framework previously proposed to study the introduction of dengue into the island of Madeira in 2012 [1]. We have changed this framework to relax major modelling assumptions on the mosquito sex ratio and success of egg hatching, have included humidity and rainfall as critical climate variables, and have also transformed the original least squares based MCMC into a Bayesian MCMC. The resulting framework is described in the following sections.

Ento-Epidemiological Dynamic Model

The dynamics of infection within the human population are defined in equations 1-5. In summary, the human population is assumed to have constant size (N) with mean life-expectancy of μ^h years, and to be fully susceptible before introduction of the virus. Upon challenge with infectious mosquito bites ($\lambda^{v \rightarrow h}$), individuals enter the incubation phase (E^h) with mean duration of $1/\gamma^h$ days, later becoming infectious (I^h) for $1/\sigma^h$ days and finally recovering (R^h) with life-long immunity.

SUBPROJETO 1 – ARTIGO 2

ACHADOS CLÍNICOS EM RECÉM-NASCIDOS COM SÍNDROME CONGÊNITA DO ZIKA EM UM MUNICÍPIO DA REGIÃO NORDESTE DO BRASIL

CLINICAL FINDINGS IN NEWBORNS WITH CONGENITAL ZIKA SYNDROME IN A MUNICIPALITY IN NORTHEASTERN BRAZIL

HALLAZGOS CLÍNICOS EN RECIÉN NACIDOS CON SÍNDROME DE ZIKA CONGÉNITO EN UN MUNICIPIO DEL NORESTE DE BRASIL

Maricélia Maia de Lima^{1,2}; Normeide Pedreira Santos^{1,2}; Hélvia Maia de Lima Cerqueira¹; Melissa Barreto Falcão^{1,2}; Jaqueline Góes de Jesus^{3,4}; José Lourenço⁴; Nuno Rodrigues Faria⁴; Joílson Xavier Junior⁵; Cleiton Silva Santos⁶; Marta Giovanetti^{7,5}; Luiz Carlos Junior Alcântara^{7,5}; Isadora Cristina de Siqueira⁶; Erenilde Marques de Cerqueira¹.

¹Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia, Brasil.

²Secretaria Municipal de Saúde de Feira de Santana, Bahia, Brasil.

³Universidade Estadual de São Paulo, São Paulo, Brasil.

⁴Departamento de Zoologia, Universidade de Oxford, Oxford, UK.

⁵Laboratório de Genética Celular e Molecular, ICB, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

⁶Laboratório de Patologia Experimental Instituto Gonçalo Moniz, Salvador, Bahia, Brasil.

⁷Laboratório de Flavivírus, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil.

Autora correspondente: Erenilde Marques de Cerqueira¹. Endereço: Avenida João Durval Carneiro, Condomínio Parque Cajueiro, Bloco 21, Apart. 303. Tomba. Feira de Santana – BA. Fone: (75) 99977-7261.

Autora principal: Maricelia Maia de Lima. Endereço: Rua dos Agrônomos, 180, Residencial Clemis Maia, casa 10, Eucalipto, Feira de Santana – BA. Fone: (75) 99143-1420. E-mail: Limapfa@gmail.com.

Resumo

Introdução: Em 2015, um surto de microcefalia associada ao vírus Zika (ZIKV) foi registrado no Brasil. Inicialmente, a microcefalia foi o que mais chamou atenção. No entanto, outros desfechos teratogênicos foram observados. Essa multiplicidade de anormalidades observadas em um único feto infectado levou o Ministério da Saúde (MS) a classificar os casos como Síndrome Congênita do Zika (SCZ). **Objetivo:**

descrever as características clínicas dos casos de Síndrome Congênita do Zika (SCZ) em Feira de Santana – BA, de 2015 a 2018. Métodos: estudo prospectivo envolvendo nascidos vivos (NV) notificados no Registro de Eventos em Saúde Pública (RESP-Microcefalia). Foi realizada coleta de dados de prontuários e entrevistas. Mães e NV foram testados para vírus Zika, Sífilis, Toxoplasmose, Rubéola, Citomegalovírus e Herpes (STORCH). A análise dos dados foi realizada através do *Stata*. Resultados: dos 67 suspeitos, 31 (44,92%) confirmaram SCZ: 3 (9,67%) por laboratório e 28 (90,32%) por exames de neuroimagem. Dos 31 com SCZ, em 20 (64,51%) a microcefalia foi detectada ao nascer, 4 (12,90%) pós-natal e 7 (22,58%) que nasceram normocéfalos apresentaram lesões cerebrais nos exames de neuroimagem durante o acompanhamento. 25 (80,64%) gestantes referiram exantema, 13 (52,00%) no primeiro trimestre. Calcificações e ventriculomegalia representaram 67,74% e 58,06% das lesões cerebrais, respectivamente. 13 (41,93%) tinham alterações oculares e 11 (35,48) deficiência auditiva. Conclusão: lesões cerebrais graves compatíveis com o padrão de sequelas já descrito na SCZ foram detectadas em RN sem microcefalia e crianças normocéfalas evoluíram com desaceleração do perímetro cefálico no primeiro ano de vida, apresentando microcefalia pós-natal.

Palavras-chaves: Vírus Zika; microcefalia; síndrome congênita.

Abstract

Introduction: In 2015, an outbreak of Zika virus-associated microcephaly (ZIKV) was recorded in Brazil. Initially microcephaly was the one that drew the most attention, however, other teratogenic outcomes were observed. The multiple abnormalities observed in a single infected fetus led the Ministry of Health (MS) to classify the cases as Congenital Zika Syndrome (SCZ). Objective: To describe the clinical characteristics of cases of Congenital Zika Syndrome (SCZ), Feira de Santana-BA, 2015 to 2018. Methods: Prospective study involving live births (NV) reported in the Public Health Event Registry (RESP-Microcephaly). Data collection of medical records and interviews. Mothers and NV were tested for Zika virus, syphilis, toxoplasmosis, rubella, cytomegalovirus and herpes (STORCH). Analysis performed through *Stata*. Results: Of the 67 suspects, 31 (44.92%) confirmed SCZ, 3 (9.67%) by laboratory, and 28 (90.32%) neuroimaging exams. Of the 31 with SCZ, 20 (64.51%) microcephaly were detected at birth, 4 (12.90%) postnatal and 7 (22.58%) newborns who were born with normocephalus had brain lesions on neuroimaging exams. 25 (80.64%) pregnant women reported rash, 13 (52.00%) in the first trimester. Calcifications and ventriculomegaly accounted for 67.74% and 58.06% of the lesions respectively 13 (41.93%) had eye changes and 11 (35.48) hearing impairment. Conclusion: Serious brain lesions compatible with the pattern of sequelae already described in SCZ were detected in newborns without microcephaly, and normocephalic children evolved with deceleration of the head circumference in the first year of life with postnatal microcephaly.

Keywords: Zika vírus; microcephaly; congenital syndrome.

Resumen

Introducción: en 2015, se registró un brote de microcefalia asociada al virus Zika (ZIKV) en Brasil. Inicialmente, la microcefalia fue la que llamó más la atención, sin embargo, se observaron otros resultados teratogénicos. Las múltiples anomalías observadas en un solo feto infectado llevaron al Ministerio de Salud (MS) a clasificar los casos como Síndrome de Zika Congénito (SCZ). **Objetivo:** Describir las características clínicas de los casos de Síndrome de Zika Congénito (SCZ), Feira de Santana-BA, 2015 a 2018. **Métodos:** Estudio prospectivo con nacimientos vivos (NV) reportado en el Registro de Eventos de Salud Pública (RESP-Microcefalia) Recopilación de datos de historias clínicas y entrevistas. Las madres y NV se analizaron para detectar el virus del Zika, sífilis, toxoplasmosis, rubéola, citomegalovirus y herpes (STORCH). Análisis realizado a través de Stata. **Resultados:** De los 67 sospechosos, 31 (44.92%) confirmaron SCZ, 3 (9.67%) por laboratorio y 28 (90.32%) exámenes de neuroimagen. De los 31 con SCZ, 20 (64.51%) microcefalia se detectaron al nacer, 4 (12.90%) postnatal y 7 (22.58%) recién nacidos que nacieron con normocefalia tenían lesiones cerebrales en los exámenes de neuroimagen. 25 (80.64%) mujeres embarazadas reportaron erupción cutánea, 13 (52.00%) en el primer trimestre. Las calcificaciones y la ventriculomegalia representaron el 67.74% y 58.06% de las lesiones, respectivamente. 13 (41.93%) tuvieron cambios oculares y 11 (35.48) discapacidad auditiva. **Conclusión:** Se detectaron lesiones cerebrales graves compatibles con el patrón de secuelas ya descritas en SCZ en recién nacidos sin microcefalia, y los niños normocefálicos evolucionaron con desaceleración de la circunferencia de la cabeza en el primer año de vida con microcefalia postnatal.

Palabras clave: Virus Zika; microcefalia; síndrome congénito.

Introdução

O Brasil registrou uma epidemia de Zika (ZIKV) em 2015, sendo os estados da Região Nordeste os primeiros a detectarem o ZIKV em pacientes da Bahia¹ e do Rio Grande do Norte². Contudo, evidências científicas apontaram que o ZIKV pode ter entrado no Brasil em 2013³. Em outubro de 2015, a infecção pelo ZIKV em gestantes foi associada à microcefalia em recém-nascidos (RN)^{4,5} e, nessa ocasião, o aumento de nascimentos de crianças microcefálicas, em um curto período de tempo, motivou as autoridades sanitárias do estado de Pernambuco a emitirem um alerta para o Ministério da Saúde (MS)⁴ que declarou situação de Emergência em Saúde Pública de Importância Nacional (ESPIN)⁴. Em seguida, a Organização

Mundial da Saúde (OMS) considerou o evento como Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional (ESPII)⁵.

Em 2013, uma epidemia de Zika ocorreu na Polinésia Francesa^{6,7,8}, onde se registraram complicações neurológicas e autoimunes^{9,10}. No entanto, só em 2015, após um estudo retrospectivo, foram detectados 17 (dezessete) casos de microcefalia, sendo que a média anterior era de zero a dois casos por ano^{10,11}. No Brasil, a confirmação do ZIKV em sangue e tecidos de um RN microcefálico que evoluiu para óbito no estado do Ceará¹²; a identificação do vírus Zika no líquido amniótico de duas gestantes com fetos microcefálicos e no líquido cefalorraquidiano de RN com microcefalia no estado da Paraíba¹³; a demonstração do neurotropismo do ZIKV em animais experimentais¹⁴; a descoberta de que o vírus pode causar a morte de células neurais¹⁵; e a constatação de uma maior frequência de anormalidades detectadas por ultrassonografia em mulheres grávidas infectadas pelo ZIKV em comparação com as que não possuíam anormalidades observadas em um estudo realizado no Rio de Janeiro¹⁶ foram alguns fatores que comprovaram que o ZIKV é capaz de provocar infecções congênicas e causar danos ao feto.

Diante do aumento repentino de casos de microcefalia e com o propósito de ampliar a captação de casos suspeitos, o MS implantou um sistema nacional de notificação mais sensível, tomando como ponto de corte inicial a medida do perímetro cefálico (PC) de 33 (trinta e três) cm para crianças a termo, com 37 (trinta e sete) ou mais semanas de gestação para ambos os sexos, sendo posteriormente reduzida para 32 (trinta e dois) cm^{4,5}. Em março de 2016, alinhado às orientações da OMS, o MS passou a adotar para crianças a termo as medidas de 31,5 (trinta e um vírgula cinco) cm para meninas e 31,9 (trinta e um vírgula nove) cm para meninos⁵. Finalmente, em 30 de agosto de 2016, a OMS recomendou aos países que adotassem como referência para as primeiras 24-48h de vida os parâmetros de *InterGrowth* para ambos os sexos^{17,18, 19}.

As microcefalias podem ser congênicas, presentes desde o nascimento e pós-natal, principalmente nos primeiros anos de vida^{20,21,22}. As microcefalias congênicas podem ser adquiridas por outros agentes infecciosos, como: Toxoplasmose, Rubéola, Citomegalovírus, Herpes, Sífilis (TORCHS); bem como através da exposição a drogas e substâncias tóxicas, especialmente o consumo de álcool; exposição à radiação, entre outros fatores que podem afetar o desenvolvimento do cérebro fetal^{20,21,23,24}.

Achados de neuroimagem, como as calcificações do parênquima cerebral, atrofia cerebral com ventriculomegalia, pseudocistos subependimétricos, malformações do desenvolvimento cortical, agenesia e hipoplasia do corpo caloso, hipoplasia cerebelar do tronco encefálico e alterações mielinitárias foram observadas em RN com SCZ.^{24,25,26} Convulsões, irritabilidade, disfunção do tronco encefálico, problemas de deglutição, contraturas de membros, anormalidades auditivas e oculares, aumento do risco de restrição do crescimento intrauterino, o aborto espontâneo e óbito fetal²⁷ também têm sido relatados. Portanto, diante da possibilidade de junção das diversas anormalidades em um único feto infectado pelo ZIKV, o MS adotou a nomenclatura da Síndrome Congênita do Zika para se referir aos casos.

Diante da complexidade do diagnóstico etiológico do ZIKV e da constatação de lesões cerebrais em crianças com e sem microcefalia, em 2017, o MS passou a recomendar novos parâmetros para a classificação final dos casos de SCZ envolvendo tanto os nascidos vivos como os óbitos fetais¹⁸. Esses novos critérios preveem a avaliação conjunta dos resultados dos exames laboratoriais para TORCHS e específicos para o ZIKV, além dos achados clínicos e de imagens que possam melhor elucidar os casos. Portanto, o elenco de alterações associadas à SCZ, já descritas na literatura e ainda desconhecidas, motivou o desenvolvimento do presente estudo que tem como objetivo avaliar os desfechos clínicos e epidemiológicos observados em RN com SCZ residentes em Feira de Santana – BA, no período de 2015 a 2018.

Materiais e Métodos

Trata-se um estudo prospectivo, envolvendo RN com suspeita de SCZ notificados no Registro de Eventos em Saúde Pública (RESP-Microcefalia) de Feira de Santana, Bahia, Brasil, no período de 2015 a 2018. O RESP foi um sistema de informação implantado pelo MS após a emergência da epidemia de microcefalia a fim de sistematizar a notificação dos óbitos, abortos e casos suspeitos de infecção congênita pelo ZIKV e por outras etiologias infecciosas.

O estudo foi realizado no município de Feira de Santana – BA, que possui uma população de 622.639 (seiscentos e vinte e dois mil, seiscentos e trinta e nove)

habitantes, sendo a segunda maior cidade do estado²⁸, registrou os primeiros casos de Zika em março de 2015, e em 2016 confirmou o primeiro caso de RN com SCZ²⁹.

Foram incluídos no estudo tanto os nascidos vivos com medidas do PC menor ou igual a 33 (trinta e três) cm para ambos os sexos, independentemente da idade gestacional², definidos no início da epidemia, como os casos incluídos após a revisão dos critérios em março de 2016¹⁸, que considerou microcefalia PC inferior a -2 desvios-padrão em relação à idade gestacional e sexo, conforme as referências da Tabela *InterGrowth*. Foram excluídos da análise os casos sem identificação e aqueles que confirmaram infecção congênita por outras etiologias (TORCHS) identificadas em amostras de sangue do RN e/ou da mãe e que foram negativos para ZIKV.

Os dados foram coletados dos registros de prontuários e através de entrevistas com as mães ou responsáveis utilizando um formulário contendo as variáveis clínicas, epidemiológicas e laboratoriais da mãe e do RN definidas no estudo. A coleta foi realizada no Ambulatório de Infectologia Pediátrica da Secretaria Municipal de Saúde (SMS) ou no próprio domicílio através de visitas pré-agendadas, no período de 2015 a 2018.

Com base na avaliação das medidas do PC ao nascer e após o nascimento, e de acordo com os parâmetros da tabela *InterGrowth*, os casos foram classificados em quatro grupos: com microcefalia ao nascer; com microcefalia pós-natal; sem microcefalia e com alterações nos exames de neuroimagens; e casos descartados por não apresentarem microcefalia nem alterações cerebrais e outras malformações nos exames de imagem.

Durante o seguimento, os RN foram avaliados por equipe de especialistas (infetopediatra, neurologista, geneticista, oftalmologistas) e submetidos a exames de imagem Ultrassonografia Transfontanela (USTF), Tomografia Computadorizada do Crânio (TCC) e Ressonância Magnética do Crânio (RMC) para avaliação das funções cerebrais e detecção de possíveis lesões do sistema nervoso central (SNC) compatíveis com o padrão de sequelas da infecção congênita pelo ZIKV, tais como: microcefalia, microencefalia, alterações de fossa posterior com dimorfismo de vermis cerebelar, ventriculomegalia/dilatação ventricular, hidrocefalia, calcificações cerebrais disseminadas, sinéquias, disgenesia de corpo caloso, esquizencefalia/porencefalia, afilamento do córtex, occipital proeminente, distúrbio do desenvolvimento cortical cerebral, predomínio frontoparietal do espessamento

cortical, polimicrogiria, simplificação do padrão de giração/sulcação cerebral, alteração do padrão de fossa posterior, hipoplasia de tronco cerebral, cerebelo, corpo caloso conforme protocolo de classificação e encerramento de casos da SCZ estabelecido pelo MS¹⁸. .

A avaliação auditiva foi realizada por especialistas, e incluiu a consulta clínica e a realização de exames específicos através do método de Emissões Otoacústicas Evocadas Transientes (EOAT) e audiometria de tronco cerebral (BERA) para detecção de possíveis danos ou perdas auditivas. A avaliação visual foi realizada por equipe de oftalmologistas, e consistiu de anamnese; exames clínicos, como ectoscopia; e exames oftalmológicos, através da fundoscopia, utilizando o oftalmoscópio binocular indireto (OBI) em ambos os olhos. Os exames de mapeamento de retina e retinografia colorida foram realizados para detecção de possíveis anormalidades da retina e nervo óptico.

Foram coletadas amostras clínicas de sangue das mães e dos RN para pesquisa do ZIKV e TORCHS. As amostras foram encaminhadas para os laboratórios da Fiocruz – BA e de Saúde Pública do Estado da Bahia, onde foram processadas.

Os casos foram confirmados por critério laboratorial através da detecção do ZIKV por testes sorológicos e moleculares em amostras clínicas do RN e/ou da mãe. E para os casos sem exames laboratoriais confirmatórios para o ZIKV e para nenhuma outra infecção congênita por TORCHS, foram utilizados resultados dos exames de neuroimagem (USTF, TCC, RMC) realizados durante o pré-natal e/ou após o nascimento, os quais evidenciaram lesões cerebrais compatíveis com o padrão de sequelas observadas nas infecções congênitas pelo ZIKV, tais como: ventriculomegalia/dilatação ventricular, hidrocefalia, calcificações cerebrais disseminadas, microcefalia, microencefalia, alterações de fossa posterior com dimorfismo de vermis cerebelar, sinéquias, disgenesia de corpo caloso, esquizefalia/porencefalia, afilamento do córtex, occipital proeminente, distúrbio do desenvolvimento cortical cerebral, predomínio frontoparietal do espessamento cortical, polimicrogiria, simplificação do padrão de giração/sulcação cerebral, alteração do padrão de fossa posterior, hipoplasia de tronco cerebral, cerebelo, corpo caloso conforme protocolo de classificação e encerramento de casos da SCZ estabelecido pelo MS¹⁸.

Os dados foram registrados no Programa do REDCap 6.18.1© (VANDERBILT UNIVERSITY, 2018), disponibilizado pela Fiocruz – BA. A análise foi realizada através do Programa estatístico *Stata*, versão 14. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz/Fiocruz/BA, e aprovado sob o parecer número 1.100.349. Foi aplicado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), e todos os procedimentos só foram realizados após a assinatura e o consentimento das mães ou dos responsáveis legais.

Resultados

Foram notificados no sistema RESP-Microcefalia 73 (setenta e três) nascidos vivos suspeitos de SCZ no período de 2015 a 2018. Deste total, quatro casos sem informações e dois RN com microcefalia congênita comprovada por outras etiologias (um por toxoplasmose e outro por sífilis e citomegalovírus) foram excluídos da análise.

Portanto, 67 (sessenta e sete) RN foram avaliados. E com base nos parâmetros da tabela *InterGrowth*, 20 (vinte), o equivalente a 29,85%, confirmaram a microcefalia desde o nascimento; 4 (quatro) ou 5,97% dos RN, apesar de nascerem normocéfalos, evoluíram com microcefalia pós-natal ainda no primeiro ano de vida; e dos 43 (quarenta e três) ou 64,17% considerados normocéfalos, 7 (sete) ou 16,27% crianças apresentaram alterações neurológicas do sistema nervoso central (SNC) nos exames de imagens compatíveis com as sequelas observadas na infecção congênita pelo ZIKV, e em 36 (trinta e seis) ou 83,72% das crianças as medidas do PC ao nascer e durante o seguimento estavam normais e não apresentaram lesões cerebrais nem outras malformações, sendo então considerados como casos descartados.

Portanto, após a avaliação clínica, 31 (trinta e um) casos apresentaram microcefalia e/ou sequelas cerebrais nos exames de imagens compatíveis com a SCZ. Deste total, apenas 3 (três) ou 9,67% das crianças microcefálicas confirmaram o ZIKV através do RT-qPCR, e as demais foram não reagentes ou indetectáveis. Em um desses casos positivos, foi extraído o RNA viral e realizado o sequenciamento genético evidenciando sequências compatíveis com a linhagem asiática²⁹. Com relação aos testes sorológicos (IgG para ZIKV) realizados após o parto, das 25 (vinte e cinco) amostras maternas e 19 (dezenove) dos RN coletadas e examinadas, 13

(treze) ou 52,00% e 6 (seis) ou 31,57%, respectivamente, apresentaram IgG reagentes para o ZIKV (Quadro 1).

Quadro 02: Resultados dos exames para detecção do ZIKV em amostras maternas e dos RN com SCZ em Feira de Santana, de 2015 a 2018

Exames Realizados/Reagentes	MÃE (n=31)	RN (n=31)
RT-PCR	31/3	31/3
IgM	-	-
IgG	25/13	19/6
Isolamento viral	31/1	31/1

Fonte: produzido pela autora

Após a avaliação conjunta dos achados clínicos, laboratoriais e de exames de neuroimagem, dos 67 (sessenta e sete) casos avaliados, 31 (trinta e um) ou 46,26% foram classificados como SCZ, sendo 3 (três) ou 9,67% por critério laboratorial e 28 (vinte e oito) ou 90,32% através dos exames clínicos e de neuroimagem, conforme fluxograma da investigação (Figura 12).

Figura 12: Fluxograma da Investigação

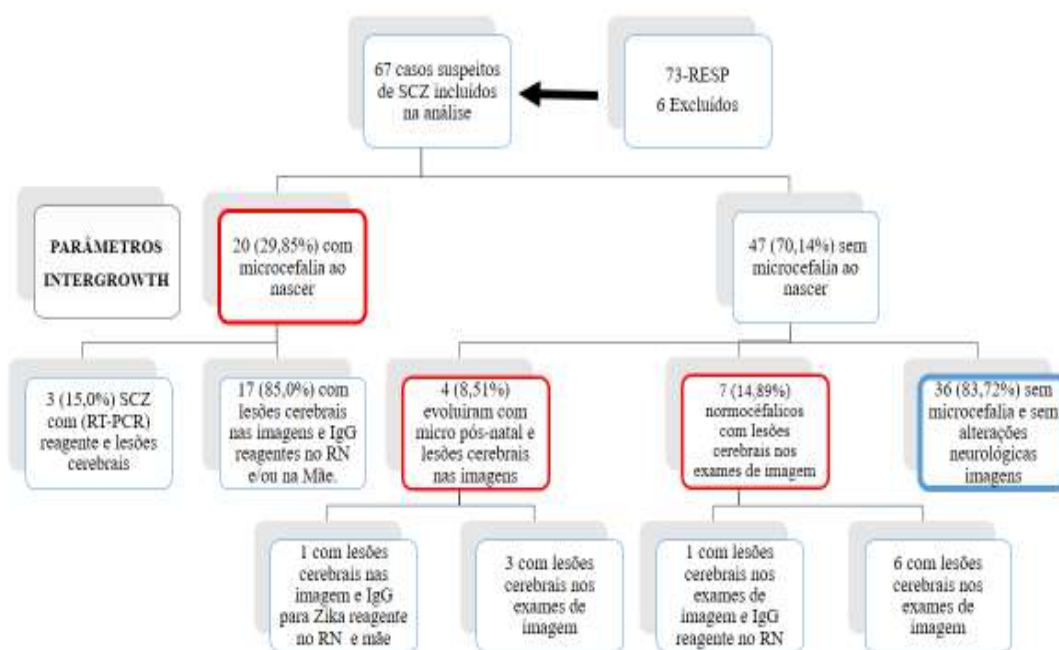


Figura 1. Fluxograma de investigação clínica, radiológica e laboratorial dos suspeitos de SCZ, Feira de Santana, 2015 a 2018.

45

Fonte: produzido pela autora

Conforme se verifica na Tabela 01, a seguir, das 31 (trinta e uma) genitoras, 11 (onze), ou seja, 35,48% estavam na faixa etária de 24 (vinte e quatro) a 28 (vinte e oito) anos; 14 (catorze) ou 45,16% não fizeram o número mínimo de 6 (seis) consultas durante o pré-natal; 15 (quinze) ou 48,38% eram primigestas; e 5 (cinco) ou 16,12% relataram abortamento prévio. A presença do exantema durante a gestação foi relatada por 25 (vinte e cinco) ou 80,64% gestantes, sendo 16 (dezesesseis) ou 51,61% no primeiro trimestre gestacional. Com relação ao momento da detecção das alterações fetais, 22 (vinte e duas) ou 70,96% das gestantes tomaram conhecimento através das Ultrassonografias Obstétricas (USG) realizadas durante o pré-natal.

Tabela 1: Características clínicas das mães dos RN com SCZ, Feira de Santana – BA, 2015 a 2018

Variáveis Maternas	n=31	%
Idade		
Média $\pm$ desvio padrão	26,03 $\pm$ 5,78	
Mínima e máxima	15 e 37	
15 a 18 anos	4	12,90
19 a 23 anos	6	19,35
24 a 28 anos	11	35,48
29 a 33 anos	7	22,58
34 e mais	3	9,67
Nº de consultas Pré-natais		
Menos de 6 consultas	14	45,16
6 consultas e mais	17	54,83
Comorbidades		
Sim	1	3,22
Não	30	96,77
Aborto prévio		
Sim	5	16,12
Não	26	83,87
Exantema na gestação		

Sim	25	80,64
Não	6	19,35
Trimestre da gestação de início do exantema (n=25)		
1º trimestre	16	51,61
2º trimestre	6	19,35
3º trimestre	3	9,67
Não lembra	6	19,35
Tipo de parto		
Vaginal	15	48,38
Cesáreo	16	51,61
USG obstétrica no pré-natal		
Com alterações	22	70,96
Sem alterações	8	25,80
Não realizada	1	3,22
Número de gestações		
Primigesta	15	48,38
De 2 a 3	15	48,38
Mais de 4 gestações	1	3,22

Na Tabela 02, com relação ao sexo, 16 (dezesseis) ou 51,61% foram do sexo feminino; 20 (vinte) ou 64,51% apresentaram dano perinatal ao nascimento; 25 (vinte e cinco) ou 80,64% nasceram a termo; e 6 (seis) ou 19,35% foram prematuros.

Quanto ao peso, 13 (treze) ou 41,93% apresentaram baixo peso ao nascer e 9 (nove) ou 29,03% com peso insuficiente. As medidas da circunferência da cabeça ao nascimento variaram de 25 (vinte e cinco) cm a 33 (trinta e três) cm. 24 (vinte e quatro) crianças (77,41%) apresentaram microcefalia, sendo 16 (dezesseis) ou 66,66% classificadas como microcefalia grave. Com relação a outras infecções congênitas (Toxoplasmose, Rubéola, Citomegalovírus, Herpes e Sífilis), os resultados dos exames foram todos negativos.

Tabela 2: Características clínicas dos RN com SCZ, Feira de Santana – BA, 2015
a 2018

Variáveis do RN	n=31	%
Sexo:		
Masculino	16	51,61
Feminino	15	48,38
Dano perinatal:		
Sim	20	64,51
Não	11	35,48
RN X idade gestacional:		
Pré-termo	6	19,35
A termo	25	80,64
PC X idade/sexo:		
Microcefalia ao nascer	20	64,51
Microcefalia pós-natal	4	12,90
Sem Microcefalia	7	22,58
Peso ao nascer:		
Baixo peso (<2500g)	13	41,93
Peso insuficiente (2.500g a 2.999g)	9	29,03
Peso adequado (3.000g a 3.999g)	8	25,80
Excesso de peso ($\geq$ 4000g)	1	3,22
Critério de classificação dos casos de SCZ (n=31):		
Critério laboratorial (RT-PCR)	3	9,67
Critério clínico/imagem (USTF, RMC, TCC)	28	90,32

O Quadro 03 mostra as alterações cerebrais nos exames de imagens (USTF/TCC/RM*), nos quais se observou a presença de calcificações/microcalcificações do parênquima cerebral em 21 (vinte e um) ou 67,8%; ventriculomegalia/dilatação ventricular em 18 (dezoito) ou 58,06%; atrofia cerebral/atrofia encefálica difusa em 8 (oito) ou 25,80%; agenesia de corpo caloso em 2 (dois) ou 6,45%; hidrocefalia em 2 (dois) ou 19,35%; e microlisencefalia,

encefalomalacia cística, polimicrogiria, porencefalia e microcefalia e alterações hipoxco-isquêmica em 1 (um) cada ou 3,22%, respectivamente.

Quadro 03: Principais alterações identificados nos exames de imagem (USTF/TCC/RMC*) dos casos de SCZ, Feira de Santana, 2015 a fevereiro de 2018

Alterações de imagem	*USTF	**TCC	***RMC
Calcificações/microcalcificações do parênquima cerebral	11	9	1
Ventriculomegalia/dilatação ventricular	11	7	-
Atrofia cerebral/atrofia encefálica difusa	5	3	-
Agenesia/Hipoplasia/Disgenesia do corpo caloso	2	-	-
Hidrocefalia	-	2	
Microlisencefalia	1	-	1
Encefalomalacia cística	1	1	-
Polimicrogiria	-	1	-
Porencefalia/alterações hipoxco-isquêmica	1	-	-
Encefalopatia hipoxco-isquêmica	1	-	-

*USTF: Ultrassonografia Transfontanela

**TCC: Tomografia Computadorizada do Crânio

***RMC: Ressonância Magnética do Crânio

Patologias oculares foram detectadas em 13 (treze) ou 41,93% das crianças, e entre as alterações foram observadas: a presença de catarata subcapsular posterior e em cavidade vítrea anecoica; alterações do epitélio pigmentar da retina (EPR) e alterações maculares; lesão em região macular sugestiva de má formação retiniana; epiteliopatia macular; desvios oculares/exotropia intermitente; estrabismo; microcalcificações em retina; papila com atrofia peripapilar hipoplasia e disco óptico com discreta palidez de papila. As alterações auditivas também foram detectadas em 11 (onze) ou 35,48% dos RN, sendo observados nos resultados dos exames níveis mínimos de respostas eletrofisiológicas, sugestivos de limiares auditivos por volta de 15/20dBNA com comprometimento bilateral, alteração coclear, perda auditiva de grau severo e lemniscolateral bilateralmente.

Outros achados clínicos foram detectados, saber: uma criança apresentou ausência da mão esquerda evidenciada desde a vida intrauterina; duas crianças com fenda

palatina e lábio leporino e com distúrbios de deglutição/disfagia; 4 (quatro) RN com alterações em órgãos genitais/criptoquidia; 16 (dezesseis) evoluíram com contraturas e crises convulsivas/epilepsia; um RN apresentou hipoplasia renal e pulmonar secundária a Síndrome de Potter; as malformações musculoesqueléticas com artrogripose de joelho e quadril foram detectadas em 4 (quatro) RN. A Figura 13 mostra o fenótipo e a evolução de uma criança que nasceu com hidrocefalia e artrogripose de quadril e joelho, entre outras sequelas neurológicas graves. A genitora apresentou sinais e sintomas (exantema, prurido intenso) no primeiro trimestre de gestação e exames sorológicos reagentes para ZIKV.

Figura 13: Painel evolutivo com fenótipo de uma criança com SCZ apresentando hidrocefalia ao nascer, contraturas e artrogripose de quadril, tornozelos e punhos com malformações de MMII e MMSS.



Fonte: Produzida pela autora (Foto autorizada)

Durante o acompanhamento, 4 (quatro) ou 12,90% das crianças evoluíram para óbito, sendo dois classificados como óbitos neonatais em crianças que nasceram com microcefalia, malformações musculoesqueléticas com artrogripose, e duas que apresentaram hidrocefalia entre outras alterações neurológicas graves do SNC e evoluíram para o óbito após o primeiro ano de vida.

Discussão

Neste estudo, 46,26% dos RN avaliados confirmaram a SCZ após a análise conjunta dos dados clínicos, imagens radiológicas e exames laboratoriais. Do total de casos confirmados, mais de 80,0% das gestantes apresentaram exantema durante a gestação, e mais de 50,0% ocorreram no primeiro trimestre gestacional.

Outros estudos encontraram resultados semelhantes, em que o maior risco de lesões cerebrais fetais decorrentes da infecção pelo ZIKV ocorreu, principalmente, no primeiro trimestre de gestação.

Segundo Eickmann, a microcefalia é sim um sinal de destruição ou comprometimento do desenvolvimento cerebral, e quanto mais precoce a infecção, mais graves serão os danos ao Sistema Nervoso Central. Isso pode causar múltiplas alterações cerebrais e uma maior incidência de deficiência intelectual, paralisia cerebral, epilepsia, dificuldade de deglutição, déficit ou perda auditiva e visual.

As calcificações cerebrais e a ventriculomegalia foram as lesões cerebrais mais frequentes observadas nos exames de neuroimagem no presente estudo. Esses resultados corroboram com outros estudos já descritos na literatura, nos quais as calcificações cerebrais (principalmente na junção da substância cortical-branca) e a ventriculomegalia (principalmente a colpocefalia), bem como a hipoplasia do cerebelo e proeminente protuberância do osso occipital^{31,32,33} foram os achados mais frequentes.

As sequelas decorrentes das lesões cerebrais em crianças com SCZ ainda não foram totalmente esclarecidas; no entanto, um estudo de seguimento de crianças com calcificações cerebrais decorrentes da infecção congênita pelo ZIKV mostrou a diminuição ou desaparecimento dessas lesões na maioria das crianças avaliadas. Contudo, não foi constatada a melhora clínica dos casos, mantendo o comprometimento neurológico grave, evoluindo com epilepsia e problemas de deglutição³².

A hidrocefalia foi observada em 6,45% dos RN avaliados, percentual de casos inferior ao observado em outro estudo, em que 40,5% das crianças desenvolveram hidrocefalia³². A fisiopatologia da hidrocefalia na SCZ ainda é desconhecida. Aragão e Soares apresentam a hipótese de que o dano ao sistema vascular cerebral, especialmente no componente venoso, leva à trombose venosa cerebral e hipertensão venosa cerebral durante o desenvolvimento intrauterino, que continua após o nascimento. Desta forma, a hipertensão venosa crônica poderia explicar as calcificações e a progressão da hidrocefalia^{32,33}.

O estudo de caso controle realizado em Pernambuco comprovou a associação entre a epidemia de microcefalia e a infecção congênita pelo vírus Zika. Esse mesmo estudo mostrou casos de SCZ sem microcefalia e alteração nos exames de imagem, e o risco de se descartarem os casos de microcefalia sem o

acompanhamento a longo prazo³⁴. Esses achados também foram detectados no presente estudo, haja vista que 07 (sete) crianças avaliadas, mesmo não apresentando a microcefalia nos exames de neuroimagem, evidenciaram alterações neurológicas do SNC cujos padrões das sequelas observadas eram compatíveis com SCZ.

As alterações oculares de retina e/ou de nervo óptico foram evidenciadas em 41,93% das crianças com SCZ. Resultados semelhantes foram observados em Salvador - BA, onde achados oculares foram relatados em 34,5% dos recém-nascidos afetados³⁵. Botelho e Ventura (2016) afirmam que a SCZ pode provocar diversas sequelas oftalmológicas, a exemplo da lesão macular e perimacular, atrofia coriorretiniana, assim como anormalidades do nervo óptico^{36,37}.

No estudo de Cunha (2017), 90% das crianças com microcefalia apresentaram anormalidades visuais, como cicatriz macular, perda da visão, déficit visual e estrabismo. Segundo Ventura, o ZIKV pode causar anormalidades oculares mais graves quando a infecção ocorre no primeiro ou segundo trimestre da gravidez, assim como observado em outras infecções congênitas. Além disso, outros fatores desconhecidos como a quantidade de circulação viral e a resposta imunológica da mãe e do feto podem desempenhar um papel importante nas anormalidades observadas nos recém-nascidos.

Os resultados observados nesse estudo reforçam a necessidade de acompanhamento dos casos, haja vista que 04 (quatro) RN que nasceram normocéfalos evoluíram com desaceleração do PC antes de completarem o primeiro ano de vida, confirmando a microcefalia tardia após o nascimento. Esses resultados chamam a atenção, pois poucos estudos mostraram o desenvolvimento anormal do cérebro em bebês que nasceram sem microcefalia³⁴.

Foram encontradas alterações auditivas em quase 35% das crianças com SCZ. Os resultados desse estudo se assemelham com os achados audiológicos encontrados por Santos (2016), que revelam um atraso do desenvolvimento das habilidades auditivas, sendo, portanto, necessário um monitoramento auditivo trimestral para os primeiros dois anos de vida, bem como estimulação auditiva precoce.

A artrogripose foi constatada em 6,45% dos casos, corroborando com os estudos de Cunha e Faccini (2016), que encontraram mais ou menos 10% de artrogripose³⁹. Alvino, Mello e Oliveira (2016) explicam que o mecanismo patológico

para esta alteração está relacionado à ausência de movimentos fetais (acinesia fetal) ocorrida pela desordem do SNC, devido ao neurotropismo do ZIKV, já comprovado por estudos de necropsia fetal com isolamento viral por reação em cadeia de Polimerase (PCR) em tecidos cerebrais^{39,40}.

Dos 31 (trinta e um) casos confirmados, apenas 3 (três) ou 9,67% foram diagnosticados por critério laboratorial através da biologia molecular, o que reflete a complexidade do diagnóstico etiológico do ZIKV diante da possibilidade de reação cruzada com outros flavivírus, a exemplo do vírus da dengue endêmico e cocirculante no município, além da dificuldade de acesso aos testes na ocasião do surto e da coleta tardia das amostras clínicas. Portanto, esta foi uma das limitações do estudo, que precisa ser considerada na interpretação dos seus achados.

Por tudo isso, a epidemia de SCZ no Brasil e todos os seus desdobramentos se caracterizaram como um dos mais graves problemas de saúde pública já enfrentados pela população brasileira nos últimos tempos, causando uma comoção nacional e ampla divulgação pelos meios de comunicação.

Conclusão

A avaliação conjunta dos resultados dos exames laboratoriais específicos para ZIKV, TORCHS e dos exames de neuroimagem observados neste estudo confirmaram a relação entre a infecção pelo ZIKV na gestação e a ocorrência da SCZ. As alterações musculoesqueléticas e neurológicas evidenciadas foram compatíveis com SCZ já reconhecidas em outros estudos. O exantema no primeiro trimestre de gestação foi referido pela maioria das genitoras cujos RN confirmaram a SCZ. A constatação de lesões cerebrais graves evidenciadas nos exames de imagem de crianças sem microcefalia e a detecção da desaceleração do PC após o nascimento evoluindo com microcefalia pós-natal reforça a necessidade do acompanhamento dos casos pela equipe de saúde para avaliação de possíveis danos neurológicas que podem surgir ao longo do tempo.

Referências:

- 1 CAMPOS, G. S.; BANDEIRA, A.C.; SARDI, S. I. *Zika Virus Outbreak, Bahia, Brazil. Emerg Infect Dis.* [Internet]. 21(10):1885-1886, 2015. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.3201/eid2110.150847>. Acesso em: 20 dez. 2015.
- 2 ZANLUCA, C.; CAMPOS, V. A. M.; MOSIMANN, A. L. P.; SANTOS, G. I. V.; SANTOS, C. N. D.; LUZ, K. et al. *First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro: 1- 4, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/0074-02760150192>. Acesso em: 13 abr. 2016
- 3 FARIA, N. R. et al. *Zika virus in the Americas: early epidemiological and genetic findings. Science*, v. 352, n. 6283, p. 345-349, 2016.
- 4 BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria GM nº 1.813, de 11 de novembro de 2015. Declara Emergência em Saúde Pública de importância Nacional (ESPIN) por alteração do padrão de ocorrência de microcefalias no Brasil. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília (DF), 2015; Seção 1:51.
- 5 WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Centers for Disease Control and Prevention (US). International Clearinghouse for Birth Defects Surveillance and Research. Birth defects surveillance: a manual for programme managers* [Internet]. Genebra: World Health Organization, 2014. 116 p. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/110223/1/9789241548724_eng.pdf?ua=1&ua. Acesso em: 28 jul. 2017.
- 6 DUFFY, M. R.; CHEN, T. H.; HANCOCK, W. T.; POWERS, A. M.; KOOL, J. L.; LANCIOTTI, R. S. et al. *Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. N Engl J Med.* [Internet], 2009. 360(24): 2536-2543. Disponível em: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa0805715>. Acesso em: 17 fev. 2016.
- 7 CAO-LORMEAU, V. M., ROCHE, C.; TEISSIER, A.; ROBIN, E.; BERRY, A.; MALLET, H. P. et al. *Zika virus, French Polynesia, South Pacific, 2013. Emerg. Infect. Dis.* [Internet]. 20 (6): 1085–1086, 2014. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.3201/eid2006.140138>. Acesso em: 18 fev. 2016.
- 8 IOOS, S.; MALLET, H. P.; GOFFART, I. L.; GAUTHIER, V.; CARDOSO, T.; HERIDA, M. *Current Zika virus epidemiology and recent epidemics. Med Mal Infect.* 44: 302-307, 2014.
- 9 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: 20929, 2014.
- 10 CAUCHEMEZ, S.; BESNARD, M.; BOMPARD, P. et al. *Association between Zika Virus and microcephaly in French Polynesia, 2013–2015: a retrospective study. Lancet.* [Internet]. 387(10033): 2125-2132, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5020190/>. Acesso em: 02 nov. 2017.

- 11 ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Doença do vírus Zika. **Geneva: World Health Organization**. [Internet], 2016. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/zika/pt/>. Acesso em: 04 set 2016.
- 12 MLAKAR, J.; KORVA, M.; TUL, N. et al. Vírus Zika associado à microcefalia. **N Engl J Med**. 374: 951-8, 2016. Disponível em: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1600651>. Acesso em: 10 mai. 2016
- 13 MELO, A. S. O.; MALINGER, G.; XIMENES, R.; SZEJNFELD, P. O.; ALVES SAMPAIO, S.; BISPO DE FILIPPIS, A. M. A infecção intrauterina do vírus Zika causa anormalidades cerebrais do feto e microcefalia: ponta do iceberg? **Ultrasound Obstet Gynecol**. 47 (1): 6-7, 2016. Disponível em: <https://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/uog.15831>. Acesso em: 11 de dez 2016.
14. BELL, T. M.; FIELD, E. J.; NARANG, H. K. Infecção por vírus Zika do sistema nervoso central de camundongos. **Arch Gesamte Virusforsch**. 35(1-2): 183-93, 1971. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF01249709#citeas>. Acesso em: 19 de jul. 2017.
15. TANG, H.; HAMMACK, C.; OGDEN, S. C. et al. *Zika Virus Infects Human Cortical Neural Progenitors and Attenuates Their Growth*. **Cell Stem Cell**. 18(5):587–590, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5299540/>. Acesso em: 04 mar. 2017.
- 16 BRASIL JR., P.; PEREIRA JR., J. P.; RAJA GABAGLIA, C. et al. *Zika Virus Infection in Pregnant Women in Rio de Janeiro*. **N Engl J Med**. 375:2321-2334, 2016. Disponível em: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1602412>. Acesso em: 13 de jul. 2016
- 17 OMS. *Assessment of infants with microcephaly in the context of Zika virus - Interim Guidance - 4 March 2016* [Internet]. **Genebra**, 2016. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204475/1/WHO_ZIKV_MOC_16.3_eng.pdf?ua=1. Acesso em: 20 jul. 2017.
- 18 BRASIL. Ministério da Saúde. **Orientações integradas de vigilância e atenção à saúde no âmbito da Emergência de Saúde Pública de Importância Nacional: procedimentos para o monitoramento das alterações no crescimento e desenvolvimento a partir da gestação até a primeira infância, relacionadas à infecção pelo vírus Zika e outras etiologias infecciosas dentro da capacidade operacional do SUS** [Internet] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, 2017. Disponível em: <https://www.saude.gov.br>. Acesso em: 20 mar. 2017
- 19 VILLAR, J.; CHEIKH, I. L.; VICTORA, C. G.; OHUMA, E. O.; BERTINO, E.; ALTMAN, D. G. et al. *International standards for newborn weight, length, and head circumference by gestational age and sex: the Newborn Cross-Sectional Study of the Intergrowth-21st Project*. **Lancet**. 384(9946): 857-68, 2014.
- 20 ASHWAL, S.; MICHELSON, D.; PLAWNER, L.; DOBYNS, W. B. Parâmetro de prática: avaliação da criança com microcefalia (revisão baseada em evidências): relatório do Subcomitê de Normas de Qualidade da Academia Americana de

Neurologia e do Comitê de Prática da Sociedade de Neurologia Infantil. **Neurologia**. 73: 88797, 2009. Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(14\)60932-6/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(14)60932-6/fulltext). Acesso em: 15 mar 2016.

21 PASSEMARD, S.; KAINDL, A. M.; VERLOES, A. **Microcephaly**. Elsevier BV Editor. Handbook of Clinical Neurology. (Parte I.). 111: 129-141, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52891-9.00013-0>. Acesso em: 20 set. 2017.

22 SELTZER, L. E.; PACIORKOWSKI, A. R. *Genetic disorders associated with postnatal microcephaly*. **Am J Med Genet**. 166: 140-155, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31400>. Acesso em: 28 jun. 2017

23 CENTRO EUROPEU DE PREVENÇÃO E CONTROLE DE DOENÇAS (ECDC). **Avaliação rápida dos riscos: microcefalia no Brasil potencialmente vinculada à epidemia do vírus Zika**. Estocolmo: ECDC, 2015. p. 1-12. Disponível em: <http://ecdc.europa.eu/pt/http://ecdc.europa.eu/pt/publications/Publications/zikamicrocephaly-Brazil-rapid-risk-assessment-Nov-2015>. Acesso em: 23 mar. 2017.

24 TETRO, J. A. **Zika and microcephaly: causation, correlation, or coincidence?** *Microbes Infect*, 2016. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1286457916000083>. Acesso em: 20 mar. 2016

25 ZARE MEHRJARDI, M.; KESHAVARZ, E.; PORETTI, A.; HAZIN, A. N. *Neuroimaging findings of Zika virus infection: a review article*. **Jpn J Radiol**. 34 (12): 765-770, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27714487>. Acesso em: 22 mar. 2016

26 ZARE MEHRJARDI, M.; PORETTI, A.; HUISMAN, T. A.; WERNER, H.; KESHAVARZ, E.; ARAUJO JÚNIOR, E. *Neuroimaging findings of congenital Zika virus infection: a pictorial essay*. **Jpn J Radiol**. 35(3): 89-94, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28074379>. Acesso em: 23 set. 2017

27 MOORE, C. A.; STAPLES, J. E.; DOBYNS, W. B. et al. *Characterizing the pattern of anomalies in congenital Zika syndrome for pediatric clinics*. **JAMA Pediatr**. 171: 288-295, 2017. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jamapediatrics/articleabstract/2579543>. Acesso em: 13 out. 2018.

28 IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Brasil, 2019.

29 GIOVANETTI, M.; GÓES DE JESUS, J.; LIMA, Maia M. de; JUNIOR, J. X.; CASTRO AMARANTE, M. F.; VIANA, P.; KHOURI BARRETO, F.; JUNIOR ALCÂNTARA, L. C. *Genetic evidence of Zika virus in mother's breast milk and body fluids of a newborn with severe congenital defects*. **Clinical Microbiology and Infection**, 24 (10), pp. 1111-1112, 2018.

30 EICKMANN, S.; CARVALHO, M.; RAMOS, R.; ROCHA, M.; LINDEN, V.; SILVA, P. Síndrome da infecção congênita pelo vírus Zika. **Cadernos de Saúde Pública**. 32(7). 2016.

- 31 HAZIN, A. N.; PORETTI, A.; DI CAVALCANTI SOUZA CRUZ, D. et al. *Microcephaly Epidemic Research Group*. Resultados tomográficos computadorizados na microcefalia associados ao vírus Zika. **N Engl J Med**. 359: 2193 – 5, 2016. Disponível em: DOI: 10.1056/NEJMc1603617pmid: 27050112. Acesso em:15 abr. 2016
- 32 ARAGÃO, M. F. V.; VAN DER LINDEN, V.; BRAINER-LIMA, A. M. et al. Características clínicas e neuroimagem (TC e MRI) descobertas em presumíveis casos de infecção congênita relacionada ao vírus Zika e microcefalia: estudo retrospectivo de séries de casos. **BMJ**. 359: i1901, 2016. Disponível em: DOI: 10.1136 / bmj.i1901 pmid: 27075009. Acesso em:16 set. 2016.
- 33, SZEJNFELD, P. Soares de Oliveira; LEVINE, D.; MELO, A. S. de O. et al. Anormalidades cerebrais congênitas e vírus Zika: o que o radiologista pode esperar ver de forma pré-natal e pós-natal. **Radiologia**. 359: 203 – 18, 2016. Disponível em: DOI: 10.1148/radiol.2016161584pmid:27552432. Acesso em:25 jul. 2016
34. ARAÚJO, Thalia Velho Barreto de et al. "Association between microcephaly, Zika virus infection, and other risk factors in Brazil: final report of a case-control study." **The Lancet infectious diseases**. 18.3:328-336, 2018.
- 35 FREITAS, Bruno de Paula et al. *Ocular findings in infants with microcephaly associated with presumed Zika virus congenital infection in Salvador, Brazil*. **JAMA ophthalmology**, v. 134, n. 5, p. 529-535, 2016.
- 36 VENTURA, Camila V. et al. *Ophthalmological findings in infants with microcephaly and presumable intra-uterus Zika virus infection*. **Arquivos brasileiros de oftalmologia**, v. 79, n. 1, p. 1-3, 2016.
- 37 VENTURA, Camila V. et al. "Risk factors associated with the ophthalmoscopic findings identified in infants with presumed Zika virus congenital infection." **JAMA ophthalmology**, 134.8: 912-918, 2016.
- 38 FACCINI, L. S.; RIBEIRO, E. M.; FEITOSA, I. M. L.; HOROVITZ, D. D. G.; CAVALCANTI, D. P.; PESSOA, A. et al. Possível associação entre a infecção pelo vírus Zika e a microcefalia – Brasil, 2015. **MorbidityandMortalityWeekly Report**. 65 (3), 2016.
- 39 ALVINO, C. M. I.; MELLO, L. R. M.; OLIVEIRA, J. A. M. M. Associação de Artrogripose em neonatos com microcefalia pelo Zika Vírus – série de casos. **Rev. Bras. Saúde Matern. Infant**.16: S89-S94, 2016.
40. VAN DER LINDEN, Vanessa et al. "Congenital Zika syndrome with arthrogryposis: retrospective case series study." **BMJ**. 354: i3899, 2016.

SUBPROJETO 1 – ARTIGO 3**ALTERAÇÕES OCULARES EM RECÉM-NASCIDOS COM SÍNDROME
CONGÊNITA DO ZIKA, BAHIA, BRASIL** (em processo de submissão)***OPHTHALMOLOGIC ALTERATIONS IN NEWBORNS WITH CONGENITAL ZIKA
SYNDROME, BAHIA, BRAZIL***

Maricelia Maia de Lima^{1,2}; Hermelino Oliveira Neto³; Lamylya Ferreira Figueiredo de Sá³; Breno Lima de Almeida⁴; Normeide Pedreira Santos^{1,2}; Leonora Leal³; Clewma Dantas Silva³; Jessica de Siqueira Bacelar³; Hélvia Maia de Lima Cerqueira¹; Erenilde Marques de Cerqueira¹; Marta Giovanetti^{5,6}; Isadora Cristina de Siqueira⁴; Luiz Carlos Junior Alcântara^{5,6}.

¹Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia, Brasil;

²Secretaria Municipal de Saúde de Feira de Santana, Bahia, Brasil;

³Hospital de Olhos de Feira de Santana, Bahia, Brasil;

⁴Laboratório de Patologia Experimental Instituto Gonçalo Moniz, Salvador, Bahia.

⁵Laboratório de Flavivírus, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil;

⁶Laboratório de Genética Celular e Molecular, ICB, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil;

Autora correspondente: Isadora Cristina de Siqueira: E-mail: isadora.siqueira@bahia.fiocruz.br. Endereço: Rua Waldemar Falcão, 121, Candeal, Salvador – BA, CEP: 40296-710, Telefone: (71) 3176- 2285.

Autora principal: Maricelia Maia de Lima. Endereço: Rua dos Agrônomos, 180, Residencial Clemis Maia, casa 10, Eucalipto. Telefone: (75) 99143 1420. E-mail: limapfa6@gmail.com.

Resumo

Uma epidemia de microcefalia associada ao vírus Zika (ZIKV) foi registrada no Brasil em 2015, atingindo principalmente os estados da Região Nordeste. A diversidade das alterações neurológicas, musculoesqueléticas, oftalmológicas, auditivas, entre outras, detectadas nos recém-nascidos (RN) levou o Ministério da Saúde a classificar os casos como Síndrome Congênita do Zika (SCZ). O objetivo do estudo

foi avaliar as alterações oculares nos RN com SCZ residentes em Feira de Santana - BA no período de 2015 a 2018. Foram selecionados 29 (vinte e nove) RN com SCZ confirmados por exames sorológicos e de biologia molecular e/ou através de exames de neuroimagens. Destes, 27 (vinte e sete), ou seja, 54 (cinquenta e quatro) olhos, realizaram avaliação oftalmológica com especialistas que constou de anamnese, ectoscopia, fundoscopia e retinografia para os casos com lesões retinianas. Foram realizadas entrevistas com as mães ou responsáveis, e se utilizou um formulário contendo as variáveis clínicas sociodemográficas e epidemiológicas. Dos 54 (cinquenta e quatro) olhos examinados, anormalidades oculares estavam presentes em 30 (trinta), ou 55,6% olhos de 16 (dezesesseis) RN e destes, 14 (catorze) ou 87,5% tinham lesões oculares bilaterais. As patologias oculares detectadas foram: catarata subcapsular posterior e cavidade vítrea anecoica em 4 (quatro) ou 13,3% dos olhos; alterações do epitélio pigmentar da retina (EPR) em 7 (sete) ou 23,3%; 4 (quatro) ou 13,3% olhos com alterações maculares; 2 (dois) ou 6,7% com lesão em região macular sugestiva de má formação retiniana; 2 (dois) ou 6,7% com epiteliopatia macular; 1 (um) ou 3,3% com desvio ocular/exotropia intermitente; 6 (seis) ou 20,0% olhos com estrabismo; 2 (dois) ou 6,7% olhos com inúmeras microcalcificações em retina e papila com atrofia peripapilar; e 2 (dois) ou 6,7% com hipoplasia e disco óptico com discreta palidez de papila. Esta investigação comprova a presença de lesões oculares em RN com SCZ, e destaca a necessidade do acompanhamento para se avaliar as sequelas e implementar o tratamento precoce, a fim de melhorar a qualidade de vida das crianças.

Palavras-chaves: Síndrome Congênita do Zika; alterações oculares, recém-nascidos.

Abstract

An outbreak of microcephaly associated with Zika virus (ZIKV) was reported in Brazil in 2015, mainly affecting the states of the northeast region. The diversity of neurological, musculoskeletal, ophthalmological, hearing and other alterations detected in newborns (NB) led the Ministry of Health to classify the cases as Congenital Zika Syndrome (SCZ). The aim of the study was to evaluate eye changes in SCZ-born infants living in Feira de Santana-Ba from 2015 to 2018. Twenty-nine SCZ-confirmed infants selected by serological and molecular biology and / or neuroimaging examinations were selected. Of these, 27 (54 eyes) underwent ophthalmologic evaluation with specialists consisting of anamnesis, ectoscopy, fundus and retinography for those with retinal lesions. Interviews were conducted with the mothers or guardians and a form containing the sociodemographic and epidemiological clinical variables was used. Of the 54 eyes examined, ocular abnormalities were present in 30 (55.6%) eyes of 16 newborns, 11 (68.7%) male and 5 (31.3%) female. Of the 16 newborns with ocular alterations, 14 (87.5%) had bilateral eye lesions and of this total 12 (75.0%) mothers reported rash during pregnancy, 11 (68.8%) in the first trimester. The ocular pathologies detected were: posterior subcapsular cataract and anechoic vitreous cavity in 4 (13.3%) eyes, retinal pigment epithelial alterations (RPE) in 7 (23.3%), 4 (13.3%) eyes with macular

alterations, 2 (6.7%) with lesion in the macular region suggestive of retinal malformation, 2 (6.7%) with macular epithelial disease, 1 (3.3%) with ocular deviation / intermittent exotropia, 6 (20, 0%) eyes with strabismus, 2 (6.7%) eyes with numerous retinal and papilla microcalcifications with peripapillary atrophy and 2 (6.7%) with hypoplasia and optic disc with slight papilla pallor. This research proves the presence of eye lesions in SCZ newborns, highlights the need for follow-up to assess the sequelae and implement early treatment in order to improve the quality of life of children.

Keywords: Congenital Zika Syndrome; eye changes; newborns.

Introdução

Em novembro de 2015 o Brasil registrou um aumento de casos de recém-nascidos (RN) com microcefalia, cujas genitoras relataram ter apresentado exantema durante a gestação. Os estados da Região Nordeste foram os mais atingidos, sobretudo o estado de Pernambuco, que foi o primeiro a alertar o Ministério da Saúde (MS) sobre uma possível relação entre a infecção pelo vírus Zika nas gestantes e o aumento de casos de crianças com microcefalia em curto período. A situação inesperada fez o MS declarar Emergência em Saúde Pública de Importância Nacional (ESPIN) e, em seguida, a Organização Mundial da Saúde (OMS) ampliou a classificação, considerando o evento como Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional (ESPII)^{1,2,3}.

Em abril de 2015, os estados da Bahia (BA)⁴ e o Rio Grande do Norte (RN)⁵ confirmaram a circulação autóctone do vírus Zika (ZIKV) no Brasil; no entanto, existem evidências epidemiológicas de que o vírus tenha entrado no país em 2013, durante grandes eventos esportivos, como a Copa da Confederações⁶.

O município de Feira de Santana - BA registrou os primeiros casos de Zika em março de 2015, totalizando 1.529 (mil, quinhentos e vinte e nove) casos prováveis no ano⁷. Contudo, o cenário de cocirculação de Dengue e Chikungunya na região e a semelhança clínica dessas arboviroses provavelmente provocaram a subnotificação dos casos. Em 2016, o município foi surpreendido com o aumento de casos de microcefalia, confirmando 19 (dezenove) casos novos⁷, números nunca registrados anteriormente na cidade.

Inicialmente, a infecção pelo ZIKV foi considerada por muitos como uma doença branda e autolimitada que cursava com exantema pruriginoso, febre baixa ou afebril e dores articulares⁸. No entanto, outros desfechos adversos graves, como a Síndrome de Guilliam Barré (SGB), abortos espontâneos, morte fetal, más formações congênitas incluindo a microcefalia, restrições do crescimento intrauterino (RCI) e manifestações oculares, entre outros, foram sendo associados à infecção pelo ZIKV ^{2,9}

Após a entrada do ZIKV no Brasil em um curto período, uma série de evidências científicas demonstraram a relação entre infecção por ZIKV na gestação e a ocorrência da SCZ, a exemplo da detecção do ZIKV em sangue e tecidos de um recém-nascido com microcefalia e outras malformações, que evoluiu para óbito no estado do Ceará¹⁰, bem como a identificação do ZIKV no líquido amniótico de duas gestantes com fetos microcefálicos e no líquido cefalorraquidiano de recém-nascidos microcefálicos no estado da Paraíba¹¹.

Diante da situação epidemiológica, o estado de Pernambuco realizou, em 2015 e 2016, um estudo de caso controle, cujos resultados comprovaram a relação causal entre ZIKV e a SCZ. Nesse estudo, 40% dos RN classificados como caso tiveram a confirmação laboratorial do ZIKV em amostras clínicas de sangue, enquanto nenhum dos controles foi positivo para ZIKV¹². Análises dos dados das epidemias de Zika ocorridas no Brasil e na Polinésia Francesa mostraram uma associação temporal e geográfica entre a infecção por ZIKV e o posterior aparecimento de bebês com microcefalia congênita e/ou outras alterações neurológicas do Sistema Nervoso Central (SNC)^{13, 14} reforçando ainda mais a relação entre os dois eventos.

A microcefalia não é uma doença em si, mas um sinal de destruição ou déficit de crescimento cerebral, em que a medida do Perímetro Cefálico (PC) é menor em tamanho em relação a outras crianças da mesma idade e sexo^{15,16}. As sequelas da microcefalia dependem de sua etiologia e da idade em que o evento ocorreu. No entanto, quanto mais precoce a infecção, mais graves são as anomalias do SNC^{15,16}.

Uma série de outras manifestações, incluindo problemas de deglutição, contraturas de membros, anormalidades auditivas e oculares também foram detectadas por neuroimagem entre neonatos com SCZ¹⁷. Os achados oculares chamam a atenção e estão presentes em até 70% dos lactantes com SCZ e incluem a catarata e o glaucoma congênito e, principalmente, alterações do segmento

posterior do olho¹⁸. A análise histológica dos olhos de fetos falecidos evidenciou alterações atróficas dentro do nervo óptico, perda do epitélio pigmentar da retina e presença de uma camada coroide fina¹⁸.

Portanto, a presença frequente de alterações oftalmológicas detectadas em crianças com SCZ chama atenção dos pesquisadores e profissionais de saúde. Um estudo realizado no Rio de Janeiro envolvendo 112 neonatos nascidos de mães infectadas pelo ZIKV evidenciou anormalidades importantes nos olhos em mais de 20% das crianças que apresentaram retinopatias e diminuição na acuidade visual. As manifestações oculares estavam associadas à falha no desenvolvimento das células ganglionares da retina que ocasionam de maneira indireta a hipoplasia do nervo óptico, manchas focais pigmentares da retina, cicatrizes coriorretinianas, atrofia do nervo óptico e microftalmia¹⁹. Nesse mesmo estudo, 41,7% dos bebês SCZ apresentavam anormalidades oculares como a primeira manifestação evidente da doença¹⁹.

Desta forma, as alterações oculares, apesar de já terem sido relatadas, ainda não são bem conhecidas, sendo necessário avaliar e documentar as sequelas oftálmicas observadas nas crianças com SCZ após o nascimento e a evolução destas complicações ao longo do tempo nas diferentes fases da vida dessas crianças. Portanto, o estudo teve como objetivo descrever as alterações oculares em recém-nascidos (RN) com Síndrome Congênita do Zika (SCZ) ocorridas no período de 2015 a 2018, em Feira de Santana – BA.

Materiais e Métodos

Foi realizado um estudo prospectivo com avaliação clínica e oftalmológica dos RN com SCZ acompanhados no Ambulatório de Infecções Congênitas (AIC) de Feira de Santana – BA, no período de 2015 a janeiro de 2018.

Foram selecionados para o estudo 31 (trinta e um) RN com SCZ confirmados previamente após a avaliação clínica, laboratorial e de exames de imagens (Tomografia Computadorizada de Crânio e Ultrassonografia Transfontanela) realizados por equipe multidisciplinar composta por infecto-pediatra e neuropediatra envolvidos no estudo.

Foram considerados casos confirmados de SCZ aqueles recém-nascidos com ou sem microcefalia cujo resultado laboratorial específico para ZIKV foi positivo em amostras clínicas do RN e/ou da mãe, bem como os que evidenciaram nos exames de neuroimagem lesões cerebrais do SNC com microcalcificações, ventriculomegalia, entre outras alterações compatíveis com SCZ, e que outras infecções congênitas para algumas das Toxoplasmose, Rubéola, Citomegalovírus, Herpes e Sífilis (TORCHS) tenham sido excluídas por meio de exames sorológicos e clínicos, conforme preconizado pelo MS²⁰.

A coleta das amostras clínicas de sangue dos RN e das mães específicas para o ZIKV e outras síndromes congênitas, como TORCHS (Toxoplasmose, Rubéola, Citomegalovírus, Herpes e Sífilis) foram realizadas durante o atendimento no AIC ou na própria residência das famílias, em horário previamente agendados. O processamento e a análise das amostras foram realizados pelo laboratório de referência em Saúde Pública da Bahia (LACEN-BA) e pelo laboratório da Fundação Gonçalo Muniz da Fiocruz, Salvador – BA.

Dos 31 (trinta e um) casos de SCZ selecionados, 02 (dois) evoluíram para óbito neonatal e 02 (dois) não compareceram para as avaliações clínicas, sendo excluídos da análise. Portanto, 27 (vinte e sete) casos de SCZ, totalizando 54 (cinquenta e quatro) olhos, realizaram a avaliação oftalmológica, a qual incluiu as consultas com equipe de especialistas que realizaram anamnese completa dos casos, exames clínicos como ectoscopia e exames oftalmológicos através da fundoscopia, utilizando o oftalmoscópio binocular indireto (OBI) para análise do nervo óptico e da mácula. Exames de mapeamento de retina e retinografia colorida foram realizados em ambos os olhos (direito e esquerdo) de todas as crianças para avaliação de possíveis anormalidades da retina e do nervo óptico.

Foi utilizado um formulário contendo variáveis clínicas, oftálmicas, sociodemográficas e laboratoriais relacionadas aos RN e às mães, cujos dados foram coletados durante o atendimento pela equipe de profissionais envolvidos no estudo.

A análise dos dados foi realizada a partir da estatística descritiva, sendo calculadas as frequências absolutas e relativas para todas as variáveis categóricas; e, para as variáveis numéricas, foi calculada a média, mediana, desvio padrão, mínimo e máximo. Os dados foram tabulados e analisados no software *Stata* versão 14.

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética e Pesquisa do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz - CPqGM/FIOCRUZ/BA, de acordo com a Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde (CNS) e aprovada sob o parecer número 1.100.349. Foi aplicado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), e todos os procedimentos só foram realizados após a assinatura e o consentimento das mães ou dos responsáveis legais.

Resultados

A avaliação oftalmológica foi realizada nos 54 (cinquenta e quatro) olhos dos 27 (vinte e sete) RN com SCZ; e do total de olhos examinados, 30 (trinta) ou 55,6% de 16 (dezesseis) RN apresentaram anormalidades oculares com deficiência visual de retina e/ou de nervo óptico e 2 (dois) olhos (7,40%) não evidenciaram alterações após a realização dos exames oftalmológicos. Dos 16 (dezesseis) RN com patologias oculares, 14 (catorze) ou 87,5% tinham lesões bilaterais.

Na Tabela 03, dos 16 (dezesseis) RN com alterações oculares, 15 (quinze) ou 93,8% das mães apresentaram exantema na gestação, sendo 11 (onze) ou 73,4% no primeiro trimestre gestacional; 2 (dois) ou 13,3% no segundo; e 2 (dois) ou 13,3% no terceiro. Entre os que confirmaram alguma patologia ocular, 10 (dez) ou 62,5% eram do sexo masculino e 6 (seis) ou 37,5% feminino; 12 (doze) ou 75,0% nasceram a termo e 4 (quatro) ou 25,0% pré-termo; e 11 (onze) ou 68,8% foram considerados com baixo peso. Quanto às medidas do PC, 14 (catorze) ou 87,5% tinham microcefalia, sendo 4 (quatro) ou 28,6% com medidas do PC ao nascer abaixo de - 2 desvio padrão em relação à idade gestacional e ao sexo e 10 (dez) ou 71,4% com -3 desvio padrão em relação à idade gestacional e ao sexo, caracterizando como microcefalia grave segundo os parâmetros da tabela InterGrowth. Dois RN (12,5%) sem microcefalia: um (6,25%) confirmou a hidrocefalia e o outro (6,25%) apresentou microcalcificações e ventriculomegalia nos exames de imagem. As medidas da circunferência craniana ao nascer dos RN com alterações oculares variaram de 25 (vinte e cinco) cm a 33 (trinta e três) cm.

Tabela 03: Características clínicas maternas e dos RN com SCZ e com alterações oculares, Feira de Santana-BA, 2015 a 2018

Variáveis mães e RN com alterações oculares	n=16	%
RN		
Masculino	10	62,5
Feminino	6	37,5
PC ao nascer X idade/sexo		
Com microcefalia	14	87,5
Sem microcefalia	2	12,5
RN X idade gestacional		
A termo	12	75,0
Pré-termo	4	25,0
Peso ao nascer		
Baixo peso (<2500g)	4	25,0
Peso insuficiente (2.500g a 2.999g)	7	43,7
Peso adequado (3.000g a 3.999g)	5	31,3
Exames de neuroimagem		
Com alterações	16	100,00
Sem alterações	-	-
Alterações cerebrais nos exames de imagem		
Calcificações/ventriculomegalia cerebral	11	68,8
Atrofia cerebral/encefálica difusa	3	18,8
Encefalomalacia cística	1	6,3
Hidrocefalia	1	6,3
Exantema na gestação		
Sim	15	93,7
Não	1	6,25
Trimestre do início do exantema (n=15)		
1º trimestre	11	73,4
2º trimestre	2	13,3
3º trimestre	2	13,3

Todas os RN com alterações oculares (n=16) apresentaram lesões neurológicas do SNC nos exames de neuroimagem compatíveis com SCZ, o que inclui 11 (onze) ou 68,75% RN com calcificações/microcalcificações do parênquima

cerebral e/ou ventriculomegalia, 3 (três) ou 18,8% com atrofia cerebral/encefálica difusa, 1 (um) ou 6,25% com encefalomalacia cística e 1 (um) ou 6,25% com hidrocefalia. Entre os RN com lesões oculares 13 (treze) ou 81,3% confirmaram o ZIKV em amostras clínicas de sangue maternas e/ou do RN através dos exames sorológicos ou de biologia molecular positivas para o ZIKV.

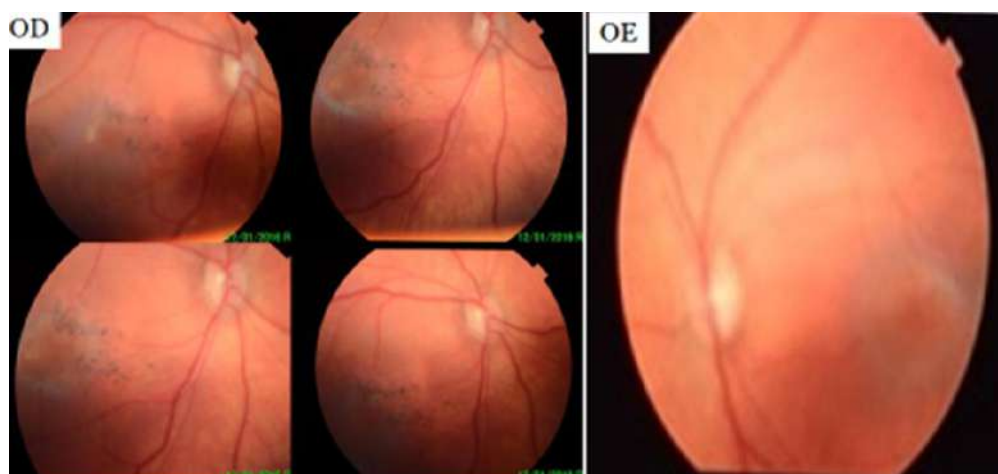
As alterações oftalmológicas mais prevalentes foram as alterações retinianas e o estrabismo. A Tabela 04 mostra que dos 16 (dezesesseis) RN, 32 (trinta e dois) olhos, 30 (trinta) ou 93,8% olhos apresentaram anormalidades, sendo 4 (quatro) ou 13,3% olhos com catarata subcapsular posterior e cavidade vítrea anecoica, 7 (sete) ou 23,3% olhos com alterações do epitélio pigmentar da retina (EPR), 4 (quatro) ou 13,3% com alterações maculares, 2 (dois) ou 6,7% com lesão em região macular sugestiva de má formação retiniana, 2 (dois) ou 6,7% olhos com epiteliopatia macular, 1 (um) ou 3,3% olho com desvio ocular/exotropia intermitente, 6 (seis) ou 20,0% com estrabismo, 2 (dois) ou 6,7% com inúmeras microcalcificações em retina e papila com atrofia peripapilar e 2 (dois) ou 6,7% olhos com hipoplasia de disco óptico com discreta palidez de papila.

Tabela 04: Achados fundoscópicos em crianças com SCZ, Feira de Santana, 2015 a 2018

Alterações oculares	n=54 olhos	%
Alterações do Epitélio Pigmentar da Retina (EPR)	7	23,3
Alterações maculares	4	13,3
Lesão macular hipocrômica	1	3,3
Hipoplasia de disco óptico com palidez de papila	1	3,3
Epiteliopatia macular	2	6,7
Lesão em região macular e má formação retiniana	2	6,7
Catarata subcapsular posterior e cavidade vítrea anecoica	4	13,3
Estrabismo	6	20,0
Microcalcificações em retina/atrofia peripapilar	2	6,7
Olho com desvio ocular/exotropia intermitente,	1	3,3
Olhos sem alterações	24	44,5
Total	54	100

As imagens documentadas nas Figuras 14, 15, 16 e 17 evidenciam inúmeras patologias oculares detectadas após a avaliação oftalmológica realizadas nos RN.

Figura 14: RN com Atrofia do Epitélio Pigmentar da Retina (EPR) e alteração do Pigmento em Papila (PP) na macula do olho direito (OD) e olho esquerdo (OE) com mobilização de pigmentos



Fonte: Produzido pela autora

Figura 15: RN com alteração difusa do Epitélio Pigmentar da Retina (EPR) e Lesão Hiperocrômica em mácula



Fonte: Produzido pela autora

Figura 16: RN com olho direito (OD) normal e olho esquerdo (OE) com lesão macular hipocrômica de 2-3 diâmetros de disco. Grave atrofia neuroretiniana em mácula



Fonte: Produzido pela autora

Figura 17: RN com olho direito (OD) e olho esquerdo (OE) com Alteração do Pigmento em Região de Mácula



Fonte: Produzido pela autora

Discussão

Este estudo sobre as alterações oculares em RN com SCZ encontrou anormalidades oftalmológicas em 59,3% dos RN avaliados. Os principais achados

oftalmológicos incluíram alterações na função muscular dos olhos (estrabismo), do cristalino (catarata) e da retina (com atrofia do epitélio pigmentar da retina, epiteliopatia macular, microcalcificações em retina, hipoplasia e disco com discreta palidez), evidenciando um percentual elevado e uma diversidade de anormalidades oculares superiores aos resultados observados em estudos anteriores.

Um estudo semelhante realizado em Salvador – BA, evidenciou achados oculares similares em 34,5% dos recém-nascidos afetados, sendo constatada a presença de mancha de pigmentação macular e atrofia neuroretiniana com envolvimento macular, coloboma da íris e alterações na vascularização da retina nos olhos dos bebês avaliados²¹. Portanto, é necessária a garantia da avaliação visual rigorosa para todas as crianças, cujas genitoras apresentaram sinais e sintomas suspeitos de infecção pelo ZIKV na gestação para que se possa iniciar o mais precocemente possível a avaliação ocular e o tratamento dessas crianças.

Em Recife – PE, também foram relatados três casos de crianças com infecção intrauterina pelo ZIKV que apresentaram anormalidades visuais com presença de pigmento macular macroscópico e atrofia coriorretiniana macular após os exames de fundoscopia dos olhos²². Outros estudos mostraram alterações no nervo óptico, como hipoplasia, palidez e aumento da escavação do disco óptico^{23,24,25,26}. Portanto, o elenco de patologias oculares relacionadas aos casos de SCZ chamam a atenção e estão presentes em até 70% dos lactantes com SCZ e incluem catarata, glaucoma congênito e, principalmente, alterações do segmento posterior do olho¹⁸.

No norte do Brasil, um estudo envolvendo três neonatos de mães que tiveram a infecção confirmada por ZIKV no primeiro trimestre da gravidez mostrou a presença de hemorragias subretinianas e tortuosidades nos exames oftalmológicos realizados²⁶.

Portanto, os nossos achados coadunam com os estudos anteriores que mostraram uma maior ocorrência de alterações oculares em RN, cujas gestantes foram infectadas pelo ZIKV nos primeiros meses da gravidez. No presente estudo, 73,4% das mães dos RN com SCZ e com anormalidades oculares apresentaram exantema no primeiro trimestre gestacional, período inicial do processo de formação embrionário fetal, quando aumentam os riscos de malformações congênitas e momento em que se observou uma maior ocorrência de patologias oculares nas crianças acometidas.

Num outro estudo realizado durante o surto no Brasil, 88 (oitenta e oito) mulheres grávidas com *rash* cutâneo foram testadas para RNA do ZIKV. Destas, 72 (setenta e duas) tiveram testes positivos, 42 (quarenta e duas) realizaram ultrassonografia e em 12 (doze) ou 29% foram observadas anormalidades fetais. As 16 (dezesesseis) grávidas com testes negativos não apresentaram anormalidades ao estudo ultrassonográfico²⁷. Portanto, uma maior frequência de anormalidades fora detectada por ultrassonografia em mulheres grávidas com infecção pelo vírus Zika em comparação com as que não possuem anormalidades.

As alterações oculares em crianças com SCZ parecem ser mais significativos do que em adultos infectados, os quais geralmente apresentam manifestações leves, como conjuntivite não purulenta, embora possa estar relacionada a uveíte, maculopatia e iridociclite hipertensiva ²⁸.

Um estudo realizado com pacientes que apresentaram infecção recente ou com presença de sintomas neurológicos decorrentes do ZIKV, mostrou que esses pacientes podem não só apresentar defeitos retiniais externos, como também apresentar defeitos que envolvem a vasculatura interna da retina²⁸ e, com isso, desenvolver alterações visuais que possam evoluir com perda parcial ou total da visão, a depender da região afetada, bem como apresentar diminuição da acuidade visual²⁶. Portanto, é necessário o acompanhamento desses pacientes com a realização de exames de fundo de olho para acompanhamento do estado clínico e evitar o agravamento das lesões.

A diversidade de anormalidades oftalmológicas, neurológicas, musculoesqueléticas e auditivas detectadas em RN vítimas da infecção congênita pelo ZIKV já detectadas em outros estudos e as possíveis alterações que poderão surgir ao longo do tempo fez o MS adotar o termo “Síndrome Congênita do Zika^{20,29} para se referir aos casos. Estes certamente necessitarão de equipes multidisciplinares e da garantia do acesso aos serviços de saúde nas diversas especialidades, incluindo nesse elenco o direito a tecnologias e tratamentos que possam minimizar as sequelas oftalmológicas provocadas pela infecção congênita decorrente do ZIKV.

No presente estudo, a confirmação laboratorial dos casos só foi possível em 40,6% dos RN investigados, o que reflete a dificuldade de acesso aos exames e a complexidade do diagnóstico etiológico do ZIKV. Portanto, a vigilância efetiva dos casos de doença exantemática em gestantes, a partir dos sintomas iniciais até o

parto, pode contribuir para o diagnóstico etiológico da SCZ, bem como para a identificação e o tratamento precoce das sequelas neurológicas, incluindo as lesões oculares que possam acometer as crianças com SCZ.

Conclusão

Esta investigação identificou inúmeras alterações oculares em RN com SZC. As patologias oculares predominantes incluíram lesões retinianas e do nervo óptico. A maioria das crianças com sequelas oculares era microcefálica; no entanto, anormalidades visuais foram detectadas em dois RN normocéfálicos que apresentaram lesões cerebrais nos exames de imagem. As sequelas oculares observadas mostram a necessidade do acompanhamento a longo prazo para se avaliar a evolução das lesões após o nascimento, minimizar o impacto e melhorar a qualidade de vida das crianças. Dentre as ações a serem implementadas, deve-se incluir um exame oftalmológico abrangente com avaliação da integralidade anatômica e funcional da visão, bem como a garantia de acesso às tecnologias de estímulo precoce e reabilitação visual para essas crianças na rede pública de saúde.

Referências:

- 1 BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria GM nº 1.813, de 11 de novembro de 2015. Declara Emergência em Saúde Pública de importância Nacional (ESPIN) por alteração do padrão de ocorrência de microcefalias no Brasil. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília** (DF), 2015; Seção 1:51. Disponível em: <https://www.saude.gov.br>. Acesso em: 22 nov. 2016.
- 2 WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Centers for Disease Control and Prevention (US). International Clearinghouse for Birth Defects Surveillance and Research. Birth defects surveillance: a manual for programme managers* [Internet]. Genebra: World Health Organization, 2014. 116 p. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/110223/1/9789241548724_eng.pdf?ua=1&ua. Acesso em: 23 set. 2017.
- 3 ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Doença do vírus Zika. **Geneva: World Health Organization**. [Internet], 2016. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/zika/pt/>. Acesso em: 22 set 2016.
- 4 CAMPOS, G. S.; BANDEIRA, A.C.; SARDI, S. I. Zika Virus Outbreak, Bahia, Brazil. **Emerg Infect Dis**. [Internet]. 21(10):1885-1886, 2015. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.3201/eid2110.150847>. Acesso em: 9 dez. 2015.

- 5 ZANLUCA, C.; CAMPOS, V. A. M.; MOSIMANN, A. L. P.; SANTOS, G. I. V.; SANTOS, C. N. D.; LUZ, K. et al. *First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro: 1- 4, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/0074-02760150192>. Acesso em: 20 set. 2016
- 6 FARIA, N. R. et al. *Zika virus in the Americas: early epidemiological and genetic findings*. **Science**, v. 352, n. 6283, p. 345-349, 2016.
- 7 FEIRA DE SANTANA. **Boletim Epidemiológico**. Secretaria Municipal de Saúde de Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2016.
- 8 DUFFY, M. R.; CHEN, T. H.; HANCOCK, W. T. et al. Surto do vírus da Zika na ilha de Yap, Estados Federados da Micronésia. **N Engl J Med**. 360: 2536-43, 2009. Acesso em: 22 ago. 2016.
- 9 CARABALI, Mabel; AUSTIN, Nichole; KING, Nicholas B.; KAUFMAN, Jay S. *The Zika epidemic and abortion in Latin America: a scoping review*. **Global Health Research and Policy**, v. 3, n. 1, p. 15, 3 dez. 2018.
- 10 MLAKAR, J.; KORVA, M.; TUL, N. et al. Vírus Zika associado à microcefalia. **N Engl J Med**. 374: 951-8, 2016. Disponível em: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1600651>. Acesso em: 23 ago. 2017.
- 11 MELO, A. S. O.; MALINGER, G.; XIMENES, R.; SZEJNFELD, P. O.; ALVES SAMPAIO, S.; BISPO DE FILIPPIS, A. M. A infecção intrauterina do vírus Zika causa anormalidades cerebrais do feto e microcefalia: ponta do iceberg? **Ultrasound Obstet Gynecol**. 47 (1): 6-7, 2016. Disponível em: <https://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/uog.15831>. Acesso em: 21 set. 2017
- 12 VELHO, T.; ARAÚJO, B. de; RODRIGUES, L. C.; ARRAES, R.; XIMENES, D. A.; MIRANDA-FILHO, D. D. B. Associação entre infecção pelo Zika vírus e microcefalia no Brasil, de janeiro a maio de 2016: relato preliminar de um estudo caso-controle. 1356-63. 16 de dezembro de 2016.
- 13 OLIVEIRA, W. K.; CORTEZ-ESCALANTE, J.; OLIVEIRA, W. T. G. H. et al. *Increase in reported prevalence of microcephaly in infants born to women living in areas with confirmed Zika virus transmission during the first trimester of pregnancy- Brazil, 2015*. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**. 65:242-7, 2016.
- 14 CAUCHEMEZ, S.; BESNARD, M.; BOMPARD, P. et al. *Association between Zika Virus and microcephaly in French Polynesia, 2013–2015: a retrospective study*. **Lancet**. [Internet]. 387(10033): 2125-2132, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5020190/>. Acesso em: 12 nov. 2017.
- 15 VENTURA, C. V.; MAIA, M.; BRAVO-FILHO, V.; GÓIS, A. L.; BELFORT JR., R. Zika vírus no Brasil e atrofia macular em criança com microcefalia. **Lanceta**. 387 (10015): 228, 2015.

- 16 EICKMANN, S.; CARVALHO, M.; RAMOS, R.; ROCHA, M.; LINDEN, V.; SILVA, P. Síndrome da infecção congênita pelo vírus Zika. **Cadernos de Saúde Pública**. 32(7). 2016.
- 17 MOORE, C. A.; STAPLES, J. E.; DOBYNS, W. B. et al. *Characterizing the pattern of anomalies in congenital Zika syndrome for pediatric clinics*. **JAMA Pediatr**. 171: 288-295, 2017. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jamapediatrics/articleabstract/2579543>. Acesso em: 23 mar 2018.
- 18 OLIVEIRA, João Rafael Dias et al. "Infants with congenital Zika syndrome and ocular findings from São Paulo, Brazil: spread of infection." **Retinal Cases and Brief Reports** 12.4 (2018): 382-386.
- 19 HALAI, U. A.; NIELSEN-SAINES, K.; MOREIRA, M. L.; SEQUEIRA, P. C. de; JUNIOR, J. P. P.; ARAUJO, A. Zin de et al. *Maternal Zika virus disease severity, virus load, prior dengue antibodies, and their relationship to birth outcomes*. **Clinical Infectious Diseases**, 65(6), 877-883, 2017.
- 20 BRASIL. Ministério da Saúde. **Orientações integradas de vigilância e atenção à saúde no âmbito da Emergência de Saúde Pública de Importância Nacional: procedimentos para o monitoramento das alterações no crescimento e desenvolvimento a partir da gestação até a primeira infância, relacionadas à infecção pelo vírus Zika e outras etiologias infecciosas dentro da capacidade operacional do SUS** [Internet] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, 2017. Disponível em: <https://www.saude.gov.br>. Acesso em: 13 dez.2018
- 21 FREITAS, Bruno de Paula et al. *Ocular findings in infants with microcephaly associated with presumed Zika virus congenital infection in Salvador, Brazil*. **JAMA ophthalmology**, v. 134, n. 5, p. 529-535, 2016.
- 22 NUNES, M. L.; CARLINI, C. R.; MARINOWIC, D.; KALIL NETO, F.; FIORI, H. H.; SCOTTA, M. C. et al. Microcefalia e vírus Zika: uma análise clínica e epidemiológica do atual surto no Brasil. **J. Pediatr. (Rio J)**. 92 (3): 230-40, 2016.
- 23 MUSSO, D. Transmissão do vírus Zika da Polinésia Francesa para o Brasil. **Emerg Infect Dis**. 21 (10): 1887, 2015.
- 24 DIAS, J. R. O.; VENTURA, C. V.; FREITAS, B. P.; PRAZERES, J.; VENTURA, L. O.; BRAVO-FILHO, V. et al. Anormalidades oculares na síndrome congênita do Zika: os achados oftalmoscópicos são "o topo do iceberg"? **Prog. Retin. Eye Res**. 2018. Disponível em: DOI: 10.1016/j.preteyeres.2018.04.004.
- 25 VAN DER LINDEN, V.; PESSOA, A.; DOBYNS, W.; BARKOVICH, A. J.; VAN DER LINDEN JÚNIOR, H.; ROLIM FILHO, E. L. et al. Descrição de 13 bebês nascidos entre outubro de 2015 e janeiro de 2016 com infecção congênita pelo Zika vírus sem microcefalia ao nascimento - Brasil. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**. 65(47): 1343-8, 2016.

26 MIRANDA, Homero Augusto de et al. *Expanded Spectrum of Congenital Ocular Findings in Microcephaly with Presumed Zika Infection*. **Ophthalmology**, v. 123, n. 8, p. 1788–1794, ago. 2016.

27 BRASIL, P.; PEREIRA JR., J. P.; MOREIRA, M. E. et al. *Zika virus infection in pregnant women in Rio de Janeiro*. **N Engl J Med**. 375:2321-34, 2016.

28 SINGH, M.; MARQUEZAN, M. C.; OMIADZE, R.; REDDY, A.; BELFORT, R.; MAY, W. Vasculopatia retiniana interna na doença do vírus Zika. **American Journal of Ophthalmology Case Reports**, 10, 6-7, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ajoc.2018.01.023>. Acesso em: 22 dez 2018.

29 COSTA, F.; SARNO, M.; KHOURI, R. et al. *Emergence of congenital Zika syndrome: viewpoint from the front lines*. **Ann Intern Med** 37 2016.

SUBPROJETO 1 – ARTIGO 4

GIOVANETTI, Marta; JESUS, Jaqueline; **MAIA, Maricelia**; ALCANTARA, Luiz Carlos Junior, et al. *Genetic evidence of zika virus in mother's breast milk and body fluids of a new-born with congenital defects*. **Elsevier**. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.06.008>.



Letter to the Editor

Genetic evidence of Zika virus in mother's breast milk and body fluids of a newborn with severe congenital defects

On the basis of the upsurge in the number of newborns with neurologic disorders in the northeast, in November 2015 the Brazilian Ministry of Health declared a public health emergency of national concern [1]. On the basis of evidence for a potential association between microcephaly and other neurologic disorders and Zika virus (ZIKV) infection, the World Health Organization declared a public health emergency of international concern on 1 February 2016 [1]. Here we report genetic evidence of ZIKV RNA in the mother's breast milk and in the serum and urine of a newborn with severe congenital defects.

The institutional review boards at the Instituto Gonçalo Moniz (Fiocruz-Bahia) approved the present study, and the subject provided written and informed consent before her participation.

A 32-year-old pregnant woman from the municipality of Feira de Santana (Bahia, Brazil) reported diffuse pruritic cutaneous rash and joint pain during the ninth gestational week. Serologic tests for toxoplasmosis, herpesvirus 1 and 2, dengue and chikungunya viruses were negative. Immunoglobulin G ELISA was positive and immunoglobulin M ELISA was negative for rubella and cytomegalovirus.

During her 22nd gestational week, morphologic ultrasound revealed alterations in the fetus' left hand, confirmed at week 23 via ultrasound and supported after birth by X-ray (Fig. 1 (A) and (B)).

At week 30, fetal biometry appeared to be consistent with gestational age, with the exception of a reduced cephalic circumference, indicating microcephaly. Delivery was performed by C-

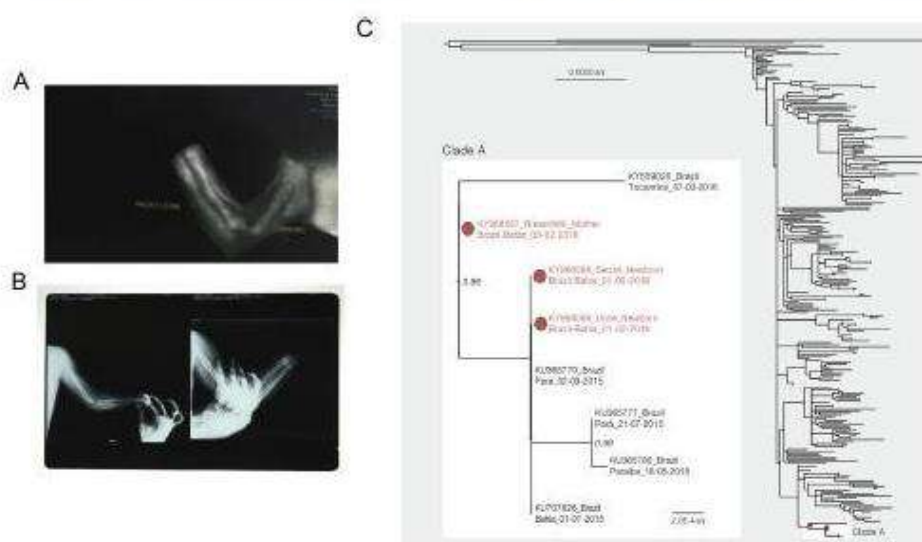


Fig. 1. (A, B) Clinical evaluation of congenital abnormalities. (A) Fetal ultrasound performed during 23rd gestational week revealed morphologic alteration in left hand of fetus. (B) X-ray evaluation performed after second year of birth confirmed defect of left upper limb. (C) Phylogenetic analysis of a newborn with congenital defects. Maximum likelihood phylogeny of NS5 sequences. Phylogeny was estimated using PhyML. Data set used contained new sequences recovered from mother's breast milk and from serum and urine of newborn, in addition to 254 publicly available complete genome sequences of Zika virus Asian genotype sampled in South America, Asia, Europe, Caribbean, North America and Pacific Islands. Sequences obtained from present study subjects are highlighted in red. Scale bar is in units of nucleotide substitutions per site. Inset shows close-up view of clade A containing newly isolated strains from Feira de Santana, Bahia (February 2016).

<https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.06.008>

1198-743X/© 2018 European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

section in the 38th gestational week, at which time the mother's blood and a fragment of placenta were collected. A male neonate was born with a weight of 2502 g and a head circumference of 29 cm, classified as severe microcephaly by Intergrowth-21st standard (Z-score = -3.54/[-2]). Craniofacial disproportion, abnormal skull morphology with a sloping forehead and a defect of the left upper limb with ring constriction and residual nubbins were observed, indicating the presence of a possible amniotic band syndrome lesion (Fig. 1(A) and (B)).

Samples of the newborn's blood and urine were collected in the first 24 hours of birth, and breast milk was collected 2 days after delivery. Virus RNA was extracted from clinical samples and submitted to real-time quantitative PCR as a reference [3]. Although the placenta sample was positive with a threshold cycle of 33.0, the low virus loads in other samples prevented virus detection by real-time quantitative PCR. A specific set of primers corresponding to the NS5 gene were then designed for conventional nested PCR (Supplementary Material), obtaining ZIKV-specific reverse transcriptase PCR amplification products from newborn serum and urine and the mother's breast milk, while the mother's serum yielded no detectable products. NS5 gene fragments (426 bp) were then obtained using Sanger sequencing. The ZIKV sequences generated from the mother's breast milk and newborn urine and serum were deposited in GenBank under accession numbers KY968096, KY968098 and KY968097, respectively. Although genetic data alone cannot provide definitive evidence of direct vertical transmission, phylogenetic analysis indicated that the sequences generated from the mother's and newborn's body fluids clustered together with strong support (bootstrap support = 0.86, Fig. 1(C)). As expected, maximum likelihood analysis of the present and the other reference ZIKV genome sequences revealed that all belong to the Asian genotype.

Other authors have already described ZIKV in the breast milk of mothers of neonates born without microcephaly [4,5]. Here we report the presence of ZIKV both in the mother's breast milk and in the serum and urine of a newborn with congenital defects.

Transparency declaration

Supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (APES). All authors report no conflicts of interest relevant to this article.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data related to this article can be found at <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.06.008>.

References

- [1] de Oliveira WK, Araújo de França GV, Carmo EH, Duncan BB, de Souza Kuchenbecker R, Schmidt M. Infection-related microcephaly after the 2015 and 2016 Zika virus outbreak in Brazil: a surveillance-based analysis. *The Lancet* 2017;390:861–70.
- [2] Villar J, Choeckh Ismail L, Victora CG, Ohuma EO, Bertino E, Altman DG, et al. International standards for newborn weight, length, and head circumference by gestational age and sex: the newborn cross-sectional study of the INTERGROWTH-21st project. *Lancet* 2014;384:857–68.
- [3] Landrotti RS, Kosoy OL, Laven J, Velez JO, Lambert AJ, Johnson AJ, et al. Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia. *Emerg Infect Dis* 2007;2008:1232–9.
- [4] Sotelo JR, Sotelo AB, Sotelo FJ, Doi AM, Pinho JRR, Oliveira RC, et al. Persistence of Zika virus in breast milk after infection in late stage of pregnancy. *Emerg Infect Dis* 2017;23:856–7.
- [5] Dupont-Rouzeyrol M, Biron L, O'Connor O, Hugon E, Descloux E. Infectious Zika viral particles in breast milk. *Lancet* 2016;12:387–10023.

M. Giovanetti[†]
Laboratório de Patologia Experimental Instituto Gonçalo Moniz
Salvador, Salvador, Bahia, Brazil

Laboratório de Flavivírus, Instituto Oswaldo Cruz Fiocruz, Rio de Janeiro, Brazil

J. Goes de Jesus[†]
Laboratório de Patologia Experimental Instituto Gonçalo Moniz
Salvador, Salvador, Bahia, Brazil

M. Lima de Maia[†]
Universidade Estadual de Feira de Santana, Salvador, Bahia, Brazil
Secretaria de Saúde de Feira de Santana, Feira de Santana, Salvador, Bahia, Brazil

JX. Junior[†], M.F. Castro Amarante, P. Viana, F. Khouri Barreto
Laboratório de Patologia Experimental Instituto Gonçalo Moniz
Salvador, Salvador, Bahia, Brazil

E.M. de Cerqueira
Universidade Estadual de Feira de Santana, Salvador, Bahia, Brazil
N. Pedreira Santos, M. Barreto Falcão, M.C. Machado Costa
Secretaria de Saúde de Feira de Santana, Feira de Santana, Salvador, Bahia, Brazil

A.V. Barros Faical
Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brazil

A.L. Andrade de Melo
Secretaria de Saúde de Feira de Santana, Feira de Santana, Salvador, Bahia, Brazil

L. Santos Amorim, L.C. de Siqueira
Laboratório de Patologia Experimental Instituto Gonçalo Moniz
Salvador, Salvador, Bahia, Brazil

D.L. Macarenhas
Secretaria de Saúde de Feira de Santana, Feira de Santana, Salvador, Bahia, Brazil

A.M. Bispo de Filippis
Laboratório de Flavivírus, Instituto Oswaldo Cruz Fiocruz, Rio de Janeiro, Brazil

N. Rodrigues Faria
Department of Zoology, University of Oxford, Oxford, UK

A. Xavier Acosta
Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brazil

L.C. Júnior Alcântara^{*}
Laboratório de Patologia Experimental Instituto Gonçalo Moniz
Salvador, Salvador, Bahia, Brazil
Laboratório de Flavivírus, Instituto Oswaldo Cruz Fiocruz, Rio de Janeiro, Brazil

^{*} Corresponding author: L.C. Júnior Alcântara, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Brazil.
E-mail address: lalcant@bahia.fiocruz.br (L.C. Júnior Alcântara).

4 May 2018
Available online 12 June 2018

Editor: L. Leibovici

[†] The first four authors contributed equally to this article, and all should be considered first author.

SUBPROJETO 1 – ARTIGO 5

MAIA, Maricelia; OLIVEIRA, Fernanda; ARAÚJO, Tamila; PEDREIRA, Normeide; CERQUEIRA, Erenilde; ALCÂNTARA, Luiz. **Desigualdades sociais no contexto da Síndrome Congênita do Zika**. Submetido ao periódico Cadernos de Saúde Pública.

Cadernos Saúde Coletiva

Cadernos Saúde Coletiva

Desigualdades sociais no contexto da Síndrome Congênita do Zika

Journal:	Cadernos Saúde Coletiva
Manuscript ID:	CADSC-2020-0038
Manuscript Type:	Original article
Keyword = Go to DOI to find your keywords.	Zika virus, desigualdade social, condições de vida

SCHOLARONE[®]
Manuscripts

<https://mc.manuscriptcentral.com/cadsc-scielo>

INTRODUÇÃO

Em 2015 o Brasil registrou uma epidemia de Zika e em outubro do mesmo ano o país foi surpreendido com o aumento dos casos de microcefalia em recém-nascidos (RN), cujas mães referiram uma doença exantemática durante a gestação¹. Diante deste cenário, em um curto período de tempo foram confirmadas as primeiras evidências científicas desta associação^{2,3,4} que para além da microcefalia, revelaram um conjunto de alterações congênitas caracterizando a Síndrome Congênita do Zika (SCZ)⁵.

O estado de Pernambuco (epicentro da epidemia de microcefalia) foi o mais atingido e o primeiro a emitir o alerta para o Ministério da Saúde (MS) que declarou situação de Emergência em Saúde Pública de Importância Nacional (ESPIN)⁶ e logo em seguida a Organização Mundial da Saúde (OMS) classificou o evento como Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional (ESPII)⁷.

Apesar da região nordeste do Brasil não ter registrado o maior número de casos de Zika, observou-se maior concentração de casos de microcefalia em RN nessa região, que conjuntamente somaram 88,4% do total de casos registrados no país, enquanto que a região sudeste registrou apenas 8,7% dos casos⁸. Essas diferenças regionais, chamam atenção para a possibilidade de que outros fatores para além dos biológicos, possam ter contribuído para essa concentração de casos.

Ao longo do tempo as sucessivas mudanças na forma de pensar a doença e a preocupação com a saúde geraram uma nova concepção baseada na determinação social do processo saúde e doença^{9,10,11}. Nasce então, um novo modelo explicativo para se compreender o processo do adoecimento, na medida em que se vincula os fatores biológicos aos sociais. Com isso emerge a concepção de que a natureza social da doença não se verifica unicamente pela doença clínica, mas na

especificidade do processo de adoecer e morrer dos diferentes grupos e das suas condições de vida¹¹.

Nessa perspectiva, os níveis de saúde expressam a organização social e econômica do País, tendo a saúde como fatores determinantes e condicionantes o acesso a alimentação, moradia, saneamento básico, meio ambiente, trabalho, renda, educação, atividade física, transporte, lazer e o acesso aos bens e serviços essenciais¹².

Apesar da relação causal entre infecção por ZIKV na gestação e a ocorrência da SCZ em RN^{2,13,14} já estar cientificamente consolidada, não se exclui a possibilidade que outros fatores, somados à condição clínica, determinantes do processo saúde doença presentes no contexto social das famílias, possam ter influenciado a distribuição dos casos nas diferentes regiões do Brasil. Desta forma, torna-se importante conhecer e avaliar o contexto socioeconômico e ambiental dessas famílias.

Historicamente, o controle de doenças transmitidas por vetores, nos grandes centros urbanos sempre foi um desafio para a saúde pública brasileira, pois a incidência dessas doenças é maior nas populações residentes em áreas com problemas de saneamento básico, como a falta de água encanada e coleta de lixo, e onde as condições de vida são mais precárias e de alta exposição aos vetores infectados¹⁵.

O município de Feira de Santana, registra casos de dengue desde 1995¹⁶, em 2014 foi o primeiro município do Brasil a confirmar a transmissão autóctone do vírus chikungunya pelo genótipo Leste-Centro-Sul Africano (ECSA)¹⁷, em 2015 registrou uma epidemia de Zika e aumento de casos de microcefalia^{18,19} e detectou em 2016 a presença do ZIKV em amostras de sangue e urina de um RN com SCZ²⁰. Além da

circulação simultânea da dengue, chikungunya e Zika, o clima e as condições socioeconômicas locais favorecem a proliferação do mosquito *Aedes aegypti* transmissor dessas arboviroses.

É incipiente o número de publicações abordando a relação entre a SCZ e as condições sociais, econômicas e demográficas das famílias. A maioria dos estudos, ainda limitam-se a apresentar as características clínicas e laboratoriais da doença.

Por isso, o objetivo deste estudo foi descrever as características sociodemográficas, econômicas, maternas e do RN envolvidas na SCZ no período de 2015 a 2018 em Feira de Santana, Bahia.

MÉTODO

Trata-se de um estudo de corte transversal, envolvendo as famílias de crianças com SCZ em Feira de Santana, Bahia no período de 2015 a 2018. Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), município possui uma população de 622. 639 mil habitantes, sendo que cerca de 91,7% vive na zona urbana. Com clima subtropical, é considerada segunda maior cidade do Estado, em virtude do número de habitantes e sua importância geoeconômica ²¹.

Foram incluídas neste estudo, mães de crianças com confirmação da SCZ, acompanhadas no Ambulatório Municipal de Infectologia Pediátrica do município de Feira de Santana. Desta forma, a amostra foi selecionada por conveniência.

Os casos suspeitos de SCZ foram identificados a partir do Sistema de informação do RESP Microcefalia (Resposta de Emergência em Saúde Pública) do município e foram previamente avaliados por uma equipe multidisciplinar e submetidos a exames laboratoriais e de imagens para identificação de possíveis lesões cerebrais compatíveis com a SCZ.

Foram considerados casos confirmados de SCZ aqueles com diagnóstico laboratorial positivo para ZIKV através de biologia molecular ou exames sorológicos específicos identificados em amostras clínicas de sangue do RN e/ou da mãe, bem como os casos confirmados por exame de neuroimagem (ultrassonografia, tomografia computadorizada ou ressonância magnética) com alterações cerebrais compatíveis com SCZ e que não dispunham de resultados laboratoriais específicos para o ZIKV e não tinham confirmação laboratorial para nenhuma das infecções por sífilis, toxoplasmose, rubéola, citomegalovírus, parvovírus B19 e vírus herpesconforme protocolo estabelecido pelo MS¹.

A coleta de dados foi realizada entre 2016 a 2018, durante visitas domiciliares em horários e datas previamente agendados ou no Ambulatório Municipal de Infectologia Pediátrica das Infecções Congênitas. Foi utilizado um questionário semiestruturado contendo as variáveis clínicas, socioeconômicas, demográficas, maternas e do RN. De forma complementar foram coletados dados dos prontuários referentes ao parto, resultados de exames de imagem e laboratoriais, além de informações do cartão da gestante.

a) variáveis sociais, econômicas e demográficas da mãe: idade (em anos); escolaridade (série escolar concluída); raça/cor (branca ou pretas e pardas); ocupação (com vínculo formal ou não); renda familiar (em salários mínimos); estado civil, (com ou sem companheiro); tipo de habitação (própria; não própria); coleta de lixo (diária, dias alternados, não tem coleta pública); energia elétrica (com ou sem energia) e abastecimento de água (sim, não).

b) variáveis maternas: número de consultas de pré-natal realizadas, unidade de saúde do pré-natal (público, privado, mista), intercorrências durante a gestação; uso de fumo; bebidas alcoólicas, uso de produtos tóxicos e drogas ilícitas durante a

1
2
3
4 100 gestação; histórico de doença exantemática na gestação, sinais e sintomas
5 101 apresentados; trimestre de gestação (1º, 2º, 3º);
6
7
8 102 c) variáveis relacionadas ao recém-nascido: sexo (masculino feminino); idade
9
10 103 gestacional (em semanas) ao nascer; perímetro cefálico ao nascer (em centímetros);
11
12 104 peso ao nascer (em gramas); comprimento ao nascer (em centímetros). Destaca-se
13
14 105 que para as variáveis perímetro cefálico e comprimento ao nascer, utilizou-se o
15
16 106 cálculo da média para dicotomização.
17
18
19 107 As informações coletadas deram origem a um banco de dados que foi
20
21 108 armazenado no software Microsoft Excel 2013 e serviram de base para as primeiras
22
23 109 correções e posteriormente os dados foram transportados para o
24
25 110 programa *Statistical Package for Social Science* (SPSS) versão 22.0, onde foram
26
27 111 realizadas as análises estatísticas.
28
29
30 112 Os dados analisados, foram apresentados através de frequências absolutas e
31
32 113 relativas, relacionadas às variáveis analisadas.
33
34 114 Este estudo está de acordo com a Resolução 466/2012 do Conselho Nacional
35
36 115 de Saúde (CNS) e foi aprovada pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) do Centro de
37
38 116 Pesquisas Gonçalo Moniz/Fiocruz/ BA, sob o parecer número 1.100.349.
39
40
41 117 **RESULTADOS**
42
43 118 Foram identificados 73 casos suspeitos de SCZ, no entanto, dois foram
44
45 119 excluídos por confirmarem a infecção congênita por outros agentes etiológicos e
46
47 120 quatro por estarem com informações incompletas, não sendo possível fazer a
48
49 121 identificação dos endereços. Portanto, 67 casos foram avaliados e deste total, 31
50
51 122 recém-nascidos (RN) foram confirmados como SCZ conforme fluxograma de
52
53 123 investigação (Figura 1).
54
55
56
57
58
59
60



Figura 1. Fluxograma de investigação e classificação dos casos suspeitos de SCZ, Feira de Santana, Bahia 2015 a 2019.

Ponte: Sistema de Informação RESP-Microcefalia de Feira de Santana, Bahia, Brasil.

A média de idade das mães de crianças com SCZ foi de 26 anos, 90,3% delas se auto declararam pretas e pardas, 51,6% possuíam ensino médio incompleto e 32,2% não tinham companheiro. Com relação a ocupação antes do nascimento da criança 67,7 % trabalhavam fora em diversas profissões (profissional liberal, autônoma, trabalhadora rural, serviços gerais e administrativos) e após o nascimento da criança apenas 16,1% mantiveram os seus vínculos empregatícios formais.

No que se refere à renda familiar 72,4% recebiam um salário mínimo por mês e apenas 32,2% possuíam casa própria. Com relação as condições de saneamento básico 93,5% das famílias possuíam água encanada nos domicílios, 77,4% referiram que a coleta de lixo era feita em dias alternados, 56,0% possuíam rede de esgoto e todas tinham acesso à energia elétrica nos seus domicílio.

1
2
3
4 142 Com relação as características maternas relacionadas ao comportamento
5
6 143 social e de acesso a serviços de saúde (Tabela 2), 45,1% gestantes não fizeram o
7
8 144 número mínimo de 8 consultas durante o pré-natal, 80,6% apresentaram exantema
9
10 145 na gestação e destas, 51,6% foram no primeiro trimestre.

11
12 146 Mais da metade das mães 67,7% receberam o diagnóstico de microcefalia ou
13
14 147 outras alterações, no pré e pós-parto. 77,4% das mulheres realizaram o parto na rede
15
16 148 pública de saúde. Com relação ao acesso aos benefícios sociais disponibilizados
17
18 149 pelo governo federal para pessoas com deficiência 80,6% mães já recebiam o
19
20 150 Benefício de Prestação Continuada (BPC).

21
22
23 151 Ao abordar as características das crianças com SCZ, 51,6% eram do sexo
24
25 152 masculino, nascidos com idade gestacional materna ≥ 37 semanas (80,6%),
26
27 153 perímetro cefálico ≤ 30 cm (60,5), apresentando peso adequado (87,1) e
28
29 154 comprimento ao nascer ≤ 47 cm (57,0%) (Tabela 3).

30 155 DISCUSSÃO

31
32
33 156 As características sociodemográficas maternas apontadas no estudo,
34
35 157 mostram que a maioria das famílias possuíam baixas condições socioeconômicas, as
36
37 158 mães eram jovens, pardas e pretas, donas de casa, desempregadas, com baixa
38
39 159 escolaridade e dependentes dos serviços públicos para assistência à saúde dos
40
41 160 filhos. Esses achados assemelham-se a outros estudos onde se observou que a
42
43 161 maioria das mulheres encontravam-se em idade reprodutiva, eram pobres,
44
45 162 nordestinas residentes nos estados da Bahia, Paraíba, Pernambuco e do Rio Grande
46
47 163 do Norte, regiões economicamente menos desenvolvidas e que em conjunto
48
49 164 totalizaram 72% dos casos de SCZ já registrados no país^{22,23}

50
51
52 165 Segundo Diniz (2016), a epidemia de Síndrome Congênita do Zika no Brasil,
53
54 166 tem geografia e classe social²⁴. Com isso, a autora chama atenção para as

desigualdades sociais existentes no país e o risco do seu aprofundamento, já que as famílias acometidas, vivem a muito tempo em condições de vulnerabilidade social mantendo um ciclo de pobreza.

Outro estudo sobre o perfil sociodemográfico das mães revelou que a epidemia da Síndrome Congenita do Zika não foi equânime e atingiu, preferencialmente, mulheres de baixa renda e de estratos sociais desfavorecidos². Nesse sentido, acredita-se que o adoecimento possa ser determinado pelas desigualdades sociais e o acesso aos serviços de saúde existentes no país.

Neste estudo, mais da metade das mulheres que desenvolviam alguma atividade laboral, tornaram-se do lar. Isso decorreu em parte por conta da necessidade da total dependência dos filhos que precisam de inúmeros cuidados a saúde a depender do grau de comprometimento de cada um. Em outros estudos foi demonstrado que as mulheres foram dispensadas pelos empregadores por conta das faltas ao trabalho decorrentes das necessidades advindas das limitações dos seus filhos^{22,23}.

Entre cuidadores principais de crianças com diagnóstico de microcefalia pós Zika, estudados em Salvador, 80,5% eram mães e destas, 31,71% estavam desempregadas²⁴.

No que se refere as condições de moradia o estudo evidencia que a maioria das famílias não possuem casa própria, gerando despesas adicionais com pagamento de aluguel o que pode precarizar ainda mais as condições de vida dessas famílias.

No Brasil existem diferentes problemas relacionados as condições de moradia. Cerca de 7,9% da população com renda per capita baixa tem gastos excessivos com aluguel que iguala ou supera cerca de 30% do rendimento

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

192 domiciliar²⁶. Essas despesas impactam significativamente no orçamento doméstico e
193 compromete outras necessidades essenciais incluindo as de saúde e educação. O
194 que se observa é que as condições de moradia nos grandes centros urbanos
195 brasileiros ainda é excludente e marginaliza grupos sociais desfavorecidos que pela
196 condição socioeconômica muitas vezes são obrigados a construir suas moradias
197 em locais insalubres e desprovidos de infraestrutura e de saneamento básico²⁶.

198 Com relação ao acesso a água potável, apesar da maioria das famílias terem
199 água encanada nos domicílios, a necessidade de armazenamento em pequenos
200 reservatórios devido à interrupção frequente no fornecimento, a deficiência no
201 recolhimento e destino do lixo, as falhas no controle do mosquito *aedes Aegypti* e as
202 condições climáticas da região, também são fatores que contribuem para a
203 proliferação do vetor e consequentemente manutenção da doença nesses locais
204 com maiores iniquidades sociais. Portanto, esse é mais um estudo em que é possível
205 perceber que as condições precárias de vida das pessoas estão intimamente
206 relacionadas a diferentes formas de viver, adoecer e morrer²⁷.

207 Chama atenção o percentual de mulheres que não realizaram o número
208 mínimo de consultas pré-natais preconizadas pelo MS. O acesso ao pré-natal de
209 forma sistematizada por profissionais capacitados pode prevenir riscos à saúde da
210 mãe e do feto.

211 Através da Política de Humanização e Nascimento lançada pelo Ministério da
212 Saúde no ano de 2000, buscou-se garantir o acesso e qualidade do pré-natal, mas
213 ao se avaliar a mesma política observou-se que o conjunto de atividades
214 assistências recomendadas pelo MS atingiu apenas uma parcela mínima de
215 mulheres gestantes²⁸, revelando ineficaz no seu alcance.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

216 No presente estudo a baixa escolaridade e o nível socioeconômico
217 encontrados também podem ter interferido no número de consultas no pré-natal,
218 assim como a dificuldade de deslocamento para o serviço de saúde.

219 Nesse estudo a maioria das mães só receberam a informação que seu filho
220 tinha microcefalia pouco tempo antes do parto ou após o nascimento. Um estudo
221 semelhante realizado com mulheres Pernambucanas revelou que muitas delas
222 quando tiveram os sintomas da Zika foram apenas informadas que se tratava de
223 uma "virose"².

224 A estratificação da população em classes sociais hierárquicas reflete o
225 contexto de iniquidade social e gera a distribuição desigual e injusta dos recursos
226 materiais, ambientais, psicossociais e biológicos disponíveis na sociedade²⁷. Esse
227 contexto de desigualdade social resulta,consequentemente,em distintos perfis
228 epidemiológicos e de acesso aos serviços de saúde. Portanto, o Brasil, apesar de
229 ser considerado um dos países emergentes, contraditoriamente abriga o estigma de
230 manter enormes desigualdades sociais²⁷.

231 Nesse contexto, emergem nos grupos sociais mais frágeis mais diversas
232 doenças e agravos à saúde que afetam predominantemente essas populações mais
233 pobres e vulneráveis, e que contribui por sua vez para a perpetuação dos ciclos de
234 desigualdades e de exclusão social. Esses agravos chamados "doenças da pobreza"
235 ou doenças negligenciadas, afetam bilhões de pessoas no mundo,que vivem em
236 países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento.

237 Além de demonstrar as características maternas, o estudo revelou que a
238 maioria dos recém nascidos eram do sexo masculino, com nascimento a termo,
239 apresentando peso adequado ao nascer e perímetro cefálico reduzido e
240 comprimento ao nascer ≤ 47 cm.

Estudos desenvolvidos com crianças acometidas pela SCZ divergem quanto ao sexo do RN^{29,30}, mas grande parte das pesquisas demonstrarem maior prevalência no sexo feminino^{29,31,32}. O estudo aqui tratado não apresentou grandes variações entre os sexos, variando apenas um caso entre o masculino e feminino.

Maior parte das crianças estudadas nasceram a termo e com peso adequado, o que converge com estudos já realizados²⁹, sendo um ponto positivo já que outros achados vêm demonstrando a possibilidade do nascimento prematuro³³ e baixo peso ao nascer^{30,34}, o que poderá levar a um maior comprometimento somado a condição da SCZ.

Conhecer as características sociodemográficas e econômicas relacionadas as genitoras e crianças com SCZ é um importante ponto de partida para melhor compreender a influência desses fatores na vida das famílias brasileiras atingidas por esse recente problema de Saúde Pública.

Como limitações deste trabalho pode-se citar a dificuldade de acesso aos exames específicos para o diagnóstico laboratorial e confirmação etiológica dos casos de infecção congênita pelo ZIKV, além do baixo número de publicações envolvendo os aspectos abordados nesse estudo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse artigo evidencia que as condições de pobreza, enfrentadas pelas famílias que já se encontravam em vulnerabilidade social, são agravadas pela presença marcante da SCZ no contexto familiar.

A saúde é o principal marcador de qualidade de vida, porém o grande desafio é garantir políticas públicas sociais que assegurem a melhoria das condições de vida da população e supere modelos assistenciais fragmentados e centrados unicamente nos fatores biológicos da doença.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

266 Evidenciou-se que o processo saúde-doença apresenta simultaneamente
267 caráter social e biológico de forma mais abrangente e marcante do que a mera
268 descrição biológica das condições de doença.

269 No caso das famílias de crianças com SCZ onde várias limitações afetaram
270 essas crianças, que podem ser irreversíveis e incapacitantes, a convivência com a
271 síndrome, favorece para maior precarização das condições de vida das famílias.

272 Este estudo além de evidenciar as condições de vulnerabilidade já existentes,
273 chama atenção para a tendência do seu aprofundamento, que poderá ser
274 minimizado com a implementação e/ou garantia de políticas públicas sociais que
275 atendam às necessidades dessas famílias.

276 A condição de vida verificada neste estudo fornece subsídios para o
277 planejamento de ações efetivas que garantam uma rede de proteção social para
278 crianças com SCZ e suas famílias, incluindo o acesso a assistência à saúde de
279 qualidade e as demais políticas públicas sociais que possam dar condições para as
280 crianças viverem com dignidade.

281

282 REFERÊNCIAS

- 283 1. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria GM nº 1.813, de 11 de novembro de 2015.
284 Declara Emergência em Saúde Pública de importância Nacional (ESPIN) por
285 alteração do padrão de ocorrência de microcefalias no Brasil. Diário Oficial da
286 República Federativa do Brasil, Brasília (DF), 2015 nov 12; Seção 1:51. Disponível
287 em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2015/prt1813_11_11_2015.html.
288
- 289 2. de Araújo TV, Rodrigues LC, de Alencar Ximenes RA, et al. Association between
290 Zika virus infection and microcephaly in Brazil, January to May, 2016: preliminary
291 report of a case-control study. *Lancet Infect Dis* 2016. Epub September 15, 2016.
292
- 293 3. Souza WV de, Araújo TVB de, Albuquerque M de FPM, MC Braga, Ximenes RA
294 de A, Miranda-Filho D de B, et al. Microcefalia no Estado de Pernambuco, Brasil:
295 características epidemiológicas e avaliação da acurácia diagnóstica dos pontos de
296 corte adotados para a notificação de caso. *Cad. Saúde Pública*. 2016; 32: 1-
297 7. <https://doi.org/10.1590/0102-311X00017216>.
298

- 1 299 4. França GVA, Schuler-Faccini L, Oliveira WK, Henriques CMP, Carmo EH, Pedi
2 300 VD, et al. Síndrome congênita do zika vírus no Brasil: uma série de casos dos
3 301 primeiros 1501 nascidos vivos com investigação completa. Lanceta. 2016; 388: 891-
4 302 7. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30902-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30902-3) .Ver artigoPubMedGoogle Scholar
5 303
- 6 304 5. Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância em Saúde. Secretaria de
7 305 Atenção à Saúde. Orientações integradas de vigilância e atenção à saúde no âmbito
8 306 da Emergência de Saúde Pública de Importância Nacional: procedimentos para o
9 307 monitoramento das alterações no crescimento e desenvolvimento a partir da
10 308 gestação até a primeira infância, relacionadas à infecção pelo vírus Zika e outras
11 309 etiologias infecciosas dentro da capacidade operacional do SUS [internet]. Brasília:
12 310 Ministério da Saúde; 2017 [citado 2018 mar 14]. 158 p. Disponível em:
13 311 http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/orientacoes_integradas_vigilancia_atencao_emergencia_saude_publica.pdf
14 312
15 313
- 16 314 6. Souza WV, Albuquerque MFPM, Vazquez E, Bezerra LCA, Mendes ADCG, Lyra
17 315 TM, et al. Microcephaly epidemic related to the Zika virus and living conditions in
18 316 Recife, Northeast Brazil. BMC Public Health. 2018;18(1):130.
19 317 <https://doi.org/10.1186/s12889-018-5039-z>.
20 318
- 21 319 7. Almeida-Filho, N. A problemática teórica da determinação social da saúde. in:
22 320 Nogueira, R P (org.). Determinação Social da Saúde e Reforma Sanitária. Rio de
23 321 janeiro. Cebes, 2010. Disponível em:
24 322 <http://www.cebes.org.br/media/File/Determinacao.pdf>.
25 323
- 26 324 8. Castellanos, PL. Epidemiologia, saúde pública, situação de saúde e condições de
27 325 vida. Considerações conceituais. In: Condições de Vida e Situação de Saúde (Org.
28 326 Rita Barradas Barata). Rio de Janeiro: ABRASCO, 1997. (Itens I, II e V).
29 327
- 30 328 9. Costa, AM. Determinação social da saúde: um tema potente na mobilização social
31 329 pelo direito à saúde? Saúde em Debate. Rio de Janeiro, 2009, 33(83): 443-446.
32 330 Disponível em: <http://cebes.org.br/publicacao/v-33-n-83-setembrodezembro-de-2009/>.
33 331
34 332
- 35 333 10. Fleury-Teixeira, P. Uma introdução conceitual à determinação social da saúde.
36 334 Saúde em Debate. Rio de Janeiro, 2009, 33(83). Disponível em:
37 335 <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=406345800005>.
38 336
- 39 337 11. Teixeira JC, Pungirum MEMC. Análise da associação entre saneamento e saúde
40 338 nos países da América Latina e do Caribe, empregando dados secundários do
41 339 banco de dados da Organização Pan-Americana da Saúde – OPAS. Rev. Brazil
42 340 Epidemiol 2005; 8:365-76. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-790X2005000400005>.
43 341
- 44 342 12. BRASIL. Lei complementar nº 8.080, de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre
45 343 as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o
46 344 funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. Diário Oficial
47 345 da República Federativa do Brasil. Poder Executivo, Brasília, DF, set. 1990.
48 346
- 49 347 13. Rasmussen SA, DJ Jamieson, Honein MA, Petersen LR. Vírus Zika e defeitos
50 348 congênitos - Revendo as evidências de causalidade. N Engl J Med. 2016; 374: 1981,

- 149 14. Thália V BA, Ricardo AAX, Demócrito BM, et al. Association between
150 microcephaly, Zika virus infection, and other risk factors in Brazil: final report of a
151 case-control study. *The LANCET*, V. 18, Number 3p227-356, e64-e108.
152
- 153 15. Machado, J P; Oliveira, RM; Souza-Santos, R. Análise espacial da ocorrência de
154 dengue e condições de vida na cidade de Nova Iguaçu, Estado do Rio de Janeiro,
155 Brasil. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro. 2009, 25(5):1025-1034.
156 <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2009000500009>.
157
- 158 16. Feira de Santana. Plano de Contingência da Dengue, Chikungunya, Zika e Febre
159 Amarela de Feira de Santana – Bahia, 2019. Secretaria Municipal de Saúde de Feira
160 de Santana-Bahia, Brasil, 2019.
161
- 162 17. Nunes, M. et al. Emergence and potential for spread of Chikungunya virus in
163 Brazil. *BMC Med*. 30; 13:102. 2015.
164
- 165 18. Lourenco, Jose. et al. "Epidemiological and ecological determinants of Zika virus
166 transmission in an urban setting." *Elife* 6 (2017): e29820.
167
- 168 19. Brasil. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico Secretaria de Vigilância em
169 Saúde, 2015, 46(44).
170
- 171 20. Giovanetti M., Gôes de Jesus J., Lima de Maia M., Junior JX et al. Genetic
172 evidence of Zika virus in mother's breast milk and body fluids of a newborn with
173 severe congenital defects. *Clinical Microbiology and Infection*, 24 (10), pp. 1111-
174 1112. (2018).
175
- 176 21. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE, Brasil, 2019.
177
- 178 22. Diniz D. Vírus Zika e mulheres. *Cad.Saúde Publica*. 2016;32(5): e00046316.
179
- 180 23. Linde AR, Siqueira CE. Women's lives in times of Zika: mosquito-controlled lives?
181 *CadSaúde Publica*. 2018; 34(5):e00178917. <http://dx.doi.org/10.1590/0102-311x00178917>.
182
- 183 24. Diniz D. Zika: from the Brazilian backlands to global threat. London: Zek Books;
184 2017.
185
- 186 25. Gonçalves AE, Tenório SDB, FERRAZ PCS. Aspectos socioeconômicos dos
187 genitores de crianças com microcefalia relacionada ao Zika Vírus. *Rev. Pesq. Fisio*.
188 2018, 8(2):155-166. <http://dx.doi.org/10.17267/2238-2704rpf.v8i2.1865>
189
- 190 26. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Síntese de indicadores
191 sociais: uma análise das condições de vida da população brasileira. Rio de Janeiro:
192 IBGE; 2016. Disponível em: [https://](https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv98965.pdf)
193 biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv98965.pdf.
194
- 195 27. Barbosa IR, Costa ICC. A determinação social no processo de adoecimento no
196 contexto das populações negligenciadas [Internet]. Recife (PE): Portal DSS-
197
- 198

- 1
- 2
- 3
- 4 399 Nordeste; 2013 Mar 27. Disponível em: <http://dssbr.org/site/opinioes/a-determinacao-social-no-processo-de-adoecimento-no-contexto-das-populacoes-negligenciadas/>.
- 5 400
- 6 401
- 7 402 28. Serruya SJ, Cecatti JG, Lago TG. O Programa de Humanização no Pré-natal e
- 8 403 Nascimento do Ministério da Saúde no Brasil: resultados iniciais. Cad. Saúde
- 9 404 Pública [Internet]. 2004 Oct [citado 2020 Jan 19]; 20(5): 1281-
- 10 405 1289. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-311X2004000500022>.
- 11 406
- 12 407 29. Cruz TAR; Silva FC; Santos SEM. PERFIL CLÍNICO, SOCIODEMOGRÁFICO E
- 13 408 FUNCIONAL DOS LACTENTES COM MICROCEFALIA ATENDIDOS NO SETOR
- 14 409 DE TERAPIA OCUPACIONAL DE UM CENTRO
- 15 410 ESPECIALIZADO EM REABILITAÇÃO. 69ª Reunião Anual da SBPC - 16 a 22 de
- 16 411 julho de 2017 - UFMG - Belo Horizonte/MG. Disponível em:
- 17 412 http://www.sbpnet.org.br/livro/69ra/resumos/resumos/3120_10fe617d671a2801bacd0298f53c577a1.pdf
- 18 413
- 19 414
- 20 415
- 21 416 30. Abreu TT, Novais MCM, Guimarães, ICB. Crianças com microcefalia associada à
- 22 417 infecção congênita pelo vírus Zika: características clínicas e epidemiológicas num
- 23 418 hospital terciário. Rev. Ciênc. Méd. Biol., 2018,15(3):426-
- 24 419 433. <http://dx.doi.org/10.9771/cmbio.v15i3.18347>
- 25 420
- 26 421 31. Martins RS, Fróes MH, Saad LC, Ignácio Junior SM, Prado WDA, Figueiredo EM,
- 27 422 et al. Descrição dos casos de síndrome congênita associada à infecção pelo ZIKV
- 28 423 no estado de São Paulo, no período 2015 a 2017. Epidemiol. Serv. Saúde [Internet].
- 29 424 2018 Set [citado 2020 Jan 19]; 27(3): e2017382. <http://dx.doi.org/10.5123/s1679-49742018000300012>
- 30 425
- 31 426 32. Marinho F, Araújo VEM, Porto DL, Ferreira HL, Coelho MRS et al. Microcefalia
- 32 427 no Brasil: prevalência e caracterização dos casos a partir do Sistema de
- 33 428 Informações sobre Nascidos Vivos (Sinasc), 2000-2015. Epidemiol. Serv. Saúde
- 34 429 [Internet]. 2016 Dez [citado 2020 Jan 19]; 25(4): 701-
- 35 430 712. <http://dx.doi.org/10.5123/s1679-49742016000400004>
- 36 431
- 37 432 33. Lozano CS, Cortez CM, Guillén-Pinto. Incidência de microcefalia neonatal
- 38 433 en el Hospital Cayetano Heredia de Lima, 2016 – 2017. Rev Neuropsiquiatr. 2019;
- 39 434 82(3):192-196. <https://doi.org/10.20453/rnp.v82i3.3572>
- 40 435
- 41 436 34. Vargas A, Saad E, Dimech GS, Santos RH, Caldas MAV et al. Características
- 42 437 dos primeiros casos de microcefalia possivelmente relacionados ao vírus Zika
- 43 438 notificados na Região Metropolitana de Recife, Pernambuco. Epidemiol. Serv Saúde,
- 44 439 2016, 25(4).
- 45
- 46
- 47
- 48
- 49
- 50
- 51
- 52
- 53
- 54
- 55
- 56
- 57
- 58
- 59
- 60

Tabela 1. Características sociodemográficas das mães dos RN com SCZ, Feira de Santana- BA, 2015 a 2018.

Características sociodemográficas	n	(%)
Idade em anos (Média $\pm$ dp)	26,03 $\pm$ 5,78	
Faixa etária materna		
15 a 18 anos	4	12,90
19 a 23 anos	6	19,35
24 a 28 anos	11	35,48
29 ou mais	10	32,25
Raça/cor da pele		
Branca	3	9,67
Pretas e Pardas	28	90,32
Estado civil		
Com companheiro	21	67,74
Sem companheiro	10	32,25
Escolaridade		
Ensino fundamental incompleto	10	32,25
Ensino médio incompleto	16	51,61
Ensino médio completo	3	9,67
Ensino superior	2	6,45
Renda familiar		
Menos de 1 salário mínimo	4	12,90
1 salários mínimos	16	51,61
Entre 2 e 4 salários mínimos	11	35,47
Habitação		
Casa própria	10	32,25
Casa alugada	7	22,58
Casa emprestada	4	12,90
Outros	10	32,25
Coleta de lixo		
Diária	4	12,90
Dias alternados	24	77,41
Sem coleta de lixo	3	9,67
Abastecimento de água		
Com abastecimento	29	93,54
Sem abastecimento	2	6,45
Energia elétrica		
Com energia elétrica	31	100,00
Sem energia elétrica	-	-
Rede de esgoto		
Com rede de esgoto	18	58,06
Sem rede de esgoto	13	41,93
Ocupação das genitoras antes do nascimento do RN		
Do lar	10	32,25
Outras ocupações	21	67,74
Ocupação após o nascimento do RN		
Do lar	28	90,32
Outras ocupações	3	16,12

Tabela 2. Características clínicas, comportamentais e de acesso aos serviços das mães de RN com SCZ, Feira de Santana- BA, 2015 a 2018.

Variáveis Maternas	n	(%)
Nº de consulta Pré-natal		
Menos de 6 consultas	14	45,16
6 consultas e mais	17	54,83
Exantema na gestação		
Sim	25	80,64
Não	7	22,58
Trimestre do exantema (n=25)		
1º trimestre	16	64,0
2º trimestre	06	24,0
3º trimestre	03	12,0
Momento da detecção da microcefalia		
Durante o pré-natal	10	32,25
No momento do parto	15	48,38
Depois do parto	6	19,35
Tipo de Serviço de Saúde		
Público	24	77,41
Plano de Saúde Privado	1	3,22
Público e Privado	6	19,35
Número de filhos		
1 filho	15	48,38
2 a 3 filhos	15	48,38
Mais de 4 filhos	1	3,22
Uso de fumo na gestação		
Sim	-	100,00
Não	31	-
Uso de bebidas alcoólicas na gestação		
Sim	1	3,22
Não	30	96,77
Uso de drogas ilícitas na gestação		
Sim	-	100,00
Não	31	-
Contato com inseticidas		
Sim	1	3,22
Não	30	96,77
Acesso aos benefícios do governo (BPC)		
Com benefício social	25	80,64
Sem benefício social	6	19,35

Tabela 3. Características antropométricas de RN com SCZ, Feira de Santana-BA, 2015 a 2018.

Variáveis do Recém-Nascido	n	(%)
Sexo		
Masculino	16	51,6
Feminino	15	48,4
Idade gestacional ao nascer		
Até 36 semanas	6	19,4
≥ 37 semanas	25	80,6
Perímetro cefálico ao nascer		
≤ 30cm	20	60,5
Maior que 30cm	11	35,5
Peso ao nascer		
Baixo peso (<2.500g)	4	12,9
Peso adequado (≥ 2500g)	27	87,1
Comprimento ao nascer (n=30)		
≤ 47cm	17	57,0
Maior que 47cm	13	43,0

SUBPROJETO 1 – ARTIGO 6

QUEIROZ, A.; Pinto, I. F. D.; **LIMA, M.M.**; GIOVANETTI, M.; JESUS, J. G. de; XAVIER, J.; MASCARENHAS, D. L. *Lipidomic analysis reveals serum alteration of plasmalogens in patients infected with ZIKA virus. **Frontiers in Microbiology**, 10, 753, 2019.*



ORIGINAL RESEARCH
published: 12 April 2019
doi: 10.3389/fmicb.2019.00753



Lipidomic Analysis Reveals Serum Alteration of Plasmalogens in Patients Infected With ZIKA Virus

Adriano Queiroz¹, Isabella Fernanda Dantas Pinto², Maricôla Lima³, Marta Giovanetti^{1,4}, Jaqueline Goes de Jesus¹, Joilson Xavier¹, Fernanda Khouri Barreto⁵, Gisela André Baptista Canuto⁶, Halineide Ramos do Amaral⁷, Ana Maria Bispo de Filippis⁸, Denise Lima Mascarenhas⁹, Melissa Barreto Falcão⁹, Normeide Padraia Santos⁹, Vasco Aniston de Carvalho Azevedo⁹, Marcos Yukio Yoshinaga¹⁰, Sayuri Miyamoto¹⁰ and Luiz Carlos Junior Alcantara^{1,4,10*}

OPEN ACCESS

Edited by:

Lee Sedgwick,
University of Technology Sydney,
Australia

Reviewed by:

Miguel A. Martín Acabado,
Instituto Nacional de Investigación y
Tecnología Agraria y Alimentaria
(INIA), Spain

Specialty section:

Institute of Virology and Immunology,
Switzerland

*Correspondence:

Marcos Yukio Yoshinaga
marcosyukio@gmail.com
Luiz Carlos Junior Alcantara
luc.alcantara@ioc.fiocruz.br

Specialty section:

This article was submitted to
Infectious Diseases,
a section of the journal
Frontiers in Microbiology

Received: 02 January 2019

Accepted: 26 March 2019

Published: 12 April 2019

Citation:

Queiroz A, Pinto IFD, Lima M,
Giovanetti M, de Jesus JG, Xavier J,
Barreto FK, Canuto GAB,
do Amaral HR, de Filippis AMB,
Mascarenhas DL, Falcão ME,
Santos NP, Azevedo VAC,
Yoshinaga MY, Miyamoto S and
Alcantara LCJ (2019) Lipidomic
Analysis Reveals Serum Alteration
of Plasmalogens in Patients Infected
With ZIKA Virus.
Front. Microbiol. 10:753.
doi: 10.3389/fmicb.2019.00753

¹ Laboratório de Patologia Experimental, Instituto Gonçalo Moniz, Salvador, Brazil; ² Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil; ³ Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Brazil; ⁴ Laboratório de Flavivirus, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil; ⁵ Instituto Multidisciplinar em Saúde, Universidade Federal de Bahia, Vitória da Conquista, Brazil; ⁶ Departamento de Química Analítica, Instituto de Química, Universidade Federal de Bahia, Salvador, Brazil; ⁷ Núcleo de Pesquisas em Vigilância de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Brazil; ⁸ Secretaria Municipal de Saúde do Município de Feira de Santana, Feira de Santana, Brazil; ⁹ Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil; ¹⁰ Laboratório de Genética Celular e Molecular, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil

Zika virus (ZIKV) is an arthropod-borne virus (arbovirus) in the *Flavivirus* genus of the *Flaviviridae* family. Since the large outbreaks in French Polynesia in 2013–2014 and in Brazil in 2015, ZIKV has been considered a new public health threat. Similar to other related flavivirus, ZIKV is associated with mild and self-limiting symptoms such as rash, pruritus, prostration, headache, arthralgia, myalgia, conjunctivitis, lower back pain and, when present, a short-term low grade fever. In addition, ZIKV has been implicated in neurological complications such as neonatal microcephaly and Guillain-Barré syndrome in adults. Herein, serum lipidomic analysis was used to identify possible alterations in lipid metabolism triggered by ZIKV infection. Patients who presented virus-like symptoms such as fever, arthralgia, headache, exanthema, myalgia and pruritus were selected as the control group. Our study reveals increased levels of several phosphatidylethanolamine (PE) lipid species in the serum of ZIKV patients, the majority of them plasmalogen-phosphatidylethanolamine (pPE) (or plasmalogens) linked to polyunsaturated fatty acids. Constituting up to 20% of total phospholipids in humans, plasmalogens linked to polyunsaturated fatty acids are particularly enriched in neural membranes of the brain. The biosynthesis of plasmalogens requires functional peroxisomes, which are important sites for viral replication, including ZIKV. Thus, increased levels of plasmalogens in serum of ZIKV infected subjects suggest a link between ZIKV life cycle and peroxisomes. Our data provide important insights into specific host cellular lipids that are likely associated with ZIKV replication and may serve as platform for antiviral strategy against ZIKV.

Keywords: Zika virus, serum lipidomics, plasmalogens, phosphatidylethanolamine, arbovirus

INTRODUCTION

The ZIKA virus (ZIKV) is an arbovirus that contains a single-stranded RNA genome. Like other *Flavivirus*, its nucleic acid encodes a polyprotein that is processed into three viral particle structural proteins, namely the capsid, the precursor of membrane, and the envelope proteins. Also composing the ZIKV structure are seven non-structural proteins NS1 to NS5 and a lipid bilayer envelope (Kuno et al., 1998; Dai et al., 2016). The illnesses caused by ZIKV may be either asymptomatic or may produce mild symptoms such as fever, skin rash, joint pain, myalgia and conjunctivitis (Malone et al., 2016), resembling the symptoms of dengue and chikungunya. ZIKV can also induce severe diseases such as neonatal microcephaly and Guillain-Barré syndrome in adults (White et al., 2016).

The replication of flaviviruses is fully dependent on host cell machinery and all steps in the flavivirus' lifecycle are closely connected with either cellular or viral lipids (Mukhopadhyay et al., 2005; Martin-Acebes et al., 2016). For example, the attachment of West Nile and dengue viruses is dependent on specific host cell receptors that are recognized by the viral envelope components phosphatidylserine (PS) and phosphatidylethanolamine (Richard et al., 2015; Carnec et al., 2016). Also, for cell entry and fusion with endocytic compartments, flavivirus such as the Yellow Fever and the Japanese Encephalitis-virus-like particles modulate phosphatidylinositol-3-phosphate signaling and alter membrane phospholipid distribution (Nour et al., 2015). And finally, virus replication and assembly only occur after a proper flavivirus-induced rearrangement of membrane structures (Apic-Sengupta et al., 2014; Hara and Lohmann, 2015). West Nile and dengue viruses' proteins co-localize with the endoplasmic reticulum and Golgi complex and induce alterations in their membranes (Roosendaal et al., 2006; Miller et al., 2007; Kaufusi et al., 2014). More recently, ZIKV has been shown to target several host cell organelles involved in lipid biosynthesis and metabolism, including the endoplasmic reticulum, peroxisome and lipid droplets (Coyaud et al., 2018).

Most of the experiments evidencing the importance of host cell lipids for flavivirus' lifecycle such as envelope biogenesis and replication were conducted *in vitro*. However, few studies have detected significant lipidome alterations induced by Hepatitis B virus (HBV), dengue virus and ZIKV in the serum of infected patients (Cui et al., 2013; Schoeman et al., 2016; Melo et al., 2017, 2018). For example, important changes in serum lipids (e.g., phospholipids and sphingolipids) as well as alterations in lipid-related metabolic pathways (e.g., fatty acid biosynthesis and β -oxidation, phospholipid catabolism) were detected in patients during the temporal progression of DENV infection (Cui et al., 2013). In a metabolomics study, Melo et al. (2017) observed alterations in the ganglioside GM2, a glycosphingolipid, and different species of phosphatidylinositol phosphates in the serum of ZIKV-infected patients. Similar to the above-mentioned studies, we applied an untargeted lipidomic analysis of serum using liquid chromatography coupled to mass spectrometry to identify possible lipid alterations in

ZIKV infected patients. In line with recent findings on the interaction of flavivirus with host cell peroxisomes (Lammer et al., 2014; You et al., 2015; Coyaud et al., 2018), we highlight here alterations in serum plasmalogens levels that are likely associated with ZIKV infection.

MATERIALS AND METHODS

Study Participants

A total of 24 participants with symptoms corresponding to arbovirus infection were enrolled in this study and divided into ZIKV and control groups. This distinction was based on a diagnostic test for Zika by real-time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-qPCR). Probe-based RT-qPCR against the prM target, using the following set of primers: CCGCTGCCAAGACAAAG (forward), CCCTAAGGTTCTTTTGCAGACAT (reverse), and FAM AGCCTACCTTGACAAGCAGTCAGACACTCAA as the probe reporter dye, was performed as previously described (Lanciotti et al., 2008). The specificity of the ZIKV primers was previously evaluated and no reactivity with DENV-1, DENV-2, DENV-3, DENV-4, WNV, St. Louis encephalitis virus, YFV, Powassan virus, Semliki Forest virus, o'nyong-nyong virus, chikungunya virus, and Spondweni virus (SPOV) were observed (Lanciotti et al., 2008). Primers and probes used in the diagnostic assay were targeting the Asian genotype, which is currently circulating in Brazil and in the Americas (Paria et al., 2017). The ZIKV group was composed of 12 individuals and the 12 participants belonging to control group were symptomatic but tested negative when submitted to RT-qPCR. The samples were collected from May 2015 to November 2016 and all subjects were residents of Feira de Santana, a city located in the state of Bahia (Northeast Brazil). All participants were negative for chikungunya infection based on a diagnostic RT-qPCR test, which was performed as previously described (Lanciotti et al., 2007). The institutional review boards at the Instituto Gonçalo Moniz (Fiocruz-Bahia) approved the present study (CAAE: 1.100.349) and the subjects provided written and informed consent prior to participation.

Chemicals and Reagents

The following lipids used as internal standards were purchased from Avanti Polar Lipids, Inc. (Alabaster, AL, United States): 1-heptadecanoyl-2-hydroxy-sn-glycero-3-phosphocoline (LPC 17:0), 1,2-diheptadecanoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (PC 17:0/17:0), 1,2-diheptadecanoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine (PE 17:0/17:0) and N-heptadecanoyl-D-erythro-sphingylphosphorylcholine (SM d18:1/17:0), N-heptadecanoyl-D-erythro-sphingosine (Cer d18:1/17:0). Other internal standards and reagents such as 1,2,3-tritetradecanoylglycerol (TG 14:0/14:0/14:0), methyl tert-butyl ether (MTBE), ammonium formate and ammonium acetate were obtained from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, United States). All organic solvents were of high-performance liquid chromatography (HPLC) grade obtained from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, United States).

Lipid Extraction

Serum samples (50 μ L) from 12 control and 12 ZIKV-infected patients were extracted by a modified MTBE method (Matsushita et al., 2008). Briefly, serum samples were mixed with 50 μ L of internal standards (10 μ g/mL) and 200 μ L of ice-cold methanol. After thoroughly vortexing for 10 s, 1 mL of MTBE was added to the mixture, which was stirred for 1 h at 20°C. Next, 300 μ L of water was added to the mixture, followed by vortexing 10 s and resting in an ice bath for 10 min. After centrifugation at $10,000 \times g$ for 10 min at 4°C, the supernatant containing the lipid extract was transferred to a vial and dried under N_2 gas. The extracted lipids were re-dissolved in 100 μ L of isopropanol and centrifuged at $1500 \times g$ for 3 min at 4°C before liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry (LC-MS) analysis.

LC-MS Analysis

Lipid extracts were analyzed in an untargeted method using ultra-high performance liquid chromatography (Nexera UHPLC, Shimadzu, Kyoto, Japan) coupled to a TripleTOF6000 mass spectrometer (Sciex, Concord, United States) with electrospray ionization in both negative and positive modes. Lipid extracts were loaded into a CORTECS[®] column (UPLC C18 column, 1.6 μ m, 2.1 mm i.d. 100 mm). The mobile phases comprised of (A) water/acetonitrile (60:40) and (B) isopropanol/acetonitrile/water (88:10:2) both with 10 mM ammonium acetate or ammonium formate for analysis in negative or positive mode, respectively. The gradient was started from 40 to 100% over the first 10 min, hold at 100%B from 10 to 12 min, decreased from 100 to 40% B during 12–13 min, and hold at 40% B from 13 to 20 min. The flow rate was 0.2 mL/min and column temperature was maintained at 35°C. The sample injection volume was 1 μ L.

TABLE 1 | Clinical and demographic characteristics of ZIKV and control patients.

Characteristics	Controls (n = 12)	ZIKV patients (n = 12)	P-value
Age in years (mean $\pm$ SD)	43 $\pm$ 29	42 $\pm$ 18	0.47
Male gender (%)	7 (58)	1 (8)	0.76
Positive for Dengue (RT-PCR) (%)	1 (8)	2 (17)	0.54
History of hypertension (%)	1 (8)	2 (17)	0.54
Fever (%)	6 (50)	11 (92)	0.02
Arthralgia (%)	10 (83)	11 (92)	0.84
Headache (%)	9 (75)	10 (83)	0.63
Exanthema (%)	11 (92)	12 (100)	0.31
Pruritus (%)	10 (83)	12 (100)	0.14
Myalgia (%)	9 (75)	12 (100)	0.06
Tingling (%)	3 (25)	7 (58)	0.1
Conjunctivitis (%)	3 (25)	7 (58)	0.1
Retro-orbital pain (%)	2 (17)	11 (92)	<0.01
Edema (%)	8 (67)	8 (67)	1.0
Lymphadenopathy (%)	1 (8)	9 (75)	0.06
Paresthesia (%)	9 (75)	12 (100)	0.06

Statistical analyses were performed using *t* tests for means and chi-square tests for proportions.

The MS operated in Information Dependent Acquisition (IDA[®]) acquisition mode with scan range set a mass-to-charge ratio of 100–2000 Da. Data were obtained in a period cycle time of 1.05 s with 100 ms acquisition time for MS1 scan and 25 ms acquisition time to obtain MS/MS of the top 36 precursor ions. Data acquisition was performed using Analyst[®] 1.7.1 with an ion spray voltage of -4.5 kV and 5.5 kV for negative and positive modes, respectively, and the cone voltage at ± 80 V. The curtain gas was set at 25 psi, nebulizer and heater gases at 45 psi and interface heater of 450°C.

Data Processing

The most abundant precursor ions detected by the IDA, covering 70–80% of total ion counts, were individually identified by inspection of their MS/MS using PeakView[®] (Sciex, Concord,

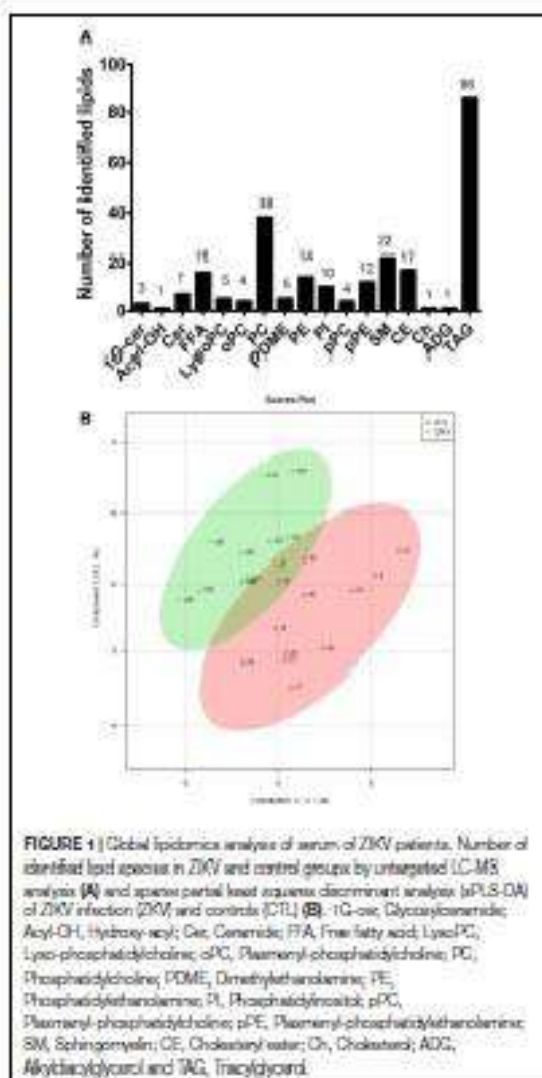


FIGURE 4 | Global lipidomics analysis of serum of ZIKV patients. Number of identified lipid species in ZIKV and control groups by untargeted LC-MS analysis (A) and sparse partial least square discriminant analysis (sPLS-DA) of ZIKV infection (ZIKV) and controls (CTL) (B). IG-ox, Glycosylated; Acyl-GH, Hydroxy-acyl; CH, Cholesterol; FA, Free fatty acid; LysoPC, Lyso-phosphatidylcholine; PC, Plasmalogen-phosphatidylcholine; PE, Phosphatidylcholine; POME, Dimethylphosphatidylcholine; PE, Phosphatidylethanolamine; PL, Phosphatidylcholine; pPC, Plasmalogen-phosphatidylcholine; pPE, Plasmalogen-phosphatidylethanolamine; SM, Shingomyelin; CE, Cholesteryl ester; Ch, Cholesterol; ADG, Alkylacylglycerol and TAG, Triacylglycerol.

change (FC) > 1.5 and p -value < 0.05 by Student's t -test. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis was constructed and the area under ROC curves (AUC) was calculated to investigate whether the characteristics of the lipid that differed significantly between two groups could be efficiently exploited for constructing a sensitive biomarker of ZIKV infection.

RESULTS

Subjects' Clinical and Demographic Characteristics

Table 1 shows the clinical and demographic characteristics of 24 patients participating in this study, which included ZIKV infected ($n = 12$) and control ($n = 12$) groups. While the number of subjects used in our study is slightly lower than published investigations with flavivirus infected patients (Cui et al., 2013; Schoeman et al., 2016; Melo et al., 2017, 2018), pronounced differences in metabolic and lipid profiles of serum were reported for ZIKV ($n = 35$) and control groups ($n = 44$) (Melo et al., 2017). In order to identify the lipid molecular species specifically altered by ZIKV infection, both ZIKV and control groups were symptomatic. More than 75% of the participants in both groups presented arthralgia, headache, exanthema, pruritus and prostration. Tingling and dormancy were observed in 58% of the ZIKV subjects against 25% in the control group. Among the clinical characteristics, only retro-orbital pain (ZIKV = 92% and control = 17%) and fever (ZIKV = 92% and control = 50%) were more frequently observed in ZIKV patients than controls (Pearson's chi squared p -value for retro-orbital pain and fever were < 0.01 and = 0.02, respectively). All subjects positive to ZIKV presented exanthema, pruritus, myalgia and prostration. Among the study participants, two and one participants from ZIKV and control groups, respectively, were positive when submitted to the RT-qPCR for detection of dengue types 1 to 4.

General Description of Lipidomics Data

Untargeted lipidomic analysis by liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry (LC-MS) was performed in both negative and positive electrospray ionization modes. Manual annotation of lipids based on their MS/MS spectra enabled us to unambiguously identify 246 lipid molecular species distributed into free fatty acids, glycerophospholipids, sphingolipids, triglycerides, cholesterol and cholesteryl esters (Figure 1A). These lipids were quantified using class-specific internal standards (Supplementary Table S1).

Statistical Analyses

Partial least squares discriminant analysis was performed with the lipidomics data obtained by LC-MS, revealing a clear separation between the ZIKV-infected individuals and controls (Figure 1B). We next constructed a volcano plot applying a significance level of p -value < 0.05 based on t -test and a FC value higher than 1.5 (Figure 2A). The volcano plot analysis revealed 18 lipid molecular species

TABLE 2 | Lipid molecular species altered in serum of ZIKV versus control patients as revealed by volcano plot analysis.

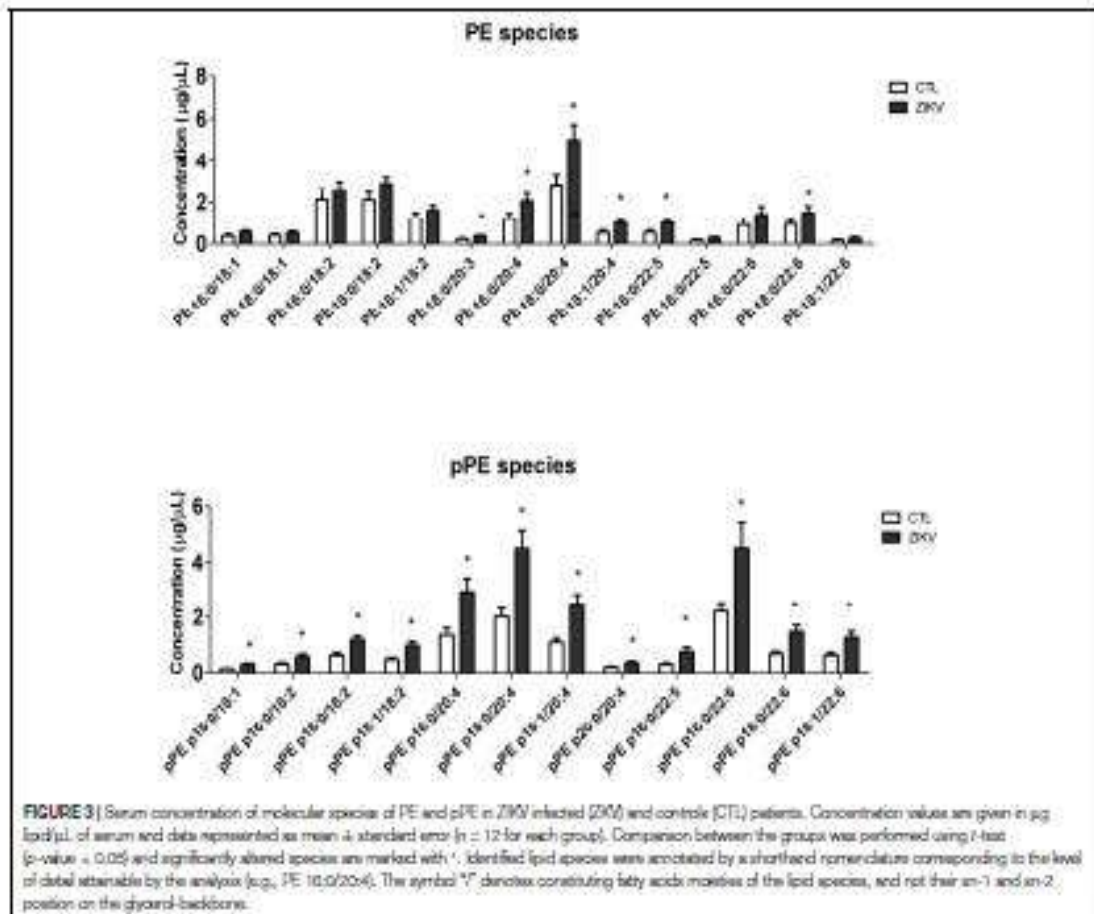
Lipid species*	FC	log2(FC)	raw.pval	-log10(p)
pPE p18:0/20:4	2.205	1.180	0.001	3.171
pPE p18:0/22:6	2.140	1.080	0.001	3.059
pPE p18:0/18:1	2.037	1.027	0.001	3.021
pPE p18:1/20:4	2.206	1.180	0.001	3.079
pPE p18:0/22:5	2.541	1.345	0.001	2.971
pPE p18:1/18:2	2.080	1.080	0.001	2.880
pPE p16:0/20:4	2.198	1.130	0.002	2.650
pPE p18:1/22:6	2.026	1.004	0.003	2.598
pPE p16:0/22:6	2.057	1.040	0.007	2.157
pPE p20:0/20:4	1.812	0.857	0.008	2.109
pPE p18:0/18:2	1.920	0.891	0.011	1.943
PE 18:0/22:6	1.695	0.752	0.013	1.881
PE 18:0/20:4	1.753	0.810	0.016	1.826
pPE p18:0/18:2	1.682	0.812	0.016	1.800
PE 18:0/22:6	1.844	0.893	0.027	1.575
PE 18:1/20:4	1.844	0.893	0.027	1.575
PE 18:0/20:3	1.625	0.700	0.026	1.441
PE 18:0/20:4	1.607	0.703	0.029	1.408

*Annotation of lipid: headgroup abbreviation followed by side-chain characteristics. For xy number of carbons (x) followed by number of double bonds (y). For plasmalogens pcy indicates the number of carbons and double bonds in the ether-linked vinyl chain, followed by the fatty acid chain characteristics. Identified lipid species were annotated by a shorthand nomenclature corresponding to the level of detail attainable by the analysis (e.g., PE 18:0/20:4). The symbol * denotes constituting fatty acids mixture of the lipid species, and not their sn -1 and sn -2 position on the glycerol backbone.

significantly increased in ZIKV-infected patients relative to the control group (Table 2). From these altered lipids, six species belonged to the subclass phosphatidylethanolamine (PE) and the other 12 were represented by surprisingly all plasmalogen-phosphatidylethanolamine (pPE) or plasmalogens identified in this study (Figure 3). As shown in Figure 2B, there were no significant differences between ZIKV and control groups in respect to total serum concentrations of PE, whereas total plasmalogens were significantly increased in ZIKV patients. Furthermore, the great majority of these altered phospholipids were linked to at least one chain of polyunsaturated fatty acids (fatty acid chains with two or more double bonds, Figure 3). Taken together, our findings highlight the importance of PE, mainly plasmalogens species linked to polyunsaturated fatty acids, as potential serum biomarkers of the ZIKV infection.

Receiver Operating Characteristic Curve Analysis

The fact that 9 out of 18 altered lipids were increased by 2 to 2.3 folds in the serum of ZIKV patients relative to controls prompted the evaluation of these lipids as possible biomarkers for ZIKA infection. For this purpose, we carried out a ROC curve analysis as a diagnostic test and calculated the AUC that expresses the accuracy of the test. As exemplified in Figure 4, pPE (p18:0/22:6) and pPE (p16:0/22:5) displayed increased concentrations in the serum of ZIKV patients relative to controls (p -value < 0.001) and



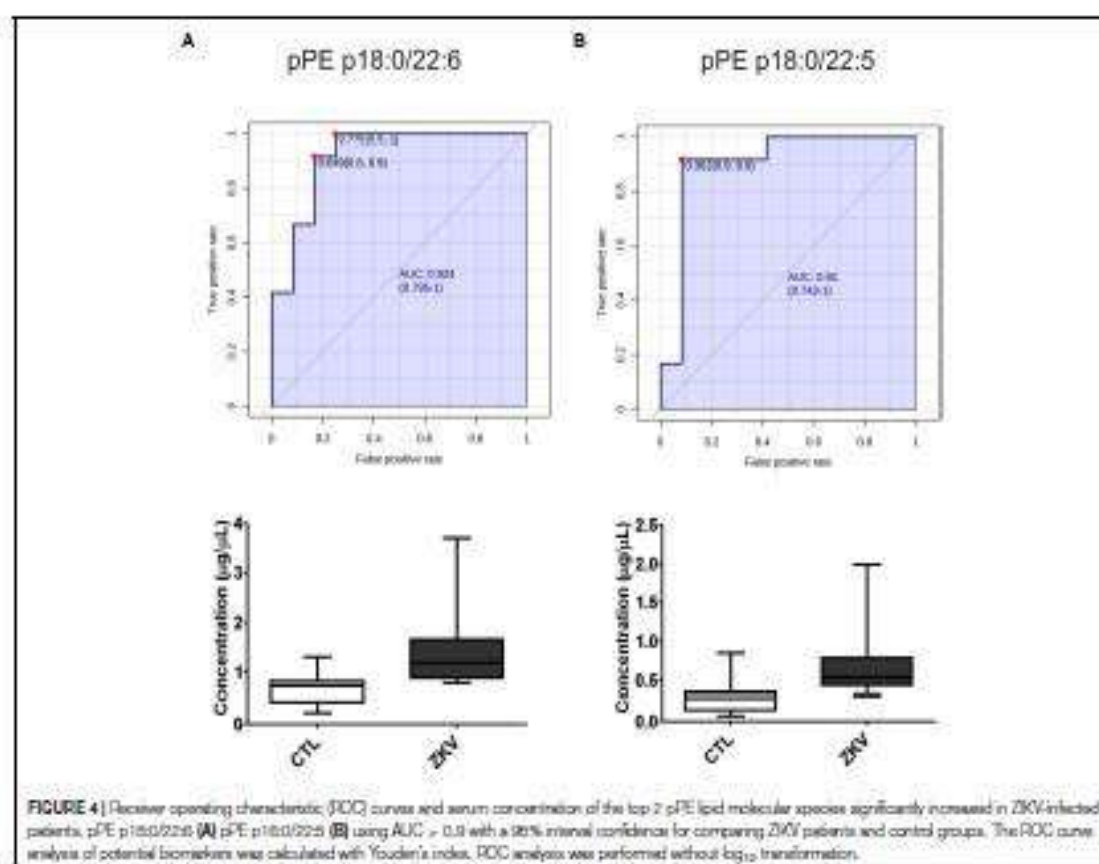
AUC values greater than 0.9. In total, our data revealed 12 lipid species that displayed AUC values higher than 0.8, 11 of these are pPE and one cholesterol ester linked to a 14:0 fatty acid chain (Supplementary Table S2), suggesting over 80% chance of these molecules correctly discriminate a ZIKV infected patient from the control group.

DISCUSSION

Our strategy in this study was to compare the serum lipid profile between ZIKV patients and symptomatic controls that presented virus-like symptoms as fever, arthralgia, headache, exanthema, myalgia and pruritus. Retro-orbital pain and fever were the only clinical symptoms that significantly distinguished ZIKV and control groups (Table 1). A recent study by Melo et al. (2017) showed that the differences in metabolic and lipid profiles in serum of ZIKV patients are so pronounced that they can be differentiated from a control group composed of both healthy and symptomatic subjects. Thus, by using symptomatic patients as control, we assume that lipid alterations

are largely related to ZIKV rather than any other viruses, and likely accounts for the heterogeneity between symptomatic and healthy subjects.

Alterations in lipid homeostasis have been associated with many viral infections (Meertens et al., 2012; Martin-Acebes et al., 2014; Richard et al., 2015; Carnec et al., 2016; Jordan and Randall, 2016). While most of the information about lipid metabolism of host cells and flavivirus come from *in vitro* experiments, there exist just a few, but relevant studies evidencing alterations in serum lipidome caused by flavivirus infection (Cui et al., 2013; Schoeman et al., 2016; Melo et al., 2017, 2018). Fortunately, one of these studies was performed with ZIKV using a metabolomics approach with direct infusion mass spectrometry and database search for ion characterization (Melo et al., 2017). The authors identified four phosphatidylinositol phosphates and one ganglioside as potential biomarkers of the serum lipidome in ZIKV infected subjects. Here, we provide complementary results by applying an untargeted LC-MS lipidomics approach, in which the identification is exclusively based on MS/MS spectra and internal standards are used for semi-quantification of the most abundant lipids. Our results reveal increased levels of



six PE and all twelve detected pPE or plasmalogens in serum of ZIKV patients relative to controls (Figures 2, 3). Increased levels of plasmalogens have been also detected in the serum of chronic HBV patients (Schoeman et al., 2016) as well as a strong enrichment of plasmalogens was noticed in the virion lipidome of human cytomegalovirus (Liu et al., 2011) and HIV (Brugger et al., 2006). Interestingly, among the altered phospholipid species found in our study, plasmalogens displayed the highest FC and AUC values (Table 2 and Supplementary Table S2) strongly implicating their elevated concentrations in ZIKV patients as potential diagnostic markers for the disease.

Plasmalogens are synthesized by peroxisomes and represent a unique class of ether-linked glycerophospholipids that contain a vinyl ether bond at the sn-1 position of the glycerol moiety (Fahy et al., 2005; Braverman and Moser, 2012). Virus-induced alterations in both plasmalogens levels and peroxisome activity have been described at the host cell level (Sato et al., 1990; Farooqui and Horrocks, 2003; Dixit et al., 2010; Odendall and Kagan, 2013; Martin-Acebes et al., 2014). In human hepatocarcinomas, extremely high levels of both pPE and plasmalogen-phosphatidylcholine (pPC), accounting for > 60% of total glycerophospholipids, were observed in cell lines persistently infected by HIV in comparison with < 12% in

non-HBV-related hepatocellular carcinomas (Sato et al., 1990). West Nile virus (WNV) infection alters the lipid metabolism of infected host cells, resulting in increased levels of pPE and pPC by 1.6 and 1.9 FC, respectively, compared to control cells (Martin-Acebes et al., 2014). It has been suggested that these flaviviruses use plasmalogens as preferred components to build their envelope. Recently, pPC was also shown to play a crucial role in influenza virus infection (Tanner et al., 2014). These authors demonstrated that either pharmacological interference of peroxisomal fatty acid β -oxidation or genetic ablation of ether lipid biosynthesis *in vitro* impaired influenza virus replication.

Indeed, there is a growing number of studies suggesting that peroxisomes are key players in antiviral signaling (Dixit et al., 2010; Odendall and Kagan, 2013). For instance, You et al. (2015) have shown that flaviviruses infection, such as by WNV and dengue virus (DENV), results in significant loss of peroxisomes in mammalian cells by capsid protein-dependent sequestration and/or degradation of the peroxisomal biogenesis factor Pex19 (You et al., 2015). More recently, it has been found that NS2A, a ZIKV protein, is targeted specifically to peroxisomal membranes (Coyaud et al., 2018). Consistently, these authors used skin fibroblast cell lines to demonstrate

that functional peroxisomes are required for efficient ZIKV replication. The observation that flaviviruses induce peroxisome-mediated lipid alterations in infected cells may explain the up-regulation of plasmalogen levels in serum lipidome of ZIKV-infected patients (Figure 3).

Plasmalogens are major constituents of neural membranes and are involved in many neural lipid-mediated processes such as membrane fusion, ion transport, reservoir for second messengers, cholesterol efflux and as antioxidants (Farooqui and Horrocks, 2001). Likewise, peroxisomal metabolism is crucial for proper brain development and function, and it is well known that pathological aberrations of the nervous system are prominent features in most peroxisomal disorders (Berger et al., 2016). To date, there exists no evidence for an increase in plasmalogen concentration in serum of ZIKV-infected subjects linked to neural membrane disturbance, nor for interaction of ZIKV with peroxisomes of neural cells. Since ZIKV has been involved in neonatal microcephaly and Guillain-Barré syndrome in adults (White et al., 2016), we can only speculate that the infection with ZIKV causes alterations in the nervous system. Nonetheless, it is known that plasmalogens are broadly distributed over brain, heart, kidney, skeletal muscle (Braverman and Moser, 2012). Without further experiments, we are unable to pinpoint which of these tissues might represent a potential source of plasmalogens detected in serum of ZIKV-infected patients.

Cholesterol, PS, and PE have been suggested as major lipids of flavivirus envelopes (Meertens et al., 2012; Richard et al., 2013; Martin-Acebes et al., 2016; Wewer and Khandelia, 2018). In addition, both PE and PS associated with virus particles are important sites for binding host cell receptors in DENV attachment and internalization (Perera-Lecoin et al., 2013; Carnoc et al., 2016) as well as TIM and TAM family members in permissive skin cells, during ZIKV infection (Hamel et al., 2015). PE is also associated with Ebola, DENV and WNV and plays a key role in TIM1-mediated virus entry (Richard et al., 2015). Interestingly, TIM1 is a cofactor universally expressed across placental cells and binds to PE during ZIKV infection (Tabata et al., 2016). Although we have not observed any alteration in PS and cholesterol concentrations, the level of several PE and plasmalogen species was significantly increased in ZIKV patients relative to controls (Table 2 and Figure 3).

Lipids are of central importance for enveloped viruses replication since they affect the generation and maintenance of cellular membrane curvature (Martin-Acebes et al., 2014), thereby affecting the virus entry into host cells by fusion of viral membranes with cellular membranes. As mentioned above, up-regulated plasmalogens were mostly esterified to either omega-3 or -6 polyunsaturated fatty acids such as oleic, arachidonic, docosapentaenoic and docosahexaenoic (DHA) acids (Table 2). Plasmalogens have been reported to possess very distinct physical properties than their diacyl counterparts (i.e., PE), in that they are considered highly fusogenic lipids (Glaser and Gross, 1995) and tend to form a more densely packed and thicker bilayer (Rog and Koivumäki, 2016). The increased abundance of plasmalogens attached to polyunsaturated fatty acids in the serum of ZIKV patients may have important

implications for viral vesicles fusion with cellular membranes as well as for their stability in the extracellular space. Moreover, polyunsaturated fatty acids linked to glycerophospholipids are substrates for the generation of soluble lipid mediators that participate in cell signaling either by inducing or resolving inflammation. For instance, several lipid mediators derived from the enzymatic oxidation of oleic acid and DHA have been recently implicated in immune status (Tam et al., 2013) and antiviral response (Morita et al., 2013) in mouse models of influenza virus infection.

Members of *Flaviviridae* family such as DENV, WNV and also ZIKV are enveloped viruses that hijack host cell lipids to build their particle envelopes. The alteration in lipid homeostasis of host cells is a viral strategy to create a proper environment for replication. Our results indicate that the concentrations of several lipid molecular species of PE (both PE and plasmalogens) linked to polyunsaturated fatty acids were increased in the serum of ZIKV-infected patients compared to controls. Of note, the association of all lipid molecular species of plasmalogens with ZIKV patients supports recent data evidencing the importance of these lipids for viral lifecycle (Tanner et al., 2014; Coyaud et al., 2018) and thus their potential application as diagnostic/prognostic markers. Our findings provide many insights for follow-up studies using host cells, in particular approaches to investigate lipid metabolic pathways, and their potential use as therapeutic targets for ZIKV infection.

ETHICS STATEMENT

The institutional review boards at the Instituto Gonçalo Moniz (Fiocruz-Bahia) approved the present study (CAAE: 1.100.349) and the subject provided written and informed consent prior to participation.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

AQ, AF, VA, MY, SM, and LA designed research. AQ, MY, ML, MG, JL, IX, FB, IP, HA, AF, DM, MF, NS performed the research. AQ, IP, MY, and GC analyzed data. AQ, IP, VA, MY, SM, and LA wrote the manuscript.

FUNDING

This work was supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq 440685/2016-8, CNPq 424094/2016-9), CAPES (88887.130716/2016-00), Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP 04.16.0060.00) and EU's Horizon 2020 Program through ZIKAlliance (Grant 734548). The activities of MY, IP, and SM were funded by FAPESP (CEPID-Redoxoma grant 13/07937-8). And the activities of AF were supported by the International Development Research Centre (IDRC) over the Grant 108411-001 and by the European Union's Horizon 2020 grant agreement ZikAction no. 734857.

AQ, MG, FB, and MY were funded by a post doc fellowship from CAPES (Brazilian Federal Agency for Support and Evaluation of Graduate Education within the Ministry of Education of Brazil) and IP by a Ph.D fellowship from Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP 2014/11556-2).

ACKNOWLEDGMENTS

We thank William Festuccia (Department of Physiology and Biophysics, University of São Paulo, Brazil) for reviewing the manuscript. We also thank Ester Sábino

(Institute of Tropical Medicine of São Paulo, University of São Paulo) for kindly provide her laboratory space for sample preparation and Ingra Claro (Institute of Tropical Medicine of São Paulo, University of São Paulo) for laboratory support.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

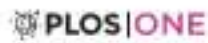
The Supplementary Material for this article can be found online at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.00753/full#supplementary-material>

REFERENCES

- Apte-Sengupta, S., Sirohi, D., and Kahn, R. I. (2014). Coupling of replication and assembly in flaviviruses. *Curr. Opin. Virol.* 9, 134–142. doi: 10.1016/j.coviro.2014.09.020
- Berges, I., Derringer, F., Forno-Peterson, S., and Krasn, M. (2016). Permeosomes in brain development and function. *Biochim. Biophys. Acta* 1863, 954–955.
- Brewer, N. E., and Moss, A. B. (2012). Functions of plasmalogens lipids in health and disease. *Biochim. Biophys. Acta* 1822, 1442–1452. doi: 10.1016/j.bba.2012.05.008
- Brugger, B., Claus, B., Haberkant, P., Leitzsch, L., Widand, F. T., and Krauslich, H. G. (2008). The HIV-1 protease: a raft with an unusual composition. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105, 2641–2646.
- Carnoc, X., Mouton, L., Déjancq, O., Perera-Lacort, M., Halimani, M. L., Ktara, I., et al. (2016). The phosphatidylserine and phosphatidylethanolamine receptor CD300a binds dengue virus and enhances infection. *J. Virol.* 90, 92–102. doi: 10.1128/JVI.01849-15
- Cheng, Y., Scalfin, D., Li, C., Caruso, L., Li, S., Bourque, G., et al. (2018). MetaboAnalyst 4.0: towards more transparent and integrative metabolomics analysis. *Nucleic Acids Res.* 46, W486–W496. doi: 10.1093/nar/gky510
- Coyaud, E., Radhakrishnan, C., Cheng, D. T., Gonçalves, J., Dyakov, B., Laurent, E., et al. (2018). Global interactomics uncovers extensive organellar targeting by Zika virus. *Mol. Cell Proteomics* 17, 2242–2255. doi: 10.1074/mcp.T118.000800
- Cui, L., Fan, Y. H., Kumar, Y., Xu, F., Ju, K., Oei, E. B., et al. (2015). Serum metabolome and lipidome changes in adult patients with primary dengue infection. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 9, e2373. doi: 10.1371/journal.pntd.0002373
- Dai, L., Song, J., Lu, X., Deng, Y. Q., Muroski, A. M., Cheng, Y., et al. (2016). Structure of the Zika virus envelope protein and its complex with a flavivirus broadly protective antibody. *Cell Host Microbe* 19, 696–704. doi: 10.1016/j.chom.2016.04.013
- Dixit, E., Bouhassira, S., Zhang, Y., Fan, A. S., Odenhall, C., Shum, H., et al. (2010). Permeosomes are signaling platforms for antiviral innate immunity. *Cell* 141, 668–681. doi: 10.1016/j.cell.2010.04.018
- Fahy, E., Subramaniam, S., Brown, H. A., Glass, C. E., Merrill, A. H. Jr., Murphy, R. C., et al. (2009). A comprehensive classification system for lipids. *J. Lipid Res.* 46, 839–861.
- Faria, N. R., Quick, J., Claro, I. M., Thang, I., de Jesus, J. G., Giovanetti, M., et al. (2017). Establishment and cryptic transmission of Zika virus in Brazil and the Americas. *Nature* 546, 406–410. doi: 10.1038/nature22801
- Ferreira, A. A., and Horrocks, L. A. (2001). Plasmalogens: workhorse lipids of membranes in normal and injured neurons and glia. *Neuroscience* 107, 232–245.
- Glasser, P. E., and Ginn, R. W. (1995). Rapid plasmalogenethanolamine-selective fusion of membrane bilayers catalyzed by an isoform of glyceroldehyde-3-phosphate dehydrogenase: discrimination between glycolytic and lipogenic roles of individual isoforms. *Biochemistry* 34, 12193–12203.
- Hamed, R., DeJancq, O., Wicht, S., Bichariyong, P., Noyet, A., Laplanche, N., et al. (2015). Biology of Zika virus infection in human skin cells. *J. Virol.* 89, 8880–8890. doi: 10.1128/JVI.00354-15
- Hart, C., and Lehmann, V. (2015). Ultrastructure of the replication sites of positive-strand RNA viruses. *Virology* 479–480, 438–453. doi: 10.1016/j.virol.2015.02.029
- Jordan, T. X., and Randall, G. (2016). Flavivirus modulation of cellular metabolism. *Curr. Opin. Virol.* 19, 7–10. doi: 10.1016/j.coviro.2016.05.007
- Kaufusi, P. H., Kelley, J. F., Yanagihara, H., and Naranjo, V. R. (2014). Induction of endoplasmic reticulum-derived replication competent membrane structures by West Nile virus non-structural protein 4B. *PLoS One* 9, e84040. doi: 10.1371/journal.pone.0084040
- Kato, G., Chang, G. J., Tsuchiya, K. R., Karabatsos, N., and Cropp, C. B. (1998). Phylogeny of the genus *Flavivirus*. *J. Virol.* 72, 73–83.
- Lancioti, R. S., Koury, O. L., Laven, J. J., Pandla, A. J., Velaz, J. O., Lambert, A. J., et al. (2007). Chikungunya virus in US travelers returning from India, 2006. *Emerg. Infect. Dis.* 13, 764–767.
- Lancioti, R. S., Koury, O. L., Laven, J. J., Velaz, J. O., Lambert, A. J., Johnson, A. J., et al. (2008). Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic. *Yap State, Micronesia, 2007*. *Emerg. Infect. Dis.* 14, 1232–1239. doi: 10.3201/e1408.080287
- Liu, S. T., Sharm, Friling, R., Ivanova, P., Milne, S. B., Myers, D. S., Rabinowitz, J. D., et al. (2011). Synaptic vesicle-like lipidome of human cytomegalovirus virions reveals a role for SMARF1 machinery in virion egress. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108, 12869–12874. doi: 10.1073/pnas.1109796108
- Malone, B. W., Herron, J., Callahan, M. V., Glaspoole-Malone, J., Damodaran, L., Schneider, A., et al. (2016). Zika virus: medical countermeasures development challenges. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 10, e0004530. doi: 10.1371/journal.pntd.0004530
- Martin-Archez, M. A., Morero-Ramos, T., Blazquez, A. B., Casas, J., Facinano-Bonetti, E., Solís, F., et al. (2014). The composition of West Nile virus lipid envelope reveals a role of sphingolipid metabolism in flavivirus biogenesis. *J. Virol.* 88, 12041–12054. doi: 10.1128/JVI.02061-14
- Martin-Archez, M. A., Vazquez-Cabrera, A., and Saiz, J. C. (2016). Lipids and flavivirus: present and future perspectives for the control of dengue, Zika, and West Nile viruses. *Prog. Lipid Res.* 64, 123–137. doi: 10.1016/j.plipres.2016.09.005
- Matyush, V., Lütjich, G., Kerschbaum, T. V., Shevchenko, A., and Schwedde, D. (2008). Lipid extraction by methyl-tert-butyl ether for high-throughput lipidomics. *J. Lipid Res.* 49, 1137–1146. doi: 10.1194/jlr.D700045-JLR200
- Mouton, L., Carnoc, X., Lacom, M. P., Radhakrishnan, C., Lew, E., et al. (2012). The TIM and TAM families of phosphatidylserine receptors modulate dengue virus entry. *Cell Host Microbe* 12, 544–557. doi: 10.1016/j.chom.2012.08.009
- Melo, C., Delafiori, J., Dabaja, M. Z., de Oliveira, D. N., Guerin, T. M., Colombo, T. E., et al. (2019). The role of lipids in the replication, maintenance and complications of dengue virus infection. *Sci. Rep.* 9, 11826. doi: 10.1038/s41598-019-30385-z
- Melo, C., Delafiori, J., de Oliveira, D. N., Guerin, T. M., Esteves, C. Z., Lima, E. D., et al. (2017). Serum metabolic alterations upon Zika infection. *Front. Microbiol.* 8, 1954. doi: 10.3389/fmicb.2017.01954
- Milner, S., Kautner, S., Krizna-Locke, J., Butler, S., and Baranichuk, R. (2007). The non-structural protein 4A of dengue virus is an integral membrane protein inducing membrane alterations in a 2K-regulated manner. *J. Biol. Chem.* 282, 4873–4882.
- Morita, M., Kuba, K., Ichikawa, A., Nakamura, M., Katsura, T., Iwamoto, T., et al. (2013). The lipid mediator prostaglandin D₂ inhibits influenza virus replication and improves severe influenza. *Cell* 153, 113–125. doi: 10.1016/j.cell.2013.02.027

SUBPROJETO 2 – ARTIGO 7

GOES, Jaqueline; LUZ, Wallau; G.; **LIMA, M.M.** et al. *Persistence of Chikungunya ECSA genotype and local outbreak in an upper medium class neighborhood in Northeast Brazil.* **PloS one**, v. 15, n. 1, p. e0226098, 2020.



RESEARCH ARTICLE

Persistence of chikungunya ECSA genotype and local outbreak in an upper medium class neighborhood in Northeast Brazil

Jaqueline Goes de Jesus^{1*}, Gabriel da Luz Wallau^{2*}, Maricela Lima Maia^{3,4}, Jolison Xavier⁵, Maria Aparecida Oliveira Lima², Vagner Fonseca^{5,6}, Alvaro Salgado de Abreu⁵, Stephane Fraga de Oliveira Tosta⁵, Heleneide Ramos do Amaral³, Italo Andrade Barbosa Lima⁷, Paloma Viana Silva³, Daiana Carlos dos Santos¹, Aline Sousa de Oliveira¹, Siane Campos de Souza¹, Melissa Barreto Falcão⁴, Erenilde Cerqueira¹, Laia Ceschini Machado⁷, Mariana Carolina Sobral⁸, Tatiana Maria Teodoro Rezende⁷, Mylena Ribeiro Pereira⁷, Felicidade Mota Pereira⁸, Zulmara Pereira Gusmão Maia⁸, Rafael Freitas de Oliveira Franca⁷, André Luiz de Abreu⁸, Carlos Frederico Campelo de Albuquerque e Melo¹⁰, Nuno Rodrigues Faria¹¹, Rivaldo Venâncio da Cunha^{12,13}, Marta Giovanetti^{5,14*}, Luiz Carlos Junior Alcantara^{5,14*}



OPEN ACCESS

Citation: Goes de Jesus J, da Luz Wallau G, Lima Maia M, Xavier J, Oliveira Lima MA, Fonseca V, et al. (2020) Persistence of chikungunya ECSA genotype and local outbreak in an upper medium class neighborhood in Northeast Brazil. *PLoS ONE* 15(1): e0226098. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226098>

Editor: Massimo Ciccozzi, university of campania biomedical, ITALY

Received: October 18, 2019

Accepted: November 18, 2019

Published: January 8, 2020

Peer Review History: PLOS recognizes the benefits of transparency in the peer review process; therefore, we enable the publication of all of the content of peer review and author responses alongside final, published articles. The editorial history of this article is available here: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226098>

Copyright: © 2020 Goes de Jesus et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: Data are available in S1 Table and sequences deposited in GenBank

1 Laboratório de Patologia Experimental, Instituto Gonçalo Moniz, Fundação Oswaldo Cruz, Salvador, Brazil, **2** Departamento de Entomologia, Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, Brazil, **3** Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Brazil, **4** Secretaria de Saúde de Feira de Santana, Ministério da Saúde, Feira de Santana, Brazil, **5** Laboratório de Genética Celular e Molecular, ICB, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, **6** KwaZulu-Natal Research Innovation and Sequencing Platform (KRISIP), College of Health Sciences, University of KwaZulu-Natal, Durban, South Africa, **7** Departamento de Virologia, Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, Brazil, **8** Laboratório Central de Saúde Pública da Bahia, Salvador, Bahia, Brazil, **9** Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública, Ministério da Saúde, Brasília, Brazil, **10** Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde—(OPAS/OMS), Brasília, Brazil, **11** Department of Zoology, University of Oxford, Oxford, United Kingdom, **12** Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil, **13** Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil, **14** Laboratório de Flavivírus, Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brazil

✉ These authors contributed equally to this work.

* luiz.alcantara@ioc.fiocruz.br (LJA); giowanetti.marta@gmail.com (GM)

Abstract

The chikungunya East/Central/South/Africa virus lineage (CHIKV-ECSA) was first detected in Brazil in the municipality of Feira de Santana (FS) by mid 2014. Following that, a large number of CHIKV cases have been notified in FS, which is the second-most populous city in Bahia state, northeastern Brazil, and plays an important role on the spread to other Brazilian states due to climate conditions and the abundance of competent vectors. To better understand CHIKV dynamics in Bahia state, we generated 5 complete genome sequences from a local outbreak raised in *Somaria Brasil*, a neighbourhood in FS, by next-generation sequencing using Illumina approach. Phylogenetic reconstructions revealed that the new FS genomes belongs to the ECSA genotype and falls within a single strongly supported monophyletic clade that includes other older CHIKV sequences from the same location, suggesting the persistence of the virus during distinct epidemic seasons. We also performed minor variants analysis and found a small number of SNPs per sample (b_29L and e_45SR = 16 SNPs, c_29SR = 29 and d_45PL and f_45FL = 21 SNPs). Out of the 93 SNPs found, 71 are

under accession numbers: MK159123, MK159124, MK159125, MK159126, MK159127.

Funding: This research was funded by CNPq grant number (440885/2016-8), CAPES grant number (00007/130716/2016-00), and by Horizon 2020 (PRES-005-FEX-17-4-2-33) to L.G.A. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing interests: The authors have declared that no competing interests exist.

synonymous, 21 are non-synonymous and one generated a stop codon. Although these mutations are not related to the increase of virus replication and/or infectivity, some SNPs were found in non-structural proteins which may have an effect on viral evasion from the mammal immunological system. These findings reinforce the need of further studies on those variants and of continued genomic surveillance strategies to track viral adaptations and to monitor CHIKV epidemics for improved public health control.

Introduction

Chikungunya virus (CHIKV) has emerged as a public health concern posing significant issues in tropical and subtropical regions [1]. Since 2004 it has been globally spread causing epidemics in more than 100 countries [2]. Four CHIKV lineages have been described: West African; East/Central/South African (ECSA); Asian; Indian Ocean Lineage (IOL) [3–5].

In Brazil, the first autochthonous cases of CHIKV were confirmed in September 2014 in the municipality of Otupoque, Amapá state in the North of Brazil, followed by the city of Feira de Santana (FS), Bahia state in Northeast region, around seven days later [6]. By that time genomic analysis have identified the East/Central/South Africa (ECSA) genotype for the first time in the Americas in FS and the municipality stood out in national scenario due to the large number of reported cases of the disease [6, 7].

Feira de Santana is an important city in Bahia state as it is surrounded by the biggest road network of the state, where thousands of passengers and freight vehicles transit, allowing a large flow of people favoring the introduction and spread of new viruses into the city and to other Brazilian regions [8].

Since 2014, Bahia state and specially FS have reported a large number of positive cases for CHIKV infection. Released data from the Brazilian surveillance health system (SINAN) indicates that Bahia state reported a total of 50,880 cases of chikungunya fever in 2016 and 1,524 chikungunya cases, until the 2019 25th epidemiological week (June/2019). In the same period FS reported more than 300 cases per 100 thousand habitants [9–10].

Here we report evidence of the persistence of CHIKV ECSA genotype and shed light on a localized outbreak raised in the *Serraria Brasil*, an upper medium class neighborhood within FS in 2016, two years after the lineage introduction in the locality.

Materials and methods

Ethics statement

This project was supported by the Pan American World Health Organization (PAHO) and the Brazilian Ministry of Health (MoH) as part of the arboviral genomic surveillance efforts of the ZIBRA project (www.zibra-project.org). Ethical approval for human samples was obtained from the Ethical Committee for Research from Gonçalo Moniz Institute, Oswaldo Cruz Foundation (IGM/Fiocruz/BA) under CEP/CAAE number 452/97/15.8.0000.0040 and from Ethics Review Committee from PAHO under the reference number 2016-08-0029. Samples were provided for research and surveillance purposes within the terms of Resolution 510/2016 of CONEP (National Ethical Committee for Research, Ministry of Health).

Study population

Blood, urine and saliva samples ($n = 69$) from 27 patients presenting symptoms consistent with CHIKV infection from *Serraria Brasil* neighborhood were collected by active surveillance

of Municipal Health Surveillance Division of Feira de Santana (SMS-SVS). Molecular diagnostics (RT-qPCR) were performed by Virology and Experimental Therapy Laboratory (LaVite) at Aggeu Magalhães Institute (IAM) FIOCRUZ-PE and specific CHIKV-IgG and CHIKV-IgM serology (ELISA- Enzyme Linked Immunosorbent Assay) by Bahia state central public laboratory (LACEN-BA).

Viral RNA isolation and sample processing

Viral RNA was extracted from 200 μ l. of clinical samples using QIAmp Viral RNA Minikit (Qiagen) according to the manufacturer's instructions. Samples were linked to a digital record and clinical information such as date of onset of symptoms, sample collection date, municipality, state of residence, age, sex, residence type and when available, travel history.

Real-time quantitative PCR

Reverse transcription quantitative real-time PCR (RT-qPCR) was performed on samples using the GoTaq[®] Probe 1-Step RT-qPCR System (PROMEGA) on an ABI7500 Real Time PCR Systems or a QuantStudio[®] Systems (Applied Biosystems). The CHIKV non-structural protein 1 (nsP1) was targeted using the primers CHIKV-F (5' to 3': AAAGGGCAACTCAGCTT CAC), CHIKV-R (5' to 3': GGCTGGGCTCATCGTTATTC) and the CHIKV Probe (5' to 3': FAM-CGCTGTATACAGTGGTTTGGTGTG), based on an assay previously described [11]. Thermocycler conditions consisted of reverse transcription at 45°C for 15 mins followed by RT inactivation at 95°C for 2 mins, 40 cycles of denaturation at 95°C for 15 sec and annealing at 60°C for 1min.

cDNA synthesis

All positive samples were submitted to a cDNA synthesis protocol using ProtoScript[®] First Strand Sequencing kit (New England Biolabs—NEB). Then, a multiplex PCR was conducted using Q5 High Fidelity Hot-Start DNA Polymerase (New England Biolabs) and a sequencing primer scheme (divided into two separated pools) designed using Primal Scheme online tool to amplify 400 bp overlapping amplicons of the CHIKV complete genome (<http://primal.scrippsproject.org>) [12]. All samples were subjected to 45 cycles of PCR using the thermocycling conditions of [12]. PCR products were purified using a 1x SPRI bead cleanup (Ampure XP Beads Agencourt) and concentrations were measured using a Qubit dsDNA High Sensitivity kit on a Qubit 3.0 fluorimeter (ThermoFisher).

Library prep sequencing for Illumina

Nextera XT Sample Preparation Kit (Illumina Inc) was used to construct a DNA library for each sample using dual barcodes. After library preparation each samples was quantified using Nebnext[®] library quant (Illumina Inc) following the manufacturer's instructions and normalized in equimolar quantities before loading the flow cell. The library was deep-sequenced using the MiSeq Illumina platform with 2 x 75 bp paired ends, which allow us to sequence both ends of a fragment and generate high-quality alignable sequence. Paired-end reads were demultiplexed using the vendor software from Illumina. Demultiplexed Illumina reads were mapped on the KP164568 reference genome using Bowtie2 program with default parameters (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC332381/>). Final consensus sequences were generated by the consensus module of Integrate Genome Viewer (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3346182/>) with a 5x minimum read depth coverage. Any nucleotide variants on the primer regions were removed from the final consensus sequence.

Phylogenetic analysis

Nucleotide sequences recovered from this study were first subtyped using Chikungunya TypingTool (<https://genome.duke.edu/app/typingtool/chikungunya/>) [13]. New sequences were aligned to complete or almost complete reference CHIKV genome sequences (>10,000 bp), retrieved from National Center for Biotechnology Information (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) covering all four existing lineages. Reference strains were included based on the following criteria: 1) published in peer-reviewed journals; 2) no uncertainty regarding lineage assignment of each sequence; 3) non-recombinant classification using RDP4 recombination detection software. Alignment was performed using MAFFT online program [14] and manually edited by using AliView [15]. A maximum likelihood phylogeny was reconstructed from the concatenated dataset ($n = 225$) using IQ-TREE 1.6.8 software under the HKY nucleotide substitution model with 4 gamma categories (HKY+4G) which was inferred in jModelTest as the best fitting model [16]. Statistical robustness of tree topology was inspected using 100 bootstrap replicates [17]; bootstrap value >90% was considered statistically significant. From the ML generated using the concatenated dataset we selected all ECSA taxa from Brazil (ECSA-BR dataset) ($n = 36$) samples in different states Alagoas $n = 25$; Bahia $n = 5$; Paraíba $n = 2$; Pernambuco $n = 1$; Rio de Janeiro $n = 2$; Sergipe $n = 1$.

Molecular clock phylogenetic analysis

In order to investigate the temporal signal in our CHIKV-ECSA dataset, we regressed root-to-tip genetic distances from this ML tree against sample collection dates using TempEst v 1.5.1 [18]. The ML phylogeny was used as a starting tree for Bayesian time-scaled phylogenetic analysis using BEAST 1.10.2 [19]. In the Bayesian analyses, we used an HKY+4G substitution model with a Bayesian skygrid coalescent model with 20 grid points [20]. We computed MCMC duplicate runs of 50 million states each, sampling every 5,000 steps for the ECSA-BR dataset. Convergence of MCMC chains was checked using Tracer v.1.7.1 [21]. Maximum clade trees were summarized from the MCMC samples using TreeAnnotator after discarding 10% as burn-in.

Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) analysis

Minority variants analysis. SAMtools and bcftools packages (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19505943>, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3198575/>) were used to perform variant calling on .bam files using the parameters "mpileup -B -d 50000" and "call -O b -v -c -" respectively. Additionally, VCFtools (<https://academic.oup.com/bioinformatics/article/27/15/21156/402296>) was used to annotate the variants with the following parameters (—filter Qual = 20/MinDP = 200/SnpGap = 20). Finally, we used SnpEff [22] on the .vcf file to gather further insights on the effects of the SNPs found.

Results

Sample collection, qRT-PCR screening and sequencing

The study group was composed by 27 patients, 74% ($n = 20$) female and 26% ($n = 7$) male individuals, who exhibited CHIKV symptoms as intense polyarthralgia with impaired walking ($n = 27$), myalgia ($n = 27$), headache ($n = 27$), fever ($n = 25$), backache ($n = 24$), exanthema ($n = 22$), conjunctivitis ($n = 17$), retro-orbital pain ($n = 16$), nausea ($n = 15$) and vomiting ($n = 14$) (S1 Table).

The 69 clinical samples collected were typed as blood (serum or plasma, $n = 27$), urine ($n = 21$) and saliva ($n = 21$). CHIKV IgM serology was positive for 17 cases (73.91%, S1

Table 1. Epidemiological data associated with isolates analysed in this study.

ID	Sample	Host	State	Municipality	Collection date	Sex	Age
FS144	Blood (plasma)	Human	BA	Feira de Santana	2016/10/05	M	32
FS144	Blood (serum)	Human	BA	Feira de Santana	2016/10/05	M	32
FS160	Blood (plasma)	Human	BA	Feira de Santana	2016/10/13	F	60
FS160	Blood (serum)	Human	BA	Feira de Santana	2016/10/13	F	60
FS160	Saliva	Human	ES	Feira de Santana	2016/10/13	F	60

ID = Project identifier; Sample = sample type; Host = Host species; Collection Date = Date of sample collection.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226098.t001>

Table.), in two (11,76%) of those was possible to identify the presence of the virus genomic RNA through RT-qPCR on different cellular compartments (urine, blood and saliva). Samples tested by RT-qPCR showed cycle threshold values (Ct) ranging from 25,0 to 33,0 (Table 1). Median of RT-qPCR Ct for positive samples was 28,0, and was lower in blood (Ct 25, range: 25,0 to 28,0) than in urine (Ct 28,0) or saliva (Ct 33,0).

Phylogenetic and molecular clock inference

To investigate and to better understand the diversity of CHIKV in some of most affected municipalities in Bahia state, we generated 5 CHIKV near-complete genomes (coverage range 88,90%-99,82%, mean = 97,4%) (Table 2) using next-generation sequencing technologies. A regression of genetic divergence from root to tip against sampling dates confirmed sufficient temporal signal ($r^2 = 0.80$). Phylogenetic analysis indicates that new generated sequences belong to the ECSA genotype (S1 Fig) which was detected for the first time in 2014 in Feira de Santana in the Bahia state. ML and Bayesian phylogenetic analyses revealed that the ECSA sequences from Serraria Brasil neighbourhood form a single well supported clade (bootstrap support = 1.0; posterior probability support = 1.0) (Fig 1). We estimated the date of the most recent common ancestor (tMRCA) of the Feira de Santana Clade to be around Mid-May 2016 (95% Bayesian credible intervals, BCI: June 2015 – February 2016, Fig 1), suggesting a local persistence of the virus in Feira de Santana across a period of 2 years during distinct epidemic seasons.

Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs)

We found a small number of SNPs per sample varying from 16 to 21 (b_29L and c_45SR = 16 SNPs, c_29SR = 29 and d_45PL and f_45PL = 21 SNPs). 71 out of 93 SNPs found are synonymous, 21 are non-synonymous and one generate a stop codon (Fig 2). Interestingly, 41 of all 93 SNPs detected are minor variants, that are supported by a substantial amount of reads but

Table 2. Statistics for the 5 new CHIKV sequences generated in this study.

ID	Accession Number	Average Coverage Depth	Coverage Breadth (%)	Mapped million reads on KP16568 reference genome	Ct value
FS160	MK159123	7646,74	99,26	1,794,160	28,0
FS160	MK159124	16673,25	99,37	3,015,895	25,0
FS144	MK159125	13284,30	99,69	1,314,812	28,0
FS144	MK159126	13316,89	99,82	1,368,027	28,0
FS144	MK159127	13049,04	88,90	2,090,402	33,0

Numbers correspond to coverage depth, coverage breadth and quantity of reads mapped on reference genome. ID = study identifier; Accession number = NCBI accession number; Ct = RT-qPCR quantification cycle threshold value.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226098.t002>

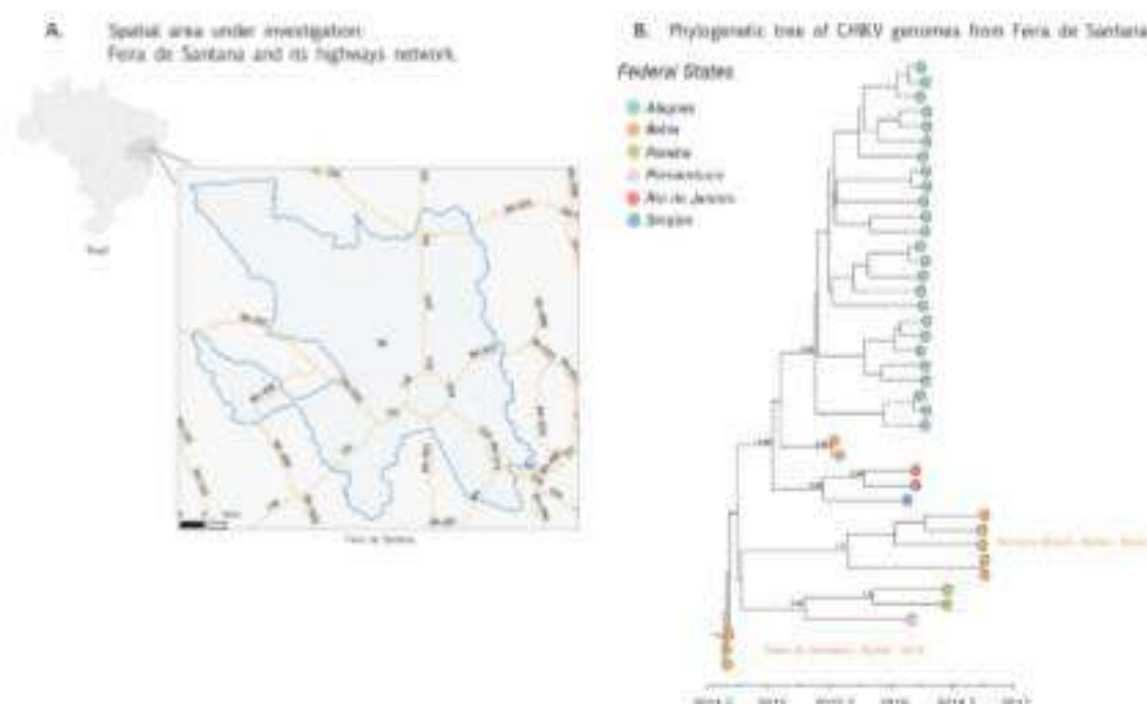


Fig 1. Phylogenetic analysis of chikungunya virus human samples from Feira de Santana, Bahia, Brazil. The municipality of Feira de Santana (FS) is located at a confluence of national highways. In A, federal highways BR-116 and BR-324 are shown in FS area. The BR-116 is the second longest highway in Brazil, it comprises 4,490 kilometers (2,790 mi) connecting Fortaleza (Ceará), one of the largest Northeast Brazil metropolises, to the southern city of Jaguariá, (Rio Grande do Sul), in the border with Uruguay. The BR-324 begins in Ilhéus (Maranhão) and ends in Salvador, where it plays an important role in connecting the road junction in FS to the capital, making it one of the main highways in the state. In B, new generated sequences belong to CHIKV-ECSA genotype and is clustered in a single strongly supported monophyletic clade that includes older FS sequences (bootstrap support = 98%) (orange).

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226008.g001>

in a lower proportion compared with the reference nucleotide (S2 Fig). Eight of these correspond to non-synonymous changes.

Discussion

In this study, by performing Illumina approach sequencing, we generated 5 new CHIKV near-complete genomic sequences from 2016, collected in a neighbourhood in the municipality of Feira de Santana, Bahia state.

Our phylogenetic analysis showed that the novel genomes belong to ECSA genotype corroborating with previous studies [7, 23]. Although CHIKV is related to explosive outbreaks around the world [24–25], here we report a small local outbreak in *Serraria Brasil*, an upper medium class neighbourhood within FS.

Despite of the raising of outbreaks by new introductions of the virus into populations, our analysis shows that the novel sequences do not represent a re-introduction of the CHIKV into FS but confirm the basal circulation of the virus and its re-emergence in a local and susceptible population of FS, evidencing the persistence of the ECSA genotype in the region two years after its introduction.

The new genomes reported here were obtained from different cellular compartments of two CHIKV infected patients (Table 1). As reported in a previous study, blood, saliva and urine may also be used for the diagnosis of CHIKV infection, and the chances of detection are

All 27 patients sampled in this study exhibited compatible symptoms for CHIKV infection. Taken together, these findings corroborate to other studies that demonstrate that 70% of CHIKV infection cases are symptomatic, since the virus rate of attack is high [27–28]. The difference of positive results between ELISA and RT-qPCR techniques is justified by the lack of time from the onset of symptoms and collection date performed, since the viremic peak—that would be detected by RT-qPCR—occurs in first days of infection [29, 33] unlike IgM antibodies levels that can be detected early as 5 days of infection up to 2 months [22, 29–31].

Localized outbreaks have been reported in other locations like the two small villages from Ravenna in Italy in 2009 [32] and more recently in Couton neighbourhood of the city of Salvador, Bahia state, Brazil [33]. These outbreaks were related to high density of the mosquitoes, such as *Aedes albopictus* in the first study and *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* in the second, although no CHIKV infected mosquito was reported. According to epidemiological surveillance data from *Aedes aegypti* Rapid Index Survey (LIRAs), the house index (HI) in FS was 2.27% in 2016 and 1.39% in 2017 [34]. The HI related to the infestation rates of *Aedes aegypti* mosquito [35] and provides qualified information for the municipalities to deploy arbovirus prevention and control strategies. According to Ministry of Health, HI values above 1% indicates risk of epidemics, thus, in 2016 FS was at risk of transmission of dengue and other arbovirus infections such as CHIKV [36] and may have had an impact on this outbreak.

The strategic location of the FS, at a road junction (Fig 1), where there is an intense movement of people from all Brazilian regions including other northeast cities, may further the circulation of infected patients or of subjects in the incubation period of arboviruses (DENV, CHIKV, ZIKV), that allied to climatic conditions and the density of *Aedes* mosquitoes [7], may contribute to virus dispersion within the region and beyond.

CHIKV infection in FS was characterized by two distinct epidemic waves (S3 Fig), the first one took place 3 months after the virus introduction by a returning traveller in 2014 and the second wave occurred in 2015 between 4th and 11th epidemiological weeks. Climate conditions and the HI related factors may have contributed for this epidemiological behaviour of CHIKV in FS. When the virus was introduced in July 2014, the climate conditions did not favor the reproduction and dispersion of *Aedes* mosquitoes (vector), although the population was immunologically susceptible [37]. On the other hand, a second epidemic wave occurred in a rain-intermittent period that contributes to urban and dwelling water accumulation and may have favored vector proliferation and expansion of infection. Also, the sub-notification of CHIKV cases by health care services may have masked the real range of the epidemic between the two waves [27,38].

The first epidemic wave initiated in George Americo neighborhood which reported the first cases of CHIKV in FS. That location represents the epicenter of the 2014 epidemic from where the infection expanded to surrounding neighborhoods [39]. Historically, the George Americo neighborhood is characterized by the low social status of its residents and by precarious sanitary conditions that might have favored the rapid dispersion of the CHIKV infection.

In contrast, Serraria Brasil neighborhood is placed far from the epicenter and is located in a region with better sanitary and environmental conditions since water supply and garbage collection services are provided more frequently by public services. We observed that along 2014 and 2015, the epidemic waves affected peripheral and more populous neighborhoods, while in 2016, when the epidemic has ceased, the reported cases predominate in less vulnerable neighborhoods, such as Serraria Brasil, where there was still susceptible population.

Regarding SNPs found in our analysis, previous studies have reported the occurrence of CHIKV mutations that modified its adaption to mosquito vectors such E1-A226V mutation, that increase IOL strain replication rate in *Aedes albopictus* [40–42]. We performed protein alignments to investigate the presence of the A226V (E1 protein) on the novel sequences

generate in our study but we did not observe it. Also, the non-synonymous SNPs found here are not related to any known CHIKV mutations that increase the virus replication and/or infectivity in vector or mammalian hosts. However, several non-synonymous mutations, both fixed and minor variant, were found in non-structural proteins which may have an effect on viral evasion from the mammal immunological system as reported by others [43–45]. These findings reinforce the need of further studies and continuous genomic surveillance to track viral adaptations and to identify main sources of transmission for improved public health actions, especially regarding vector control once the increase of mosquito-borne diseases is associated to the occurrence of their competent vectors in conjunction with adequate climate conditions [46].

In addition, genomic surveillance is a powerful tool to monitor virus adaptation to mosquito vectors, making possible the study of CHIKV fitness and evolution in mosquito populations, foretelling increase in viral infectivity and the risk of its emergence [47]. Also, by using complete or near complete viral genomes, spatial-temporal analysis can be performed to infer viruses introduction and dispersion events in the past. This approach was employed in previous studies and have shown evidences of cryptic transmission of arboviruses such as Zika, dengue and chikungunya before the first case detection [48–50].

On this way the combination of genomic surveillance with established surveillance strategies can be employed to help health laboratories in monitoring circulating viruses and to predict upcoming outbreaks heading public health actions such as the reorganization of the health care network, the implementation of health education actions, social mobilization and vector control [51].

Together, our results indicate the persistence of CHIKV HC5A lineage in the municipality of Feira de Santana and shed light to the risk of rise of a new localized outbreak. Our findings reinforce the need of continuous genomic surveillance strategies and further studies on minor variants to track viral adaptations and to improve our understanding about CHIKV circulation in FS and to prevent new epidemics.

Supporting information

S1 Fig. Maximum-likelihood phylogenetic tree.
(TIF)

S2 Fig. Chikungunya virus genetic statistics.
(TIFF)

S3 Fig. Chikungunya notified cases by epidemiological week (SE) in Feira de Santana-BA, 2014–2016.
(TIF)

S1 Table. Clinical data of cases included in the study.
(PDF)

Acknowledgments

The authors thank all personnel from Health Surveillance System from Bahia that coordinated surveillance and helped with data collection and assembly. They also thank the ZIBRA2 project, the Brazilian Ministry of Health (SVS-MS), the Pan American Organization (OPAS) and the Virology and Experimental Therapy Laboratory (LaVite) at Aggeu Magalhães Institute (IAM) FIOCRUZ-PE that helped with laboratory and genome sequencing protocols.

Author Contributions

Conceptualization: Jaqueline Goes de Jesus, Mariana Carolina Sobral, Rivaldo Venâncio da Cunha, Marta Giovanetti, Luiz Carlos Junior Alcantara.

Data curation: Jaqueline Goes de Jesus, Maricélia Lima Maia, Vagner Fonseca, Alvaro Salgado de Abreu, Heleneide Ramos do Amaral, Siane Campos de Souza, Melissa Barreto Falcão, Erenilde Cerqueira, Tatiana Maria Teodoro Rezende, Mylena Ribeiro Pereira, Felicidade Mota Pereira, Zainara Pereira Gusmão Maia, Rafael Freitas de Oliveira França, André Luiz de Abreu, Nuno Rodrigues Faria, Rivaldo Venâncio da Cunha, Marta Giovanetti, Luiz Carlos Junior Alcantara.

Formal analysis: Jaqueline Goes de Jesus, Joilson Xavier, Vagner Fonseca, Marta Giovanetti.

Funding acquisition: Luiz Carlos Junior Alcantara.

Investigation: Jaqueline Goes de Jesus, Gabriel da Luz Wallau, Maricélia Lima Maia, Joilson Xavier, Maria Aparecida Oliveira Lima, Vagner Fonseca, Alvaro Salgado de Abreu, Stephane Fraga de Oliveira Tosta, Heleneide Ramos do Amaral, Italo Andrade Barbosa Lima, Paloma Viana Silva, Daiana Carlos dos Santos, Aline Sousa de Oliveira, Siane Campos de Souza, Melissa Barreto Falcão, Erenilde Cerqueira, Laís Ceschini Machado, Mariana Carolina Sobral, Tatiana Maria Teodoro Rezende, Mylena Ribeiro Pereira, Felicidade Mota Pereira, Zainara Pereira Gusmão Maia, Rafael Freitas de Oliveira França, Carlos Frederico Campelo de Albuquerque e Melo, Rivaldo Venâncio da Cunha, Marta Giovanetti.

Methodology: Jaqueline Goes de Jesus, Gabriel da Luz Wallau, Vagner Fonseca, Italo Andrade Barbosa Lima, Paloma Viana Silva, Daiana Carlos dos Santos, Aline Sousa de Oliveira, Melissa Barreto Falcão, Erenilde Cerqueira, Laís Ceschini Machado, Mariana Carolina Sobral, Tatiana Maria Teodoro Rezende, Mylena Ribeiro Pereira, Zainara Pereira Gusmão Maia, Rafael Freitas de Oliveira França, Rivaldo Venâncio da Cunha, Marta Giovanetti.

Resources: Maricélia Lima Maia, Maria Aparecida Oliveira Lima, Heleneide Ramos do Amaral, Siane Campos de Souza, Melissa Barreto Falcão, Erenilde Cerqueira, Laís Ceschini Machado, Felicidade Mota Pereira, Zainara Pereira Gusmão Maia, André Luiz de Abreu, Carlos Frederico Campelo de Albuquerque e Melo, Rivaldo Venâncio da Cunha, Luiz Carlos Junior Alcantara.

Software: Vagner Fonseca, Marta Giovanetti.

Supervision: Marta Giovanetti, Luiz Carlos Junior Alcantara.

Validation: Nuno Rodrigues Faria, Marta Giovanetti.

Visualization: Marta Giovanetti.

Writing – original draft: Jaqueline Goes de Jesus, Gabriel da Luz Wallau, Marta Giovanetti, Luiz Carlos Junior Alcantara.

Writing – review & editing: Jaqueline Goes de Jesus, Gabriel da Luz Wallau, Maricélia Lima Maia, Joilson Xavier, Maria Aparecida Oliveira Lima, Vagner Fonseca, Alvaro Salgado de Abreu, Stephane Fraga de Oliveira Tosta, Italo Andrade Barbosa Lima, André Luiz de Abreu, Carlos Frederico Campelo de Albuquerque e Melo, Nuno Rodrigues Faria, Rivaldo Venâncio da Cunha, Marta Giovanetti, Luiz Carlos Junior Alcantara.

References

1. Patheir J, Mohan MC, Rawlinson V. Chikungunya arthritis. *Clinical Medicine (London, England)*. 2019; 19(5):381–385. <https://doi.org/10.7861/clinmed.2019-0036>
2. Fu JY, Chua CL, Vythilingam I, Sulaiman WY, Wong HV, Chan YF, Sam IC. An amino acid change in nsP4 of chikungunya virus confers fitness advantage in human cell lines rather than in *Aedes albopictus*. *Journal of General Virology*. Oct 2019. <https://doi.org/10.1099/jgv.0.001338>
3. Powers AM, Brault AC, Tesh RB, Weaver SC. Re-emergence of Chikungunya and O'nyong-nyong viruses: evidence for distinct geographical lineages and distant evolutionary relationships. *J Gen Virol*. 2000; 81(Pt 2):471–9. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-81-2-471> PMID: 10644846
4. Schuffenecker I, Itzen C, Michault A, Murt S, Frangeul L, Vaney MC, et al. Genome microevolution of chikungunya viruses causing the Indian Ocean outbreak. *PLoS Med*. 2008; 3(7):e263. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0030263> PMID: 16700631
5. Powers AM. Genomic evolution and phenotypic distinctions of Chikungunya viruses causing the Indian Ocean outbreak. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2011; 236(8):909–14.
6. Nunes MRT, Faria NR, de Vasconcelos JM, Golding N, Kraemer MUG, de Oliveira LF, et al. Emergence and potential for spread of Chikungunya virus in Brazil. *BMC Med*. 2015; 13: 102. <https://doi.org/10.1186/s12916-015-0348-x> PMID: 25976320
7. Rodrigues Faria N, Lourenço J, Marques de Cerqueira E, Maia de Lima M, Pybus O, Carlos Junior Alcantara L. Epidemiology of Chikungunya Virus in Bahia, Brazil, 2014–2015. *PLoS Currents*. 2016; 8:ecurrents.outbreaks.d87507e0a44efb946401755d468c28. <https://doi.org/10.1371/currents.outbreaks.d87507e0a44efb946401755d468c28> PMID: 27338849
8. Brasil. IBGE Cidades: Feira de Santana. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). 2017. <https://cidades.ibge.gov.br/feira-de-santana/paranoma>
9. Brasil. Boletim Epidemiológico: Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 52, 2016. Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde. Volume 48 N° 3-2017.
10. Brasil. Boletim Epidemiológico de Arboviroses, Bahia 2019. Diretoria de Vigilância Epidemiológica. Ministério da Saúde. Jun 2019.
11. Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, Paoletti AJ, Velez JO, Lambert AJ, et al. Chikungunya virus in US travelers returning from India, 2006. *Emerging infectious diseases*. 2007; 13: 764–767. <https://doi.org/10.3201/e1305.070015> PMID: 17562261
12. Quick J, Gribnaugh ND, Pullen ST, Cleo IM, Smith AD, Gangavarapu K, et al. Multiplex PCR method for MinION and Illumina sequencing of Zika and other virus genomes directly from clinical samples. *Nature protocols*. 2017; 12: 1261–1276. <https://doi.org/10.1038/nprot.2017.066> PMID: 28038738
13. Fonseca V, Libin FJK, Thany K, Faria NR, Nunes MRT, et al. (2018) A computational method for the identification of Dengue, Zika and Chikungunya virus species and genotypes. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 13(5): e0006231. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006231> PMID: 31082235
14. Katoh K, Rozewicz J, Yamada KD. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Briefings in bioinformatics*. 2019; 20: 1160–1166. <https://doi.org/10.1093/bib/bbz016> PMID: 28986734
15. Larson A. AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets. *Bioinformatics (Oxford, England)*. 2014; 30: 3276–3278. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu531> PMID: 25066880
16. Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature methods*. United States; 2012; p. 772. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2109> PMID: 22847169
17. Kozlov AM, Aberer AJ, Stamatakis A. ExoML version 3: a tool for phylogenomic analyses on supercomputers. *Bioinformatics (Oxford, England)*. 2015; 31: 2577–2579. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btv164> PMID: 25818675
18. Rambaut A, Lam TT, Max Carvalho L, Pybus OG. Exploring the temporal structure of heterochronous sequences using TempEst (formerly Path-O-Gen). *Virus evolution*. 2016; 2: vey007. <https://doi.org/10.1093/vev/vev007> PMID: 27774300
19. Suchard MA, Lemey P, Baele G, Ayres GL, Drummond AJ, Rambaut A. Bayesian phylogenetic and phylodynamic data integration using BEAST 1.10. *Virus evolution*. 2018; 4: vey016. <https://doi.org/10.1093/vev/vey016> PMID: 29942658
20. Gil MS, Lemey P, Faria NR, Rambaut A, Shapiro B, Suchard MA. Improving Bayesian Population Dynamics Inference: A Coalescent-Based Model for Multiple Loci. *Mol Biol Evol*. 2013; 30: 713–724. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst025> PMID: 23180580

21. Rambaut A, Drummond AJ, Xie D, Baele G, Suchard MA. Posterior summarisation in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic biology*. 2018; 67: 901–904. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syy032> PMID: 29718447
22. Cingolani P, Platts A, Wang LL, Coon M, Nguyen T, Wang L, et al. A program for annotating and predicting the effects of single nucleotide polymorphisms, SnpEff: SNPs in the genome of *Drosophila melanogaster* strain w¹¹¹⁸; iso-2; iso-3. *Fly*. 2012; 6: 80–92. <https://doi.org/10.4161/fly.19895> PMID: 22728572
23. Cunha MDP, Santos CA Dos, Neto DF de L, Schanowski AS, Pour SZ, Passos SD, et al. Outbreak of chikungunya virus in a vulnerable population of Sergipe, Brazil—A molecular and serological survey. *Journal of clinical virology: the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2017; 97: 44–49. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2017.10.015>
24. Monton CR, Plante KS, Heise MT. Chikungunya Virus: Current Perspectives on a Reemerging Virus. *Microbiol Spectr*. 2016 Jun; 4(2). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.E119-0017-2016> PMID: 27337473; PMCID: PMC488301.
25. Monton TE. Reemergence of chikungunya virus. *J Virol*. 2014 Oct; 88(20):11644–7. <https://doi.org/10.1128/JVI.01432-14> Epub 2014 Jul 30. PMID: 25076691; PMCID: PMC4170719.
26. Muzzo D, Teissier A, Housni E, Teunissen S, de Pina J-J, Nhan T-X. Detection of chikungunya virus in saliva and urine. *Virology Journal*. 2016; 13: 102. <https://doi.org/10.1186/s12985-016-0556-8> PMID: 2738058
27. Kariki Njenga M, Ndiritu L, Ledermann JP, Ndirangu A, Logue CH, Kelly CH, et al. Tracking epidemic Chikungunya virus into the Indian Ocean from East Africa. *The Journal of general virology*. 2008; 89: 2754–2760. <https://doi.org/10.1099/vir.0.2008/005413-0> PMID: 18931072
28. Yactayo S, Staples JE, Millot V, Cibres L, Ramon-Pardo P. Epidemiology of Chikungunya in the Americas. *The Journal of infectious diseases*. 2016; 214: S441–S445. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv300> PMID: 27520179
29. Johnson BW, Goodman CH, Holloway K, de Salazar PM, Valadez AM, Dreibot MA. Evaluation of Commercially Available Chikungunya Virus Immunoglobulin M Detection Assays. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2016; 95: 182–192. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.16-0013> PMID: 26976827
30. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Secretaria de Atenção Básica Chikungunya: Manejo Clínico Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Secretaria de Atenção Básica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2017.
31. Ganesan VK, Duan B, Reid SP. Chikungunya Virus: Pathophysiology, Mechanism, and Modeling. *Viruses*. 2017; 9: 368. <https://doi.org/10.3390/v9120368> PMID: 29194359
32. Fiorini G, Nicoletti L, Angelini R et al. Infection with Chikungunya virus in Italy: an outbreak in a temperate region. *Lancet* 2007; 370:1840–6. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(07\)21779-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(07)21779-6) PMID: 18061059
33. Taum, Laura B, Cardoso, Cristiane W, Souza, Raquel L, Nascimento, Leide CJ, Santos, Daniela R dos, Campos, Gubão S, Saad, Silvia, Reis, Oliveira B dos, Reis,
34. Brasil. Boletim Epidemiológico: Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e febre pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 6, 2016. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. 2016; 47(10):7. <http://portal.epidemiologia.saude.gov.br/images/pdf/2016/março/23/2016-037—DengueSE-6-publica—o.pdf>
35. Peters R. C., Rego R. and Maciel-de-Freitas R. (2013), The use of the Premise Condition Index (PCI) to provide guidelines for *Aedes aegypti* surveys. *Journal of Vector Ecology*, 38: 190–192. <https://doi.org/10.1111/j.1948-7134.2013.12027.x> PMID: 23701626
36. Brasil. Ministério da Saúde. OPAS. Divulgação dos dados do Levantamento Rápido de Índices para o *Aedes aegypti*. 2015. Available at http://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=4791:divulgacao-dos-dados-do-levantamento-rapido-de-indices-para-o-aedes-aegypti&Itemid=812.
37. Huib R, De Kort J, Van Den Berg R, Chong L, Tsoumaki A, Eggenmont K, et al. Chikungunya virus infection in Aruba: Diagnosis, clinical features and predictors of post-chikungunya chronic polyarthralgia. *PloS one*. 2018; 13: e0196630. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0196630> PMID: 29709007
38. Planteaux G, Gauzere B A, Jaureguiberry S, Strobel M. Chikungunya, an epidemic arbovirolos. *The Lancet Infectious diseases*. 2007; 7: 319–327. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(07\)70107-X](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(07)70107-X) PMID: 17448935
39. Dias JP, Costa M da CN, Campos GS, Paixão ES, Natividade MS, Barreto FR, et al. Seroprevalence of Chikungunya Virus after its Emergence in Brazil. *Emerging infectious diseases*. 2018; 24: 617–624. <https://doi.org/10.3201/e2404.171370> PMID: 29653317

40. Schuffenecker I, Benham L, Michault A, Murt S, Frangeul L, Vaney MC, et al. Genome microevolution of chikungunya viruses causing the Indian Ocean outbreak. *PLoS medicine*. 2006;3(5):e23. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0030023> PMID: 16709431
41. Tsetsarkin KA, Chen R, Leal G, Forrester N, Higgs S, Huang J, et al. Chikungunya virus emergence is constrained in Asia by lineage-specific adaptive landscapes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011; 108: 7872–7877. <https://doi.org/10.1073/pnas.1019344108> PMID: 21518887
42. Rodas JD, Kasz T, Camacho E, Paternina L, Guzman H, Diaz FJ, et al. Genetic Characterization of Northwestern Colombian Chikungunya Virus Strains from the 2014–2015 Epidemic. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2016; 95: 639–646. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.15-0091> PMID: 27430542
43. Akhrymuk I, Kulemin S V, Frolova EI. Evasion of the innate immune response: the Old World alpha-virus nsP2 protein induces rapid degradation of Rpb1, a catalytic subunit of RNA polymerase II. *Journal of virology*. 2012; 86: 7180–7191. <https://doi.org/10.1128/JVI.00541-12> PMID: 22514352
44. Fros-JJ, van der Maten E, Vlak JM, Pijlman GP. The C-terminal domain of chikungunya virus nsP2 independently governs viral RNA replication, cytopathicity, and inhibition of interferon signaling. *Journal of virology*. 2013; 87: 10384–10400. <https://doi.org/10.1128/JVI.00884-13> PMID: 23664632
45. Jones PH, Maric M, Madison MN, Maury W, Rolke RJ, Okocinski CM. BST-2/Myxovirus resistance protein 2-mediated restriction of chikungunya (CHIKV) VLP budding is counteracted by CHIKV non-structural protein 1 (nsP1). *Virology*. 2013; 438: 37–49. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2013.01.010> PMID: 23411007
46. European Centre for Disease Prevention and Control. Guidelines for the surveillance of native mosquitoes in Europe. Stockholm: ECDC; 2014. <https://doi.org/10.2900/37227>
47. Navesca FG, Claro I, Giovanetti M, de Jesus JG, Xavier J, Iani FC de M, et al. Genomic, epidemiological and digital surveillance of Chikungunya virus in the Brazilian Amazon. *PLoS neglected tropical diseases*. 2019; 13: e0007065. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007065> PMID: 30845267
48. Xavier J, Giovanetti M, Fonseca V, Theze J, Graf T, Fabi A, et al. Circulation of chikungunya virus (East/Central/South African lineage) in Rio de Janeiro, Brazil. *PLoS one*. 2019; 14: e0217871. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217871> PMID: 31166030
49. Farin NR, da Costa AC, Lourenco J, Lourenco P, Lopes ME, Ribeiro R, et al. Genomic and epidemiological characterisation of a dengue virus outbreak among blood donors in Brazil. *Sci Rep*. 2017; 7(1):15216. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15152-8> PMID: 29123142
50. Farin NR, Quick J, Claro IM, The 'ze' J, de Jesus JG, Giovanetti M, et al. Establishment and cryptic transmission of Zika virus in Brazil and the Americas. *Nature*. 2017; 546(7658):408–10. <https://doi.org/10.1038/nature22401> PMID: 28538727
51. Lima MM, Cerequeira EM, Falcão ML, Cerequeira FME, Cunha RV, Alcântara LCA. (Re) organização da vigilância epidemiológica no enfrentamento da tripla epidemia de dengue, chikungunya e Zika: desafiando nós e buscando caminhos. *Patologia das doenças 2 [recurso eletrônico]* / Organizadora Yvanna Carla de Souza Salgado.—Porto Alegre (PR): Alena Editora, 2018.—(Patologia das Doenças; v. 2)

6 CONCLUSÕES

Com relação ao ZIKV o estudo constatou que a baixa taxa de observação do vírus pelo sistema de saúde local, a alta capacidade vetorial e a condição de suscetibilidade da população de Feira de Santana – BA se traduziu em uma alta taxa de ataque da doença durante o surto de 2015, com um declínio em 2016, e praticamente o desaparecimento em 2017, devido à imunidade de rebanho. O padrão de infecções ocorrido em 2015 no município contrastou com o nível nacional que atingiu pico em 2016.

Evidenciou também que o aumento de casos de microcefalia foi determinado devido às altas taxas de ataque do ZIKV que atingiu cerca de 75% da população que se encontrava totalmente suscetível. O equilíbrio entre a perda da imunidade da população e a reimportação viral ditarão no futuro o potencial de transmissão do ZIKV e o comportamento endêmico e epidêmico do vírus a longo prazo no município de Feira de Santana – BA.

Os desfechos clínicos observados nos RN foram compatíveis com a Síndrome Congênita do Zika (SCZ) e a maioria das genitoras apresentaram exantema no primeiro trimestre de gestação. RN normocéfalos apresentaram lesões cerebrais graves e a detecção da desaceleração do PC após o nascimento evoluindo com microcefalia pós-natal reforça a necessidade do acompanhamento das crianças para avaliação de possíveis danos neurológicos que podem surgir ao longo do tempo. A avaliação socioeconômica e demográfica das mães mostrou que a maioria delas estavam inseridas em classes sociais desfavorecidas e vivendo em situação de vulnerabilidade social.

As sequências do ZIKV analisadas nas amostras clínicas de sangue da mãe e do RN revelaram que o vírus circulante no Brasil pertence ao genótipo asiático. O estudo mostrou que o material genético viral pode ser detectado em diversos fluidos corporais e em diferentes tempos.

A análise lipidômica revelou alteração sérica de plasmalógenos em pacientes infectados pelo ZIKV. Os plasmalógenos ligados aos ácidos graxos polisaturados são particularmente enriquecidos nas membranas neurais do cérebro. Esses achados fornecem informações importantes sobre lipídios celulares nos hospedeiros que provavelmente estão associados à replicação do ZIKV e podem servir como plataforma para estratégia antiviral contra o ZIKV.

Com relação ao CHIKV, o estudo mostrou a persistência local do CHIKV pelo genótipo ECSA no município durante épocas epidêmicas distintas e que, após as análises do polimorfismo de nucleotídeo único (SNPs), nenhuma mutação viral foi detectada nas sequências avaliadas.

REFERÊNCIAS

- ALVINO, C. M. I.; MELLO, L. R. M.; OLIVEIRA, J. A. M. M. Associação de Artrogripose em neonatos com microcefalia pelo Zika Vírus – série de casos. **Rev. Bras. Saúde Matern. Infant.**16: S89-S94, 2016.
- ANTONIAZI, D. **Propagação de Epidemias em Redes Complexas Estruturadas**. Monografia (graduação). Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2008.
- ARAGÃO, M. F. V.; VAN DER LINDEN, V.; BRAINER-LIMA, A. M. et al. Características clínicas e neuroimagem (TC e MRI) descobertas em presumíveis casos de infecção congênita relacionada ao vírus Zika e microcefalia: estudo retrospectivo de séries de casos. **BMJ**. 359: i1901, 2016. Disponível em: DOI: 10.1136 / bmj.i1901 pmid: 27075009. Acesso em:03 de jan. 2017.
- ARAÚJO, Thalia Velho Barreto de et al. "Association between microcephaly, Zika virus infection, and other risk factors in Brazil: final report of a case-control study." **The Lancet infectious diseases**. 18.3:328-336, 2018.
- ASHWAL, S.; MICHELSON, D.; PLAWNER, L.; DOBYNS, W. B. Parâmetro de prática: avaliação da criança com microcefalia (revisão baseada em evidências): relatório do Subcomitê de Normas de Qualidade da Academia Americana de Neurologia e do Comitê de Prática da Sociedade de Neurologia Infantil. **Neurologia**. 73: 88797, 2009. Disponível em: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(14\)60932-6/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(14)60932-6/fulltext). Acesso em: 12 set. 2017.
- ATIF, M. et al. *Zika virus disease: a current review of the literature*. **Infection**. 44:695-705, 2016.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Banco de Dados Meteorológicos e Pesquisa (BDMEP), 1961. Disponível: <http://www.agricultura.gov.br/acesso-a-informacao/dadosabertos/>Acesso em: 3 mar. 2018.
- BELL, T. M.; FIELD, E. J.; NARANG, H. K. Infecção por vírus Zika do sistema nervoso central de camundongos. **Arch Gesamte Virusforsch**. 35(1-2): 183-93, 1971. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF01249709> #citeas. Acesso em: 22 dez. 2017.
- BESNARD, M. et al. *Evidence of perinatal transmission of Zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014*. **Euro surveill**, v. 19, n. 13, p. 20751, 2014.
- BRADY, O. J. et al. *Refining the global spatial limits of dengue virus transmission by evidence-based consensus*. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 8, p. e 1760, jan. 2012.

BRASIL JR., P.; PEREIRA JR., J. P.; RAJA GABAGLIA, C. et al. *Zika Virus Infection in Pregnant Women in Rio de Janeiro*. **N Engl J Med**. 375:2321-2334, 2016. Disponível em: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1602412>. Acesso em: 20 set 2017.

BRASIL. P. et al. *Zika virus infection in pregnant women in Rio de Janeiro: preliminary report*. **The New England Journal of Medicine**, Massachusetts, p. 1-11, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Ato portaria número 1.319/GM, de 23 de julho de 2002**. Disponível em: <https://www.saude.gov.br/???> Acesso em: 15 jan. 2017

BRASIL. Ministério da Saúde. **Ato portaria número 1.083, de 02 de outubro de 2012a**. Disponível em: <https://www.saude.gov.br> Acesso em: 12 jun. 2017

BRASIL. **Resolução nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde, de 12 de dezembro de 2012b**. Disponível em: <https://www.cns.gov.br>. Acesso em: 13 jun. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Preparação e resposta à introdução do vírus Chikungunya no Brasil**. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. Disponível em: <https://www.saude.gov.br>. Acesso em: 12 de mar. 2016

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Febre do Chikungunya: manejo clínico**. Brasília: DF, 2015a, 28p. Disponível em: <https://www.saude.gov.br>. Acesso em: 23 mar. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria GM nº 1.813, de 11 de novembro de 2015. Declara Emergência em Saúde Pública de importância Nacional (ESPIN) por alteração do padrão de ocorrência de microcefalias no Brasil. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília (DF). Seção 1:51, 2015b. Disponível em: <https://www.saude.gov.br>. Acesso em: 22 nov. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico Secretaria de Vigilância em Saúde**, Volume 47, Nº 6. Brasília, 2016a. Disponível em: <https://www.saude.gov.br/boletins-epidemiologicos>. Acesso em: 10 mar. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico Secretaria de Vigilância em Saúde**, Volume 47, Nº 31. Brasília, 2016b. Disponível em: <https://www.saude.gov.br/boletins-epidemiologicos>. Acesso em: 10 nov. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico Secretaria de Vigilância em Saúde**, Volume 47, Nº 18. Brasília, 2016c. Disponível em: <https://www.saude.gov.br/boletins-epidemiologicos>. Acesso em: 10 nov. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Protocolo de vigilância e resposta à ocorrência de microcefalia e/ou alterações do sistema**

nervoso central (SNC). 2ª versão. Brasília, 2016d. Disponível em: <https://www.saude.gov.br/boletins-epidemiologicos>. Acesso em: 10 nov. 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico Secretaria de Vigilância em Saúde**, Volume 48, Nº 29. Brasília, 2017a. Disponível em: <https://www.saude.gov.br/boletins-epidemiologicos>. Acesso em: 10 nov. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Secretaria de Atenção Básica Chikungunya: manejo clínico.** Brasília, 2017b. Disponível em: <https://www.saude.gov.br>. Acesso em: 10 nov. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Orientações integradas de vigilância e atenção à saúde no âmbito da Emergência de Saúde Pública de Importância Nacional: procedimentos para o monitoramento das alterações no crescimento e desenvolvimento a partir da gestação até a primeira infância, relacionadas à infecção pelo vírus Zika e outras etiologias infecciosas dentro da capacidade operacional do SUS** [Internet] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, 2017c. Disponível em: <https://www.saude.gov.br>. Acesso em: 3 ago. 2017

BRASIL. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico Secretaria de Vigilância em Saúde**, Volume 49, Nº 51, Nov. 2018. Disponível em: <https://www.saude.gov.br/boletins-epidemiologicos>. Acesso em: 23 dez. 2018

BRAUER, F.; U, J.; DRIESSCHE, P. **Mathematical Epidemiology – Lecture Notes in Mathematics / Mathematical Biosciences Subseries**, Springer, Canadá, 2008.

BRITO C. A, CORDEIRO MT. One year after the zika vírus outbreak in Brasil: from hypotheses to evidence. ver. **Soc. Bras. Med. Trop.** 2016 Sep-oct; 49 (5): 537-543.

BURT, F. J. et al. Chikungunya: a re-emerging virus. **Lancet.** V. 379, p.662–671, 2012b.

CAMPOS, G. S.; BANDEIRA, A. C.; SARDI, S. I. *Zika Virus Outbreak, Bahia, Brazil.* **Emerg Infect Dis.** [Internet]. 21(10):1885-1886, 2015. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.3201/eid2110.150847>. Acesso em: 02 dez. 2015.

CAO-LORMEAU, V. M., ROCHE, C.; TEISSIER, A.; ROBIN, E.; BERRY, A.; MALLET, H. P. et al. *Zika virus, French Polynesia, South Pacific, 2013.* **Emerg. Infect. Dis.** [Internet]. 20 (6): 1085–1086, 2014. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.3201/eid2006.140138>. Acesso em: 12 fev. 2016.

CARABALI, Mabel; AUSTIN, Nichole; KING, Nicholas B.; KAUFMAN, Jay S. *The Zika epidemic and abortion in Latin America: a scoping review.* **Global Health Research and Policy**, v. 3, n. 1, p. 15, 3 dez. 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ghe.2018.10.001> Acesso em: 17 de ago. 2018

CASSADO, S. et al. *Emergence of Chikungunya fever on the French side of Saint Martin Island, October to December 2013.* **Euro Surveill.** 2014; 19, n.13, p.1-4.

CAUCHEMEZ, S.; BESNARD, M.; BOMPARD, P. et al. *Association between Zika Virus and microcephaly in French Polynesia, 2013–2015: a retrospective study. Lancet.* [Internet]. 387(10033): 2125-2132, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5020190/>. Acesso em: 12 nov. 2017.

CDC, 2014. **Clinical Evaluation & Disease.** Center for Disease Control and Prevention. Disponível em: <http://www.cdc.gov/Chikungunya/hc/clinical/evaluation.html>. Acesso em 08 set. 2016.

CENTRO EUROPEU DE PREVENÇÃO E CONTROLE DE DOENÇAS (ECDC). **Avaliação rápida dos riscos:** microcefalia no Brasil potencialmente vinculada à epidemia do vírus Zika. Estocolmo: ECDC, 2015. p. 1-12. Disponível em: <http://ecdc.europa.eu/pt/http://ecdc.europa.eu/pt/publications/Publications/zikamicrocephaly-Brazil-rapid-risk-assessment-Nov-2015>. Acesso em: 12 de mar. 2016.

COSTA, F.; SARNO, M.; KHOURI, R. et al. *Emergence of congenital Zika syndrome: viewpoint from the front lines. Ann Intern Med,* 37 2016.

DELLER JR, J. J.; RUSSELL, P. K. *Chikungunya disease. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* V.17, n.1, p.107-111, 1968.

DIALLO, M. et al. *Vectors of Chikungunya virus in Senegal: current data and transmission cycles. The American journal of tropical medicine and hygiene,* v. 60, n. 2, p. 281-286, 1999.

DIAS, J. R. O.; VENTURA, C. V.; FREITAS, B. P.; PRAZERES, J.; VENTURA, L. O.; BRAVO-FILHO, V. et al. Anormalidades oculares na síndrome congênita do Zika: os achados oftalmoscópicos são “o topo do iceberg”? **Prog. Retin. Eye Res.** 2018. Disponível em: DOI: 10.1016/j.preteyeres.2018.04.004. Acesso em: 25 de junho de 2017

DICK, G. W.; KITCHEN, S. F.; HADDOW, A. J. *Zika virus. I. Isolations and serological specificity, Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg,* V. 46, p. 509–520, 1952.

DUFFY, M. R.; CHEN, T. H.; HANCOCK, W. T.; POWERS, A. M.; KOOL, J. L.; LANCIOTTI, R. S. et al. *Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. N Engl J Med.* [Internet], 2009. 360(24): 2536-2543. Disponível em: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa0805715>. Acesso em: 10 fev. 2016.

DUFFY, M. R.; CHEN, T. H.; HANCOCK, W. T. et al. Surto do vírus da Zika na ilha de Yap, Estados Federados da Micronésia. **N Engl. J Med.** 360: 2536-43, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa0805715>. Acesso em: 04 de maio de 2017.

DUPUIS-MAGUIRAGA, L. et al. *Chikungunya Disease: Infection-Associated Markers from the Acute to the Chronic Phase of Arbovirus-Induced Arthralgia. PLoS Negl Trop Dis.* V. 6, n 3, p.1446, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001446>. Acesso em: 23 de abril de 2017.

EICKMANN, S.; CARVALHO, M.; RAMOS, R.; ROCHA, M.; LINDEN, V.; SILVA, P. Síndrome da infecção congênita pelo vírus Zika. **Cadernos de Saúde Pública**. 32(7), 2016.

EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. *Zika virus infection outbreak, French polynesia*. Disponível em: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/publications/zika-virus-french-polynesia-rapidrisk-assessment.pdf>. Acesso em: 11 mar. 2016

FACCINI, L. S.; RIBEIRO, E. M.; FEITOSA, I. M. L.; HOROVITZ, D. D. G.; CAVALCANTI, D. P.; PESSOA, A. et al. Possível associação entre a infecção pelo vírus Zika e a microcefalia – Brasil, 2015. **Morbidity and Mortality Weekly Report**. 65 (3), 2016.

FARIA, N. R. et al. *Zika virus in the Americas: early epidemiological and genetic findings*. **Science**, v. 352, n. 6283, p. 345-349, 2016.

FEIRA DE SANTANA, Secretaria Municipal de Saúde. Divisão de Vigilância Epidemiológica. **Boletim Epidemiológico**, nº 23. Disponível em <http://www.Feira de Santana.ba.gov.br>. Acesso em: 29 dez. 2015.

FEIRA DE SANTANA, Secretaria Municipal de Saúde. Divisão de Vigilância Epidemiológica. **Boletim Epidemiológico**, nº 23. 2015. Disponível em <http://www.Feira de Santana.ba.gov.br>. Acesso em: 29 dez. 2015.

FEIRA DE SANTANA. **Boletim Epidemiológico**. Secretaria Municipal de Saúde de Feira de Santana, Bahia, Brasil, 2016. Disponível em: <http://www.Feira de Santana.ba.gov.br>. Acesso em: 02 de julho de 2016

FEIRA DE SANTANA. **Plano de Contingência da Dengue, Chikungunya, Zika e Febre Amarela de Feira de Santana – Bahia, 2018**. Secretaria Municipal de Saúde de Feira de Santana-Bahia, Brasil, 2018. Disponível em: <http://www.Feira de Santana.ba.gov.br>. Acesso em: 12 de outubro de 2017.

FELDSTEIN, L. R. et al. *Dengue on islands: a Bayesian approach to understanding the global ecology of dengue viruses*. **Trans R. Soc. Trop. Med. Hyg.** 109: 303-312, 2015.

FERREIRA, G. L. C. *Global dengue epidemiology trends*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 54 Suppl 1, n. 1, p. S5-6, out., 2012.

FOY, B. D. et al. *Probable Non-Vector-Borne Transmission of Zika Virus, Colorado, USA*. **Emerging Infectious Diseases**. 17, 880-882, 2011.

FREITAS, Bruno de Paula et al. *Ocular findings in infants with microcephaly associated with presumed Zika virus congenital infection in Salvador, Brazil*. **JAMA ophthalmology**, v. 134, n. 5, p. 529-535, 2016.

FRITEL, X. et al. *Chikungunya virus infection during pregnancy, Réunion, France, 2006*. **Emerg Infect Dis**. v. 16, n 3, p. 418-25, 2010.

GÉRARDIN, P. et al. *Multidisciplinary Prospective Study of Mother-to-Child Chikungunya Virus Infections on the Island of La Réunion*. **PLoS Med**, v. 5, nº 3, p. 60, 2008.

GIOVANETTI, M.; GÓES DE JESUS, J.; LIMA, Maia M. de; JUNIOR, J. X.; CASTRO AMARANTE, M. F.; VIANA, P.; KHOURI BARRETO, F.; JUNIOR ALCÂNTARA, L. C. *Genetic evidence of Zika virus in mother's breast milk and body fluids of a newborn with severe congenital defects*. **Clinical Microbiology and Infection**, 24 (10), pp. 1111-1112, 2018.

GUBLER, J. D.; KUNO, G.; MARKOFF, L. *Flaviviruses*. **Field Virology**. Fifth Ed., pp. 1155–227, Chapter 34. 2007.

GRUBAUGH, N. D. et al. Tracking vírus outbreaks in the twenty-first century. **Nature Microbiology**, v. 4, n. 1. p. 2019.

HALAI, U. A.; NIELSEN-SAINES, K.; MOREIRA, M. L.; SEQUEIRA, P. C. de; JUNIOR, J. P. P.; ARAUJO, A. Zin de et al. *Maternal Zika virus disease severity, virus load, prior dengue antibodies, and their relationship to birth outcomes*. **Clinical Infectious Diseases**, 65(6), 877-883, 2017.

HAYES, E. B. *Zika virus outside Africa*. **Emerg. Infect. Dis.** V.15, p. 1347–1350, 2009.

HAZIN, A. N.; PORETTI, A.; DI CAVALCANTI SOUZA CRUZ, D. et al. *Microcephaly Epidemic Research Group*. Resultados tomográficos computadorizados na microcefalia associados ao vírus Zika. **N Engl J Med**. 359: 2193 – 5, 2016. Disponível em: DOI: 10.1056/NEJMc1603617pmid: 27050112. Acesso em:23 de fev. 2017

HOARAU, J. J. et al. *Persistent chronic inflammation and infection by Chikungunya arthritogenic alphavirus in spite of a robust host immune response*. **J Immunol**, 184, pp. 5914-5927, 2010.

HOLMES, E. C.; BARTLEY, L. M.; GARNETT, G. P. *The Emergence of Dengue Past, Present, and Future*. **Biomedical Research Reports**, Vol.1, p. 301, 1998.

HUNG, T. N. et al. Dengue hemorrhagic Fever in Infants: a study of clinical and cytokine profiles. *Journal of Infectious Diseases*, Chicago, v. 189, p. 221-232, 2004.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – Feira de Santana**, 2010.

IBGE. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**, 2019.

IOOS, S.; MALLET, H. P.; GOFFART, I. L.; GAUTHIER, V.; CARDOSO, T.; HERIDA, M. *Current Zika virus epidemiology and recent epidemics*. **Med Mal Infect**. 44: 302-307, 2014.

JUPP, P. G. et al. *Aedes furcifer and other mosquitoes as vectors of Chikungunya virus at Mica, northeastern Transvaal, South Africa*. **J. Am. Mosq. Control Assoc.**, v. 6, n. 3, p. 415-420, 1990.

KERMACK, W. e McKENDRICK, A. *A contribution to the mathematical theory of epidemics. Proceedings of the Royal Society of London Series A Mathematical and Physical. **Sciences***, A115:700–721, 1927.

KUO, C-H. et al. Liver biochemical and Dengue Fever. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Baltimore, v. 47, p. 265-270, 1992.

LANCIOTTI, R. S. et al. Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 30, p. 545-551, 1992.

LENGLET, Y. et al. *Chikungunya infection in pregnancy: evidence for intrauterine infection in pregnant women and vertical transmission in the parturient. Survey of the Réunion Island outbreak. **Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la reproduction***. V. 35, n 6, p. 578-83, 2006.

LOURENÇO, José; RECKER, Mario. *The 2012 Madeira dengue outbreak: epidemiological determinants and future epidemic potential. **PLoS neglected tropical diseases***, v. 8, n. 8, p. e3083, 2014.

MACKENZIE, J. S. *Emerging Viral Diseases of Southeast Asia and the Western Pacific. **Emerging Infectious Diseases***. V.7, n.3, p.497-504, 2011.

MALTA, J. M. A. S. et al. Síndrome de Guillain-Barré e outras manifestações neurológicas possivelmente relacionadas à infecção pelo vírus Zika em municípios da Bahia. *Epidemiol. Serv. Saúde*. 2017, vol.26, n.1, pp.9-18, 2015.

MELO, A. S. O.; MALINGER, G.; XIMENES, R.; SZEJNFELD, P. O.; ALVES SAMPAIO, S.; BISPO DE FILIPPIS, A. M. A infecção intrauterina do vírus Zika causa anormalidades cerebrais do feto e microcefalia: ponta do iceberg? ***Ultrasound Obstet Gynecol***. 47 (1): 6-7, 2016. Disponível em: <https://obgyn.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/uog.15831>. Acesso em: 02 de jan. 2017

MENDES, J.A et al. Phylogenetic history demonstrates two diferente lineages of dengue type 1 virus in Colombia. ***Virol. J***, v. 7, p. 226, 2010.

MESSINA, J. P. et al. *Global spread of dengue virus types: mapping the 70 year history. **Trends in microbiology***, v. 22, n. 3, p. 138–46, mar. 2014.

MLAKAR, J.; KORVA, M.; TUL, N. et al. Vírus Zika associado à microcefalia. ***N Engl J Med***. 374: 951-8, 2016. Disponível em: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1600651>. Acesso em: 13 de jun. 2017.

MIRANDA, Homero Augusto de et al. *Expanded Spectrum of Congenital Ocular Findings in Microcephaly with Presumed Zika **Infection. **Ophthalmology*****, v. 123, n. 8, p. 1788–1794, ago. 2016

MOORE, C. A.; STAPLES, J. E.; DOBYNS, W. B. et al. *Characterizing the pattern of anomalies in congenital Zika syndrome for pediatric clinics. **JAMA Pediatr***. 171: 288-

295, 2017. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jamapediatrics/articleabstract/2579543>. Acesso em: 04 de nov. 2017

MUSSO, D. et al. *Potential for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during an outbreak in French Polynesia, November 2013 to February 2014*. **Euro Surveill**, V. 19, 2014.

MUSSO, D.; NILLES, E. J.; CAO-LORMEAU, V. M. *Rapid spread of emerging Zika virus in the Pacific area*, **Clin. Microbiol. Infect.** V. 20, p. 595–596, 2014.

MUSSO, D. Transmissão do vírus Zika da Polinésia Francesa para o Brasil. **Emerg Infect Dis**. 21 (10): 1887, 2015

NIMMANNITYA, S. et al. *Dengue and Chikungunya virus infection in man in Thailand, 1962 -1964. I. Observations on hospitalized patients with hemorrhagic fever*. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v.18, n.6, p.954-971, 1969.

NIMMANNITYA, S.; MANSUWAN, P. *Comparative clinical and laboratory findings in confirmed dengue and Chikungunya infections*. **Bulletin of the World Health Organization**. v.35, p.1, p. 42-43, 1966.

NUNES M. et al. *Emergence and potential for spread of Chikungunya virus in Brazil*. **BMC Med**. 30; 13:102, 2015.

OLIVEIRA, João Rafael Dias et al. *"Infants with congenital Zika syndrome and ocular findings from São Paulo, Brazil: spread of infection."* **Retinal Cases and Brief Reports** 12.4 (2018): 382-386.

OLIVEIRA, W. K.; CORTEZ-ESCALANTE, J.; OLIVEIRA, W. T. G. H. et al. *Increase in reported prevalence of microcephaly in infants born to women living in areas with confirmed Zika virus transmission during the first trimester of pregnancy-Brazil, 2015*. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**. 65:242-7, 2016.

OMS. *Assessment of infants with microcephaly in the context of Zika virus - Interim Guidance - 4 March 2016* [Internet]. **Genebra**, 2016. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204475/1/WHO_ZIKV_MOC_16.3_eng.pdf?ua=1. Acesso em: 03 de mai. 2017

OPAS, Alerta Epidemiológico. *Fiebre por Chikungunya y dengue en las Américas*. 2014.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Doença do vírus Zika. **Geneva: World Health Organization**. [Internet], 2016. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/zika/pt/>. Acesso em: set 2016.

OSMAN, O. et al. Genetic characterization of dengue vírus type 1 isolated in Brunei in 2005 – 2006. **J. Gen. Virology**, v. 90, p. 678-86, 2009.

PAN, C. Z. **Epidemiologia Matemática: conceitos, processos e modelos.**

Monografia (graduação) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, 2007.

PASSEMARD, S.; KAINDL, A. M.; VERLOES, A. **Microcephaly.** Elsevier BV Editor.

Handbook of Clinical Neurology. (Parte I.). 111: 129-141, 2013. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52891-9.00013-0>. Acesso em: 03 de mai. 2017.

PIALOUX, G. *Chikungunya, an epidemic arboviroses.* **Lancet Infect Dis.** v.7, v.5, p.319-327, 2007.

POWERS, A. M.; LOGUE, C. H. *Changing patterns of Chikungunya virus:*

reemergence of a zoonotic arbovírus. **Journal of General Virology,** v.88, p.2363–2377, 2007.

PRICE, D. D. et al. *The validation of visual analogue scales as ratio scale measures for chronic and experimental pain.* **Pain,** v. 17, n. 1, p. 45-56, 1983.

QUEYRIAUX, B. et al. *Clinical burden of Chikungunya virus infection.* **Lancet Infect Dis,** 8, pp. 2-3, 2008.

REPÚBLICA DOMINICANA, 2014. **Guía de manejo clínico para la infección por el virus Chikungunya (CHIKV).** Ministerio de Salud Pública. Santo Domingo, República Dominicana, 2014.

ROBINSON, M. C. *An epidemic of virus disease in southern province, Tanganyika territory.* 1952-53. **Trans R Soc Trop Med Hyg,** V. 49, p. 2832, 1955.

ROSS, R. W. *The Newala epidemic III. The Virus: Isolation, Pathogenic Properties and Relationship to the Epidemic.* **J Hyg;** V. 54, n 2, p. 177-191, 1956.

ROUGERON, V. et al. *Chikungunya, a paradigm of neglected tropical disease that emerged to be a new health global risk.* **Journal of Clinical Virology.** v.64, p.144–152, 2015.

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: 20929, 2014.

SANTOS, D. N. et al. **Documento de posição sobre a tríplice epidemia de Zika-Dengue-Chikungunya.** Observatório de Análise Política em Saúde, 2016.

SCHILTE, F; STAIKOWSKY, T.; COUDERC, Y. MADEC, F.; CARPENTIER, S. et al. *Chikungunya virus-associated long-term arthralgia: a 36-month prospective longitudinal study.* **PLoS Negl Trop Dis,**

7, p. e2137, 2013.

SELTZER, L. E.; PACIORKOWSKI, A. R. *Genetic disorders associated with postnatal microcephaly*. **Am J Med Genet**. 166: 140-155, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31400>. Acesso em: 28 de mar. 2017

SERGON, K. *Seroprevalence of Chikungunya virus (CHIKV) infection on Lamu Island, Kenya, October 2004*. **Am J Trop Med Hyg**. v.78, n.2, p.333-337, 2008.

SINGH, M.; MARQUEZAN, M. C.; OMIADZE, R.; REDDY, A.; BELFORT, R.; MAY, W. Vasculopatia retiniana interna na doença do vírus Zika. **American Journal of Ophthalmology Case Reports**, 10, 6-7, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ajoc.2018.01.023>. Acesso em: 12 de out. 2018

SILVA, Heloisa Helena Garcia da; SILVA, Ionizete Garcia da. Influência do período de quiescência dos ovos sobre o ciclo de vida de *Aedes Aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) em condições de laboratório. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 32, n. 4, p. 349-55, 1999.

SIMON, F. et al. *French guidelines for the management of Chikungunya (acute and persistent presentations) November 2014*. **Med Mal Infect**, 45, pp. 243-263, 2015.

STAPLES, J. E.; FISCHER, M. *Chikungunya Virus in the Americas — What a Vector borne Pathogen Can Do*. **The New England Journal of Medicine**. v.371, n.10, p.887-889, 2014.

STRAUSS J. H. *The alphaviruses: gene expression, replication and evolution*. **Microbiol Rev**, V. 58, p. 491-562, 1994.

SZEJNFELD, P. Soares de Oliveira; LEVINE, D.; MELO, A. S. de O. et al. Anormalidades cerebrais congênitas e vírus Zika: o que o radiologista pode esperar ver de forma pré-natal e pós-natal. **Radiologia**. 359: 203 – 18, 2016. Disponível em: DOI: 10.1148/radiol.2016161584pmid:27552432. Acesso em: 23 ago. 2017.

SHU, P. Y.; HUANG, J. H. Current advances in dengue diagnosis. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, Washington, v. 11, p. 642-650, 2004. SINIAH, M.; IGARASHI, A. Dengue hemorrhagic fever. *Reviews in Medical Virology*, Chichester, v. 5, p. 193-203, 1995.

TANG, H.; HAMMACK, C.; OGDEN, S. C. et al. *Zika Virus Infects Human Cortical Neural Progenitors and Attenuates Their Growth*. **Cell Stem Cell**. 18(5):587–590, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5299540/>. Acesso em: 25 de abr. 2017

TEIXEIRA, M.G, et al. *East Central South African Genotype Chikungunya Virus, Brazil, 2014*. **Emerging Infectious Diseases**. v.21, n.5, p. 906-907, 2015.

TETRO, J. A. *Zika and microcephaly: causation, correlation or coincidence?* **Microbes Infect**, 2016. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1286457916000083>. Acesso em: 23 mar. 2017

THIBERVILLE, S. D. et al. *Chikungunya fever: epidemiology, clinical syndrome, pathogenesis and therapy*. **Antiviral Research**, v.99, n.3, p.345-370, 2013.

VAN DER LINDEN, Vanessa et al. "Congenital Zika syndrome with arthrogryposis: retrospective case series study." **BMJ**. 354: i3899, 2016.

VAN DER LINDEN, V.; PESSOA, A.; DOBYNS, W.; BARKOVICH, A. J.; VAN DER LINDEN JÚNIOR, H.; ROLIM FILHO, E. L. et al. Descrição de 13 bebês nascidos entre outubro de 2015 e janeiro de 2016 com infecção congênita pelo Zika vírus sem microcefalia ao nascimento – Brasil. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**. 65(47): 1343-8, 2016.

VENTURA, Camila V. et al. *Ophthalmological findings in infants with microcephaly and presumable intra-uterus Zika virus infection*. **Arquivos brasileiros de oftalmologia**, v. 79, n. 1, p. 1-3, 2016.

VENTURA, Camila V. et al. "Risk factors associated with the ophthalmoscopic findings identified in infants with presumed Zika virus congenital infection." **JAMA ophthalmology**, 134.8: 912-918, 2016.

VENTURA, C. V.; MAIA, M.; BRAVO-FILHO, V.; GÓIS, A. L.; BELFORT JR., R. Zika vírus no Brasil e atrofia macular em criança com microcefalia. **Lanceta**. 387 (10015): 228, 2015.

VELHO, T.; ARAÚJO, B. de; RODRIGUES, L. C.; ARRAES, R.; XIMENES, D. A.; MIRANDA-FILHO, D. D. B. Associação entre infecção pelo Zika vírus e microcefalia no Brasil, de janeiro a maio de 2016: relato preliminar de um estudo caso-controle. 1356-63. 16 de dezembro de 2016.

VILLAR, J.; CHEIKH, I. L.; VICTORA, C. G.; OHUMA, E. O.; BERTINO, E.; ALTMAN, D. G. et al. *International standards for newborn weight, length, and head circumference by gestational age and sex: the Newborn Cross-Sectional Study of the Intergrowth-21st Project*. **Lancet**. 384 (9946): 857-68, 2014.

VOLK, S. M. et al. Genome-scale phylogenetic analyses of chikungunya virus reveal independent emergences of recent epidemics and various evolutionary rates. **J Virol**, v. 84, n. 13, p. 6497-504, jul. 2010.

VOLZ, E. M. et al. Phylodynamics of Infectious disease epidemics. *Genetics*, v. 183, n. 4, p. 1421, 2009.

WHO, *Global strategy for dengue prevention and control 2012–2020*.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Centers for Disease Control and Prevention (US). International Clearinghouse for Birth Defects Surveillance and Research. Birth defects surveillance: a manual for programme managers* [Internet]. Geneva: World Health Organization, 2014. 116 p. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/110223/1/9789241548724_eng.pdf?ua=1&u. Acesso em: 12 de mar. 2017.

YADAV, S.; RAWAL, G.; BAXI, M. *Zika virus: an emergence of a new arbovírus*. **J Clin Diagn Res**. V.10, DM01-3, 2016.

YOUNGER, D. S. *Epidemiology of Zika virus*. **Neurol Clin**. 34: 1049-56, 2016.

ZAMMARCHI, L. et al. *Zika virus infections imported to Italy: clinical, immunological and virological findings, and public health implications*. **Journal of Clinical Virology**, v. 63, p. 32-35, 2015.

ZANLUCA, C.; CAMPOS, V. A. M.; MOSIMANN, A. L. P.; SANTOS, G. I. V.; SANTOS, C. N. D.; LUZ, K. et al. *First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro: 1- 4, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/0074-02760150192>. Acesso em: 15 de jan. 2016

ZHANG, W.; ROSSMANN, M. G.; PLENEV, S. V.; CORVER, J.; LENCHES, E.; JONES, C. T.; MUKHOPADHYAY, S.; CHIPMAN, P. R.; STRAUSS, E. G.; BAKER, T. S.; STRAUSS, J. H.; *Structure of dengue virus: Implications for flavivirus Organization, Maturation, and Fusion*. *Cell*; 108: 717-725, 2002.

ZARE MEHRJARDI, M.; PORETTI, A.; HUISMAN, T. A.; WERNER, H.; KESHAVARZ, E.; ARAUJO JÚNIOR, E. *Neuroimaging findings of congenital Zika virus infection: a pictorial essay*. **Jpn J Radiol**. 35(3): 89-94, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28074379>. Acesso em: 13 de mar. 2018

ZARE MEHRJARDI, M.; KESHAVARZ, E.; PORETTI, A.; HAZIN, A. N. *Neuroimaging findings of Zika virus infection: a review article*. **Jpn J Radiol**. 34 (12): 765-770, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27714487>. Acesso em: 12 de abr. 2017

APÊNDICES

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

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO CENTRO DE PESQUISA GONÇALO MONIZ/FIOCRUZ: Rua Waldemar Falcão, 121, Candeal, Salvador-Ba, CEP: 40296710 Telefone: (71) 3176- 2285.

INSTITUIÇÕES PARTICIPANTES: Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Feira de Santana: Laboratório de Hematologia, Genética e Biologia Computacional (LHGB), Centro de Pesquisas Gonçalo Muniz, FIOCRUZ; Rua Waldemar Falcão, 121, Candeal, Salvador-Ba, CEP: 40295-001.

PROJETO “REPERCUSSÕES CLÍNICAS, EPIDEMIOLÓGICAS E SOCIAIS DA INFECÇÃO PELOS ARBOVÍRUS CHIKUNGUNYA E ZIKA EM UM MUNICÍPIO DA BAHIA”.

PESQUISADORA RESPONSÁVEL: Maricelia Maia de Lima

Como voluntário/a, o/a Sr./a está sendo convidado/a a participar de uma pesquisa da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), localizada em Salvador – BA, que tem como objetivo entender mais sobre o vírus Chikungunya. Para isso, coletaremos um pouco de sangue dos pacientes com sintomas da Chikungunya que concordarem em participar deste estudo. Convido o/a Senhor/a a participar deste estudo. Se concordar, nós solicitaremos a sua aprovação para termos acesso aos seus dados clínicos e epidemiológicos constantes dos questionários que estão com os médicos e enfermeiras desta unidade de saúde da secretaria de saúde de Feira de Santana. Também solicitaremos que nos doe 16 (dezesesseis) ml do seu sangue (aproximadamente três colheres de sobremesa). Nós utilizaremos seu sangue para ter o material genético do vírus Chikungunya e de outros que possam causar doenças parecidas, como o vírus da dengue e um novo vírus chamado Zika, para poder entender melhor a estrutura e função destes micróbios. Os resultados obtidos darão suporte para que nós e outros cientistas possamos estudar novos e possíveis métodos de tratamento e de diagnóstico. A sua participação neste estudo não trará benefícios diretos ao seu problema; entretanto, o conhecimento obtido a partir desta pesquisa poderá contribuir para um melhor conhecimento em relação à infecção pelo vírus Chikungunya e outros arbovírus, como o DENV e ZIKV. Informamos que o material (sangue) que sobrar será inutilizado, seguindo todas as normas de biossegurança da Fiocruz – BA. O/a Sr./a poderá se recusar a participar do estudo agora ou em qualquer momento, sem que isso lhe traga qualquer constrangimento ou penalidade da instituição que está realizando este estudo. A sua identidade será preservada e nenhum resultado obtido com esta pesquisa conterá o seu nome. Nós guardaremos os registros de cada indivíduo em sala trancada, e somente o pesquisador responsável pela pesquisa e os médicos que trabalham na equipe terão acesso a essas informações. Cada indivíduo receberá um número para ser utilizado no laboratório. Se qualquer relatório ou publicação resultar deste trabalho, a identificação do paciente não será revelada, e confirmo que a seguinte informação constará dos artigos publicados: “Agradecemos a todos os pacientes que participaram desta pesquisa”. Os Resultados serão relatados de forma sumarizada e

o indivíduo não será identificado. O risco associado à coleta de sangue poderá ser de um pequeno desconforto no local a um possível sangramento e hematomas (um pequeno acúmulo de sangue). No caso de ocorrência de problemas médicos durante a coleta, você terá o auxílio de um dos médicos desta Clínica e de uma enfermeira (Maricélia Maia de Lima), que participa deste projeto e estará presente durante todas as coletas, sem ônus algum. Os pesquisadores responsáveis por este projeto estarão à disposição a qualquer momento para esclarecerem alguma dúvida ou questão que o/a Sr./a tenha em relação a este estudo. Se concordar em participar, por favor, assine abaixo.

Declaro que li este termo de consentimento e que, de livre e espontânea vontade, concordei em participar da pesquisa.

Salvador, BA, ____/____/____.

Nome:_____.

Assinatura:_____.

Impressão datiloscópica: _____.

COMPROMISSO DO INVESTIGADOR

Eu discuti as questões acima apresentadas com os indivíduos participantes no estudo ou com o seu representante legalmente autorizado. É de minha opinião que o indivíduo entende os riscos, benefícios e obrigações relacionados a este projeto.

Salvador, BA, ____ de ____ de ____.

Assinatura do pesquisador responsável:_____.

APÊNDICE B - TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - (TALE)

Você está sendo convidado/a a participar da pesquisa “Repercussões clínicas, epidemiológicas e sociais da infecção pelos arbovírus chikungunya e Zika em um município da Bahia” sob a responsabilidade do pesquisadora Maricelia Maia de Lima. Declaro que seus pais ou responsáveis sabem de tudo o que vai acontecer na pesquisa (riscos e benefícios) e permitiram que você participasse.

Esta pesquisa será realizada para avaliar os desfechos clínicos, epidemiológicos e laboratoriais das crianças com infecção congênita pelo vírus Zika. Você não é obrigado/a a participar, e poderá desistir sem problema nenhum. As crianças que irão participar desta pesquisa são menores de idade (0 mês a 3 anos de idade). A pesquisa será feita no Ambulatório de Infectologia Pediátrica da Secretaria Municipal de Saúde, onde as crianças serão acompanhadas pela equipe de saúde (médicos, enfermeiros, psicólogos, entre outros), que dará suporte em caso de alguma necessidade. Para isso, será realizado um estudo prospectivo de acompanhamento clínico, epidemiológico e laboratorial das crianças com suspeita de infecção congênita pelo vírus Zika residentes no município.

Porém, pode acontecer algum risco associado à coleta de sangue, que pode ser um pequeno desconforto no local ou um possível sangramento (um pequeno acúmulo de sangue). No caso de ocorrência de problemas durante a coleta, você terá o auxílio da equipe de saúde (médicos e enfermeiros) do referido serviço, que participa deste projeto e estará presente durante todas as coletas, sem ônus algum. Os pesquisadores responsáveis por este projeto estarão à disposição, a qualquer momento, para esclarecerem alguma dúvida ou questão que o/a Sr./a tenha em relação a este estudo. Se concordar em participar, por favor, assine abaixo.

Caso aconteça algo errado, procure-nos pelo telefone (75) 99143-1420 ou pelo e-mail limapfa6@gmail.com. Ninguém saberá que você está participando da pesquisa e não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der. Os resultados da pesquisa darão suporte para que nós e outros cientistas possamos estudar novos e possíveis métodos de tratamento e de diagnóstico desta infecção; e seus resultados serão publicados, pois o conhecimento obtido a partir desta pesquisa poderá contribuir para um melhor conhecimento em relação à infecção adquirida e congênita pelos vírus Zika, Dengue,

Chikungunya e outros arbovírus circulantes, mas sem identificar os participantes, garantindo assim o total anonimato.

Declaro que li este consentimento e que, de livre e espontânea vontade, concordei em participar desta pesquisa.

Salvador, BA, ____/____/____.

Nome:_____.

Assinatura:_____.

() ACEITO PARTICIPAR DA PESQUISA

() NÃO ACEITO PARTICIPAR DA PESQUISA

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DO CENTRO DE PESQUISA GONÇALO
MONIZ/FIOCRUZ: Rua Waldemar Falcão, 121, Candeal, Salvador-Ba, CEP:
40296710 Telefone: 3176- 2285.

APÊNDICE C - FORMULÁRIO DA PESQUISA 1

1. DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO PACIENTE

Código do Paciente: _____

Nome: _____

Cartão SUS: _____ Nº do RG: _____

Data Nascimento: ____/____/____ Idade: _____ Sexo: ☐ Masculino ☐ Feminino

Cor da Pele (autorreferida): ☐ Branca ☐ Indígena ☐ Parda ☐ Preta ☐ Sem declaração

Estado Civil: ☐ Solteiro ☐ Casado ☐ Viúvo ☐ Divorciado ☐ União Estável

Gestante: ☐ Sim ☐ Não ☐ Não se aplica

Se sim, qual a Idade gestacional?

☐ 1º trimestre ☐ 2º trimestre ☐ 3º trimestre ☐ Ignorada.

Escolaridade: ☐ Alfabetização (1º ano) ☐ 1ª (2º ano) ☐ 2ª (3º ano) ☐ 3ª (4º ano)
☐ 4ª (5º ano) ☐ 5ª (6º ano) ☐ 6ª (7º ano) ☐ 7ª (8º ano) ☐ 8ª (9º ano)
☐ 1º do ensino médio ☐ 2º do ensino médio ☐ 3º do ensino médio
☐ Nível superior incompleto ☐ Nível superior completo ☐ Pós-Graduação

Ocupação: _____ CEP: _____

Rua: _____ Nº: _____

Bairro: _____ Cidade: _____

Ponto de Referência: _____ Telefone: () _____

2. DADOS CLÍNICOS

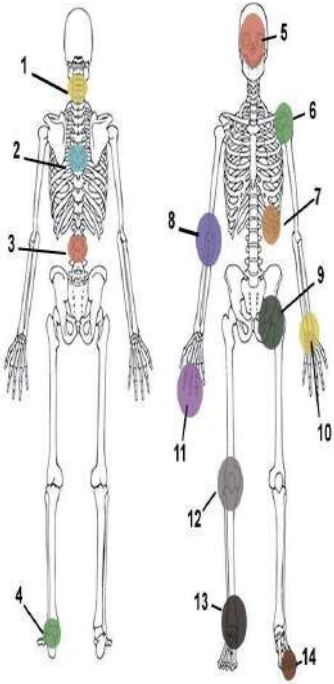
Febre: ☐ Sim ☐ Não ☐ Ignorado Data de início da Febre: ____/____/____

Artralgia: ☐ Sim ☐ Não ☐ Ignorado Data de início: ____/____/____

Artralgia é Simétrica? ☐ Sim ☐ Não ☐ Ignorado

Artralgia é Migratória? ☐ Sim ☐ Não ☐ Ignorado

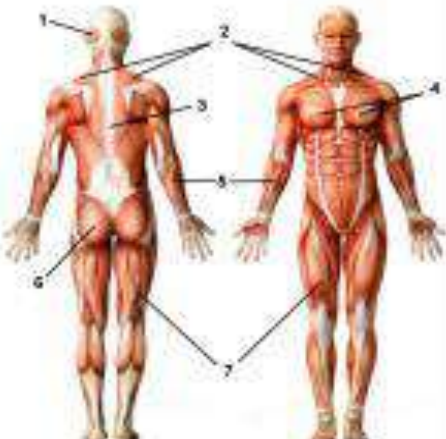
Edema: ☐ Sim ☐ Não ☐ Ignorado Data de início: ____/____/____

Marque pontos para Artralgia	Localização		Referência	Marque pontos para Edema	Localização	
	D	E			D	E
1 – Pescoço				1 – Pescoço		
2 – Coluna Torácica				2 – Coluna Torácica		
3 – Coluna lombar				3 – Coluna lombar		
4 – Tornozelo				4 – Tornozelo		
5 – Mandíbula				5 – Face		
6 – Ombro				6 – Ombro		
7 – Costelas				7 – Costelas		
8 – Cotovelo				8 – Cotovelo		
9 – Região sacra				9 – Região sacra		
10 – Punho				10 – Punho		
11 – Dedos das mãos				11 – Dedos as mãos		
12 – Joelho				12 – Joelho		
13 – Tornozelo				13 – Tornozelo		
14 – Dedos dos pés				14 – Dedos dos pés		

Legenda: D= Direito E= Esquerdo

Mialgia: ☐ Sim ☐ Não ☐ Ignorado

Data de início: ____/____/____

Marque os pontos de Mialgia	Referência
1 ☐ Nuca 2 ☐ Ombros 3 ☐ Costas 4 ☐ Tórax 5 ☐ Braços 6 ☐ Nádegas 7 ☐ Coxa 8 ☐ Panturrilha	

Náuseas: ☐ Sim ☐ Não ☐ Ignorado

Vômitos: ☐ Sim ☐ Não ☐ Ignorado

Cefaleia: ☐ Sim ☐ Não ☐ Ignorado

Duração em dias: _____

Se sim, qual a localização?

☐ Região Frontal da Cabeça

☐ Região Lateral da Cabeça

☐ Região da Nuca

☐ Outros, especificar: _____

Linfoadenopatia (Gânglios): ☐ Sim ☐ Não ☐ Ignorado

Se sim, marque a localização:

☐ Retroauricular

☐ Submandibular

☐ Axilar

☐ Inguinal

☐ Outros, especificar: _____

Diarreia: ☐ Sim ☐ Não ☐ Ignorado

Conjuntivite: ☐ Sim ☐ Não ☐ Ignorado

Dor de Garganta: ☐ Sim ☐ Não ☐ Ignorado

Dor Retro-orbitária: ☐ Sim ☐ Não ☐ Ignorado

Rash cutâneo: ☐ Sim ☐ Não ☐ Ignorado

Data de início: ____/____/____

Se sim, identifique a característica:

☐ Maculopapular

☐ Bolhoso

☐ Nodular

☐ Purpurico

☐ Outros, especificar: _____

Prurido: ☐ Sim ☐ Não ☐ Ignorado

Se sim, localizar:

☐ Mãos

☐ Pés

☐ Tronco

☐ Pernas

☐ outros, especificar: _____

Sangramento: ☐ Sim ☐ Não ☐ Ignorado

Se sim, especificar:

☐ Epistaxe

☐ Gergivorragia

☐ Metrorragia

☐ Outros, especificar: _____

Prostração: ☐ Sim ☐ Não ☐ Ignorado

3. COMORBIDADES:

☐ Diabetes tipo 1 ☐ Diabetes tipo 2 ☐ Cardiopatias ☐ Artrite
☐ Anemia Falciforme ☐ Dor em coluna vertebral ☐ Obesidade
☐ LER/DORT ☐ Lúpus eritematoso ☐ Anemia Falciforme ☐ HAS
☐ Outras comorbidades, especificar : _____

Dormência ☐ Sim ☐ Não ☐ Ignorado

Câimbra: ☐ Sim ☐ Não ☐ Ignorado

Formigamento: ☐ Sim ☐ Não ☐ Ignorado

Data de início do formigamento: ____/____/____

Perda de força muscular: ☐ Sim ☐ Não ☐ Ignorado

Data do início déficit motor: ____/____/____

Sintoma	Data de início	Sintoma	Data de início
Dificuldade para Caminhar: ☐ Sim ☐ Não ☐ Ignorado	____/____/____	Dificuldade para Falar: ☐ Sim ☐ Não ☐ Ignorado	____/____/____
Dificuldade para segurar objetos: ☐ Sim ☐ Não ☐ Ignorado	____/____/____	Assimetria facial (boca torta): ☐ Sim ☐ Não ☐ Ignorado	____/____/____
Confusão mental: ☐ Sim ☐ Não ☐ Ignorado	____/____/____	Dificuldade para Engolir: ☐ Sim ☐ Não ☐ Ignorado	____/____/____

Sonolência: [] Sim [] Não [] Ignorado	___/___/___	Dificuldade para Urinar: [] Sim [] Não [] Ignorado	___/___/___
Visão dupla: [] Sim [] Não [] Ignorado	___/___/___	Dificuldade para se equilibrar: [] Sim [] Não [] Ignorado	___/___/___

Outros, especificar: _____

4. ESCALA ANALÓGICA DA DOR

Dor referida no momento da entrevista



5. OUTROS EXAMES

[] Hemograma [] TGO [] TGP [] Eletroforese da Hb [] Eletroforese da Ht

6. DADOS ESTOMATOLÓGICOS

Presença de lesões (Aftas) na mucosa oral (boca): [] Sim [] Não [] Ignorado

Se sim, data do início: ___/___/___ Duração (dias) : _____

Se sim, identificar a localização:

[] Mucosa Jugal (bochecha)

[] Língua

[] Palato (céu da boca)

[] Gengivas

[] Outros, especificar: _____

As lesões na boca coincidiram com o aparecimento de outros sintomas?

[] Sim [] Não [] Ignorado

Se sim, quais?

[] Febre [] Mialgia (dor nos músculos)

[] Artralgia (dor nas articulações) [] Astenia (fraqueza)

[] Conjuntivite

[] Outros, especificar: _____

Aumento da salivação no período? Sim [] Não [] [] Ignorado

Nódulo (caroço) no pescoço no período? [] Sim [] Não [] Ignorado

Dor na deglutição (odinofagia) ou dor ao movimento? [] Sim [] Não [] Ignorado

[] Outros, especificar: _____

Fez uso de medicação: [] Sim [] Não [] Ignorado

Se sim, qual (ais)? _____

Fez uso de medicação por conta própria: ☐ Sim ☐ Não ☐ Ignorado

Se sim, qual (ais)? _____

APÊNDICE D - FORMULÁRIO DA PESQUISA 2**DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DA MÃE E DA MATERNIDADE**

Nome/Mãe: _____ Idade: _____
Data de nascimento/mãe: _____ Maternidade: _____
Endereço: _____ Bairro: _____
Cidade: _____ Estado: _____ Telefone: _____
Ocupação: _____ Nº de pessoas que moram na casa _____

Raça/cor:

☐ Branca ☐ Preta ☐ Parda ☐ mulata
☐ mestiça ☐ Morena ☐ Não quis informar

Estado Civil:

☐ Solteira ☐ Casada ☐ Viúva ☐ Separada/Divorciada
☐ União estável ☐ Não quis informar/Ignorada.

Escolaridade:

☐ Sem escolaridade ☐ Fundamental I ☐ Ensino fundamental II
☐ Ensino médio ☐ Nível Superior ☐ Pós Graduação
☐ Ignorado.

Renda familiar:

☐ Menos de 1 salário mínimo ☐ 1 a 2 salários mínimos
☐ 3 a 4 salários mínimos ☐ Sem renda

Habitação:

☐ Casa própria ☐ Alugada ☐ Emprestada/cedida ☐ Mora com os pais

Coleta de lixo:

☐ Diária ☐ Dias alternados ☐ Sem coleta de lixo

Abastecimento de água:

☐ Com água encanada ☐ Sem água encanada

Energia elétrica:

☐ Com energia elétrica ☐ Sem energia elétrica

Rede de esgoto:

☐ Com rede de esgoto ☐ Sem rede de esgoto

ANTECEDENTES MATERNOS

Teve diagnóstico de alguma doença pré-existente:

() Sim () Não

Se sim, qual (is)?

() Doença Renal Crônica

() Hipertensão Arterial

() Diabetes Mellitus

() DPOC/Asma

() Cardiopatia Crônica

() Doença Falciforme

() Hemoglobinopatia

() Doenças autoimune

() Câncer

() Doença Mental

() Depressão

() Outras, especificar: _____

DADOS OBSTÉTRICOS

Primeira gestação?

() Sim () Não

Nº de gestações: _____

Nº de partos: _____

Nº de abortos: _____

Nº de filhos vivos: _____

DADOS DA GESTAÇÃO ATUAL

Teve episódios de febre e/ou exantema compatíveis com suspeita de Zika, Chikungunya ou dengue DURANTE a gestação atual?

() Sim () Não

Se sim, quantos? _____ episódio(s)

Data do 1º episódio: _____ () não se lembra da data.

Período gestacional dos sintomas: () 1o trimestre () 2o trimestre () 3o trimestre

() Rash/vermelhidão na pele () Febre () Prurido ou coceira intensa () Tosse

() Coriza/nariz escorrendo () Cefaleia/dor de cabeça () Artralgias/dor nas

juntas/articulações () Vermelhidão nos olhos () Dor muscular/dor no corpo ()

Dor de garganta () Conjuntivite () lesões na boca (orais) () Linfadenopatia

() Outros, especificar: _____

Tipo de gestação: () Única () Dupla () Tripla ou mais

Realizou pré-natal nesta gestação:

() Sim () Não

Se sim, quantas consultas? _____

Descrever qual Unidade (s) de saúde que realizou pré-natal: _____

Foi feita USG durante a gravidez? () Sim () Não. Quantas USG?: _____

1) Foram identificadas alterações? () Sim () Não

Se sim, em qual idade gestacional: _____ (semanas).

Qual alteração? _____ Data: _____

2) Foram identificadas alterações? () Sim () Não

Se sim, idade gestacional: _____ (semanas)

Qual alteração? _____ Data: _____

3) Foram identificadas alterações? () Sim () Não

Se sim, idade gestacional: _____ (semanas)

Qual alteração? _____ Data: _____

Você fez uso de medicamentos durante a gestação? () Sim () Não

() Não Sabe

Quantos medicamentos usados durante a gravidez? _____

Se sim, descrever:

Nome 1: _____

Nome 2: _____

Nome 3: _____

Nome 4: _____

Fez uso de bebida alcoólica na gestação: () Sim () Não () não lembra

Fumou durante a gestação? () Sim () Não () não lembra

Uso de drogas ilícitas durante a gestação? () Sim () Não () não lembra

Teve contato com pesticidas/agrotóxicos () Sim () Não () Não lembra

Durante a gravidez, você teve alguma destas comorbidades?

() Diabetes gestacional () Insuficiência placentária

() Pré eclampsia () eclampsia

() Obesidade gestacional () Diabetes mellitus

() Hipertensão () Outra, qual? _____

SOROLOGIA MATERNA DO PRE-NATAL

VDRL:

() Positivo () Negativo () Indeterminado () Não Sabe

Título VDRL: _____

Semanas gestacionais

() < 20 semanas () >= 20 semanas

Rubéola IgG

() Positivo () Negativo () Indeterminado () Não Sabe

Semanas gestacionais

() IgG < 20 semanas () >= 20 semanas

Rubéola IgM

() Positivo () Negativo () Indeterminado () Não Sabe

Semanas gestacionais

() < 20 semanas () >= 20 semanas

Toxoplasmose IgG:

() Positivo () Negativo () Indeterminado () Não Sabe

Semanas gestacionais toxo.IgG

() < 20 semanas () >= 20 semanas

Toxoplasmose IgM:

() Positivo () Negativo () Indeterminado () Não Sabe

Semanas gestacionais toxo.IgM

() < 20 semanas () >= 20 semanas

CMV IgG:

☐ Positivo ☐ Negativo ☐ Indeterminado ☐ Não Sabe

Data CMV IgG: _____

CMV IgM:

☐ Positivo ☐ Negativo ☐ Indeterminado ☐ Não Sabe

Data CMV IgM: _____

Teste rápido HIV

☐ Positivo ☐ Negativo ☐ Indeterminado ☐ Não Sabe

Data teste HIV _____

HTLV

☐ Positivo ☐ Negativo ☐ Indeterminado ☐ Não Sabe

Data HTLV _____

AgHBs

☐ Positivo ☐ Negativo ☐ Indeterminado ☐ Não Sabe

Data AgHBs _____

Anti-HCV

☐ Positivo ☐ Negativo ☐ Indeterminado ☐ Não Sabe

Data Anti-HCV _____

IDENTIFICACAO DO RN

Nome do RN: _____

Data do Parto: _____ Idade Gestacional: _____(semanas)

Tipo do Parto: ☐ Normal ☐ Cesário

Gemelar:

☐ Sim ☐ não

Sexo do RN:

☐ Feminino ☐ Masculino

Feto morto:

☐ Sim ☐ não

Dano perinatal/Intercorrências:

☐ Sim ☐ Não ☐ Não sabe informar

Se sim, qual? _____

Comprimento ao Nascer _____(cm) Perímetro abdominal: _____(cm)

Peso ao Nascer: _____(g)

☐ Baixo peso (<2500g)

☐ Peso insuficiente (2.500g a 2.999g)

() Peso adequado (3.000g a 3.999g) () Excesso de peso (>- 4000g)

() Sem informação

Circunferência da Cabeça: _____ (cm) Perímetro torácico: _____ (cm)

APGAR: 1min: _____

APGAR: 5min: _____

Presença de malformações? () Sim () Não

Se sim Malformações Quais? _____

Óbito na Sala de Parto:

() Sim () Não

USG Transfontanela:

Fez USG de Crânio/Transfontanela de crânio:

() Sim () Não

Data USG crânio: _____

Ventriculomegalia:

() Sim () Não

Data ventriculomegalia: _____

Calcificações:

() Sim () Não

Se sim, qual local:

() Corticais () Periventriculares () Núcleos da base

Se sim, qual tipo.

() Lineares () Puntiformes () Grosseiras

Data calcificações: _____

Ultrassom Cerebelo?

() Sim () Não

Cerebelo:

() Normal () Anormal

Data cerebelo: _____

Se anormal:

() Hipoplasia () Agenesia () Grosseiras

Vermis:

() Presente () Ausente

Data Vermis _____

Ecogenicidade da Substância branca

() Menor do que plexo coroide () Igual ao plexo coroide

() Maior do que plexo coroide

Corpo Caloso

() Presente () Digenético () Ausente

Outros achados nos exames de imagem:

OUTROS EXAMES

Fez Ultrassonografia de Abdome

() Sim () Não () Não sabe

Qual alteração? _____

Fez Ecocardiograma

() Sim () Não () Não sabe

Quais achados: _____

Teste da orelhinha/Avaliação da Fonoaudiologia

() Sim () Não () Não sabe

Qual método realizado?

() Emissão de Otoacusticas (OEA)

() Potencial Evocado Auditivo do Tronco Encefálico (PEATE)

Exame alterado:

() Sim () Não

Se sim, descrever as alterações: _____

DADOS DA OFTALMOLOGIA

Fez avaliação com Oftalmologista

() Sim () Não () Não sabe.

Quais achados? _____

SOROLOGIA DO RECÉM NASCIDO

VDRL: () Positivo () Negativo () Indeterminado () Não Sabe

Data VDRL : _____

Rubéola IgM: () Positivo () Negativo () Indeterminado () Não Sabe

Data Rubéola IgM: _____

Rubéola IgG: () Positivo () Negativo () Indeterminado () Não Sabe

Data Rubeola IgG: _____

Toxoplasmose IgM: () Positivo () Negativo () Indeterminado () Não Sabe

Data Toxoplasmose IgM: _____

Toxoplasmose IgG: () Positivo () Negativo () Indeterminado () Não Sabe

Data Toxoplasmose IgG: _____

CMV IgM: () Positivo () Negativo () Indeterminado () Não Sabe

Data CMV IgM: _____

CMV IgG: () Positivo () Negativo () Indeterminado () Não Sabe

Data CMV IgG: _____

Teste rápido HIV () Positivo () Negativo () Indeterminado () Não Sabe

Data teste HIV _____

HTLV () Positivo () Negativo () Indeterminado () Não Sabe

Data HTLV _____

AgHBs () Positivo () Negativo () Indeterminado () Não Sabe

Data AgHBs _____

Data Anti-HCV _____

Classificação InterGrowth

() Normal

() microcefalia: (recém-nascidos com um perímetro cefálico inferior a -2 desvios-padrão, ou seja, mais de 2 desvios-padrão abaixo da média para idade gestacional e sexo).

() microcefalia grave: (recém-nascidos com um perímetro cefálico inferior a -3 desvios-padrão, ou seja, mais de 3 desvios-padrão abaixo da média para idade gestacional e sexo).

DADOS LABORATORIAIS MATERNO:

Chikungunya

a) RT-PCR: Data da coleta: ____/____/____

Resultado: 1 () Reagente 2 () Não Reagente 3 () Não realizado

b) Sorologia IgM: Data da coleta: ____/____/____

Resultado: 1 () Reagente 2 () Não Reagente 3 () Não realizado

c) Sorologia IgG: Data da coleta: ____/____/____

Resultado: 1 () Reagente 2 () Não Reagente 3 () Não realizado

Dengue

a) Exame sorológico IgM: Data da coleta: ____/____/____

Resultado: 1 () Reagente 2 () Não Reagente 3 () Não realizado

b) Exame sorológico IgG: : Data da coleta: ____/____/____

Resultado: 1 () Reagente 2 () Não Reagente 3 () Não realizado

c) NS1: Data da coleta: ____/____/____

Resultado: 1 () Reagente 2 () Não Reagente 3 () Não realizado

d) RT-PCR: Data da coleta: ____/____/____

Resultado: 1 () Reagente 2 () Não Reagente 3 () Não realizado

Isolamento Viral: Data da coleta: ____/____/____

Resultado: 1 () Reagente 2 () Não Reagente 3 () Não realizado

Zika

a) Exame sorológico IgM: Data da coleta: ____/____/____

Resultado: 1 () Reagente 2 () Não Reagente 3 () Não realizado

b) Exame sorológico IgG: Data da coleta: ____/____/____

Resultado: 1 () Reagente 2 () Não Reagente 3 () Não realizado

c) RT-PCR: Data da coleta: ____/____/____

Resultado: 1 () Reagente 2 () Não Reagente 3 () Não realizado

d) Isolamento Viral: Data da coleta: ____/____/____

Resultado: 1 () Reagente 2 () Não Reagente 3 () Não realizado

DESFECHOS

Evolução do RN após o nascimento:

() Recebeu alta hospitalar – Data da alta: _____

() Ficou internado – Quantos dias de internamento: _____ dias.

() Evolui para óbito – Data do óbito: _____

CLASSIFICAÇÃO FINAL DO CASOS

() Confirmado SCZ por critério laboratorial

() Confirmado SCZ por critério de imagem

() Descartado SCZ

() Confirmado infecção congênita por outras etiologias Quais:

() Perda de seguimento/Inconclusivo.

ANEXOS

Outros artigos relacionados à tese que foram publicados em periódicos nacionais e internacionais, bem como em capítulos de livro. Dentre eles destacamos:

ANEXO 1 – ARTIGO 1

FARIA, N. R.; LOURENÇO, J.; CERQUEIRA, E. M.; LIMA, M. M. de; PYBUS, O.; ALCÂNTARA, L. C. J. Epidemiologia do vírus Chikungunya na Bahia, Brasil, 2014-2015. *PLoS Currents*, 8, 2016.

05/03/2019

Epidemiologia do Vírus Chikungunya na Bahia, Brasil, 2014-2015 - PLOS Surto de Correntes



Epidemiologia do Vírus Chikungunya na Bahia, Brasil, 2014-2015

1º de fevereiro de 2016 · Discussão

Citação

Rodrigues Faria N, Lourenço J, Marques de Cerqueira E, Maia de Lima M., Pybus O, Carlos Junior Alcântara L. Epidemiologia do Vírus Chikungunya na Bahia, Brasil, 2014-2015. *Surto de Correntes* PLOS. 2016 1 de fevereiro. Edição 1. doi: 10.1371 / correntes.outbreaks.c97507e3e48efb946401755d468c28b2.

Autores

Nuno Rodrigues Faria

Departamento de Zoologia, Universidade de Oxford, Oxford, Reino Unido.

José Lourenço

Departamento de Zoologia, Universidade de Oxford, Oxford, Reino Unido.

Erenilde Marques de Cerqueira

Centro de Pós-Graduação em Saúde Coletiva, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, Brasil.

Maricélia Maia de Lima

Centro de Pós-Graduação em Saúde Coletiva, Departamento de Saúde, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, Brasil.

Oliver Pybus

Departamento de Zoologia, Universidade de Oxford, Oxford, Reino Unido.

Luiz Carlos Junior Alcântara

FIOCRUZ, Laboratório de Hematologia, Genética e Biologia Computacional, Salvador, Bahia, Brasil.

Abstrato

O chikungunya é um arbovírus emergente que se caracteriza em quatro linhagens. Um deles, o genótipo asiático, se espalhou rapidamente nas Américas após sua introdução na ilha de Saint Martin em outubro de 2013. Inesperadamente, uma nova linhagem, o genótipo leste-centro-sul-africano, foi introduzida em Angola no final de maio de 2014 em Feira de Santana (FSA), a segunda maior cidade do estado da Bahia, Brasil, onde mais de 5.500 casos já foram relatados. Número de casos semanais de CHIKV confirmado clinicamente na FSA foram analisados juntamente com o distrito urbano de residência dos casos de CHIKV relatados entre junho de 2014 e outubro coletados da rede de vigilância do município. O número de casos por semana, de junho de 2014 a setembro de 2015, revela duas ondas de transmissão distintas. A primeira onda iniciou-se em junho e a transmissão cessou em dezembro de 2014. No entanto, uma segunda onda de transmissão começou em janeiro e atingiu o pico em maio de 2015, 8 meses após o pico da primeira onda, e desta vez em fase com transmissão do vírus da dengue e zika, que cessou quando a temperatura mínima caiu para aproximadamente 15 ° C. Descobrimos que os tempos de viagem mais curtos do distrito onde o surto emergiu

ANEXO 2 – ARTIGO 2

FARIA, N. R. et al. *Zika virus in the Americas: early epidemiological and genetic findings*. *Science*, v. 352, n. 6283, p. 345-349, 2016.

LETTER

doi:10.1038/nature22401

Establishment and cryptic transmission of Zika virus in Brazil and the Americas

N. R. Faria^{1,2*}, J. Quick^{3*}, I. M. Claro^{4*}, J. Théze^{1*}, J. G. de Jesus^{5*}, M. Giovanetti^{5,6*}, M. U. G. Kraemer^{1,7,8*}, S. C. Hill^{1*}, A. Black^{9,10*}, A. C. da Costa⁴, L. C. Franco², S. P. Silva², C.-H. Wu¹¹, J. Raghwan¹, S. Cauchemez^{12,13}, L. du Plessis¹, M. P. Verotti¹⁴, W. K. de Oliveira^{15,16}, E. H. Carmo¹⁷, G. E. Coelho^{18,19}, A. C. F. S. Santelli^{18,20}, L. C. Vinhal¹⁸, C. M. Henriques¹⁷, J. T. Simpson²¹, M. Loose²², K. G. Andersen²³, N. D. Grubaugh²³, S. Somasekar²⁴, C. Y. Chiu²⁴, J. E. Muñoz-Medina²⁵, C. R. Gonzalez-Bonilla²⁵, C. F. Arias²⁶, L. L. Lewis-Ximenez²⁷, S. A. Baylis²⁸, A. O. Chieppe²⁹, S. F. Aguiar²⁹, C. A. Fernandes²⁹, P. S. Lemos³, B. L. S. Nascimento³, H. A. O. Monteiro³, I. C. Siqueira³, M. G. de Queiroz³⁰, T. R. de Souza^{30,31}, J. F. Bezerra^{30,32}, M. R. Lemos³³, G. F. Pereira³³, D. Loudal³³, L. C. Moura³³, R. Dhalia³⁴, R. F. França³⁴, T. Magalhães^{34,35}, E. T. Marques Jr³⁴, T. Jaenisch³⁷, G. L. Wallau³⁴, M. C. de Lima³⁸, V. Nascimento³⁸, E. M. de Cerqueira³⁸, M. M. de Lima³⁹, D. L. Mascarenhas⁴⁰, J. P. Moura Neto⁴¹, A. S. Levin⁴, T. R. Tozetto-Mendoza⁴, S. N. Fonseca⁴², M. C. Mendes-Correa⁴, F. P. Milagres⁴³, A. Segurado⁴, E. C. Holmes⁴⁴, A. Rambaut^{45,46}, T. Bedford⁹, M. R. T. Nunes^{2,47}, E. C. Sabino⁴, L. C. J. Alcantara⁴, N. J. Loman⁴ & O. G. Pybus^{1,48}

Transmission of Zika virus (ZIKV) in the Americas was first confirmed in May 2015 in northeast Brazil¹. Brazil has had the highest number of reported ZIKV cases worldwide (more than 200,000 by 24 December 2016²) and the most cases associated with microcephaly and other birth defects (2,366 confirmed by 31 December 2016²). Since the initial detection of ZIKV in Brazil, more than 45 countries in the Americas have reported local ZIKV transmission, with 24 of these reporting severe ZIKV-associated disease³. However, the origin and epidemic history of ZIKV in Brazil and the Americas remain poorly understood, despite the value of this information for interpreting observed trends in reported microcephaly. Here we address this issue by generating 54 complete or partial ZIKV genomes, mostly from Brazil, and reporting data generated by a mobile genomics laboratory that travelled across northeast Brazil in 2016. One sequence represents the earliest confirmed ZIKV infection in Brazil. Analyses of viral genomes with ecological and epidemiological data yield an estimate that ZIKV was present in northeast Brazil by February 2014 and is likely to have disseminated from there, nationally and internationally, before the first detection of ZIKV in the Americas. Estimated dates for the international spread of ZIKV from Brazil indicate the duration of pre-detection cryptic transmission in recipient regions. The role of northeast Brazil in the establishment of ZIKV in the Americas is further supported by geographic analysis of ZIKV transmission

potential and by estimates of the basic reproduction number of the virus.

Previous phylogenetic analyses have indicated that the ZIKV epidemic was caused by the introduction of an Asian genotype lineage into the Americas around late 2013, at least one year before its detection there⁴. An estimated 100 million people in the Americas are predicted to be at risk of acquiring ZIKV once the epidemic has reached its full extent⁵. However, little is known about the genetic diversity and transmission history of the virus in Brazil⁶. Reconstructing the spread of ZIKV from case reports alone is challenging because symptoms (typically fever, headache, joint pain, rashes, and conjunctivitis) overlap with those caused by co-circulating arthropod-borne viruses⁷ and owing to a lack of nationwide ZIKV-specific surveillance in Brazil before 2016.

We undertook a collaborative investigation of the molecular epidemiology of ZIKV in Brazil, including results from a mobile genomics laboratory that travelled through northeast Brazil during June 2016 (the ZIBRA project; <http://www.zibraproject.org>). Of five regions of Brazil (Fig. 1a), the northeast region has the most notified ZIKV cases (40% of Brazilian cases) and the most confirmed microcephaly cases (76% of Brazilian cases, as of 31 December 2016²), raising questions about why the region has been so severely affected⁸. Furthermore, northeast Brazil is the most populous region of Brazil that also has potential for year-round ZIKV transmission⁹. With support from the Brazilian

¹Department of Zoology, University of Oxford, Oxford OX1 3SY, UK. ²Evandro Chagas Institute, Ministry of Health, Ananindeua, Brazil. ³Institute of Microbiology and Infection, University of Birmingham, Birmingham, UK. ⁴Department of Infectious Disease, School of Medicine & Institute of Tropical Medicine, University of São Paulo, São Paulo, Brazil. ⁵Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Salvador, Bahia, Brazil. ⁶University of Rome Tor Vergata, Rome, Italy. ⁷Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, USA. ⁸Boston Children's Hospital, Boston, Massachusetts, USA. ⁹Vaccine and Infectious Disease Division, Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, Washington, USA. ¹⁰Department of Epidemiology, University of Washington, Seattle, Washington, USA. ¹¹Department of Statistics, University of Oxford, Oxford OX1 3LB, UK. ¹²Mathematical Modelling of Infectious Diseases and Center of Bioinformatics, Biostatistics and Integrative Biology, Institut Pasteur, Paris, France. ¹³Centre National de la Recherche Scientifique, URA3012, Paris, France. ¹⁴Coordenação dos Laboratórios de Saúde (CGLAB/DEVIT/SVS), Ministry of Health, Brasília, Brazil. ¹⁵Coordenação Geral de Vigilância e Resposta às Emergências em Saúde Pública (CGVR/DEVIT), Ministry of Health, Brasília, Brazil. ¹⁶Center of Data and Knowledge Integration for Health (CIDACS), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Salvador, Brazil. ¹⁷Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis, Ministry of Health, Brasília, Brazil. ¹⁸Coordenação Geral dos Programas de Controle e Prevenção da Malária e das Doenças Transmissíveis pelo Aedes, Ministry of Health, Brasília, Brazil. ¹⁹Pan American Health Organization (PAHO), Buenos Aires, Argentina. ²⁰Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Brazil. ²¹Ontario Institute for Cancer Research, Toronto, Ontario, Canada. ²²University of Nottingham, Nottingham, UK. ²³Department of Immunology and Microbial Science, The Scripps Research Institute, La Jolla, California 92037, USA. ²⁴Departments of Laboratory Medicine and Medicine & Infectious Diseases, University of California, San Francisco, California, USA. ²⁵División de Laboratorios de Vigilancia e Investigación Epidemiológica, Instituto Mexicano del Seguro Social, Ciudad de México, México. ²⁶Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, México. ²⁷Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, Brazil. ²⁸Paul Ehrlich Institut, Langen, Germany. ²⁹Laboratório Central de Saúde Pública Noel Neteo, Rio de Janeiro, Brazil. ³⁰Laboratório Central de Saúde Pública do Estado do Rio Grande do Norte, Natal, Brazil. ³¹Universidade Potiguar do Rio Grande do Norte, Natal, Brazil. ³²Faculdade Natalense de Ensino e Cultura, Rio Grande do Norte, Natal, Brazil. ³³Laboratório Central de Saúde Pública do Estado da Paraíba, João Pessoa, Brazil. ³⁴Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Recife, Pernambuco, Brazil. ³⁵Department of Microbiology, Immunology & Pathology, Colorado State University, Fort Collins, Colorado 80523, USA. ³⁶Center for Vaccine Research, Graduate School of Public Health, University of Pittsburgh, Pittsburgh, Pennsylvania, USA. ³⁷Section Clinical Tropical Medicine, Department for Infectious Diseases, Heidelberg University Hospital, Heidelberg, Germany. ³⁸Laboratório Central de Saúde Pública do Estado de Alagoas, Maceió, Brazil. ³⁹Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, Brazil. ⁴⁰Secretaria de Saúde de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, Brazil. ⁴¹Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Brazil. ⁴²Hospital São Francisco, Ribeirão Preto, Brazil. ⁴³Universidade Federal do Tocantins, Palmas, Brazil. ⁴⁴University of Sydney, Sydney, Australia. ⁴⁵Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh, Edinburgh EH9 3FL, UK. ⁴⁶Fogarty International Center, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland 20892, USA. ⁴⁷Department of Pathology, University of Texas Medical Branch, Galveston, Texas 77555, USA. ⁴⁸Metabiota, San Francisco, California 94104, USA.

*These authors contributed equally to this work.

†These authors jointly supervised this work.

ANEXO 3 – ARTIGO 3

FARIA, Nuno Rodrigues et al. *Zika vírus in the Americas: early epidemiological and genetic findings*. *Science*, v. 352, n. 6283, p. 345-349, 2016.

RESEARCH | REPORTS

ZIKA VIRUS OUTBREAK

Zika virus in the Americas: Early epidemiological and genetic findings

Nuno Rodrigues Faria,^{1,2,3} Raimundo do Socorro da Silva Azevedo,^{3,4} Moritz U. G. Kraemer,⁵ Renato Souza,⁴ Mariana Sequeitin Cunha,⁴ Sarah C. Hill,³ Julien Théze,² Michael B. Bonsall,³ Thomas A. Bowden,⁵ Ilona Rissanen,³ Iray Maria Rocco,⁴ Juliana Silva Nogueira,⁴ Adriana Yuriika Maeda,⁴ Fernanda Giodi da Silva Vasami,⁴ Fernando Luiz de Lima Macedo,⁴ Akemi Suzuki,⁴ Sueli Guerreiro Rodrigues,³ Ana Cecília Ribeiro Cruz,³ Bruno Tardelli Nunes,³ Daniele Barbosa de Almeida Medeiros,³ Daniela Sueli Guerreiro Rodrigues,³ Alice Louize Nunes Queiroz,³ Eliana Vieira Pinto da Silva,³ Daniele Freitas Henriques,³ Elzabeth Salbe Travassos da Rosa,³ Consuelo Silva de Oliveira,³ Lívia Carício Martins,³ Helena Baldez Vasconcelos,³ Lívia Medeiros Neves Casseb,³ Darlene de Brito Smith,³ Jane P. Messina,^{2,6} Leandro Abade,² José Lourenço,² Luiz Carlos Junior Alcantara,⁷ Maricélia Maia de Lima,⁸ Marta Giovanetti,⁷ Simon I. Hay,^{9,10} Rodrigo Santos de Oliveira,¹ Poliana da Silva Lemos,¹ Layanna Freitas de Oliveira,¹ Clayton Pereira Silva de Lima,¹ Sandro Patroca da Silva,¹ Janaina Mota de Vasconcelos,¹ Luciano Franco,¹ Jelson Ferreira Cardoso,¹ João Lúcio da Silva Gonçalves Vianez-Júnior,¹ Daiana Mir,¹⁰ Gonzalo Bello,¹⁰ Edison Delatorre,¹⁰ Kamran Khan,^{11,12} Marka Crestore,¹³ Giovannini Evelim Coelho,¹⁴ Wanderson Kleber de Oliveira,¹⁴ Robert Tesh,¹⁵ Oliver G. Pybus,^{2,6}†† Maricio R. T. Nunes,^{1,15}†† Pedro E. C. Vasconcelos²††

Brazil has experienced an unprecedented epidemic of Zika virus (ZIKV), with ~30,000 cases reported to date. ZIKV was first detected in Brazil in May 2015, and cases of microcephaly potentially associated with ZIKV infection were identified in November 2015. We performed next-generation sequencing to generate seven Brazilian ZIKV genomes sampled from four self-limited cases, one blood donor, one fatal adult case, and one newborn with microcephaly and congenital malformations. Results of phylogenetic and molecular clock analyses show a single introduction of ZIKV into the Americas, which we estimated to have occurred between May and December 2013, more than 12 months before the detection of ZIKV in Brazil. The estimated date of origin coincides with an increase in air passengers to Brazil from ZIKV-endemic areas, as well as with reported outbreaks in the Pacific Islands. ZIKV genomes from Brazil are phylogenetically interspersed with those from other South American and Caribbean countries. Mapping mutations onto existing structural models revealed the context of viral amino acid changes present in the outbreak lineage; however, no shared amino acid changes were found among the three currently available virus genomes from microcephaly cases. Municipality-level incidence data indicate that reports of suspected microcephaly in Brazil best correlate with ZIKV incidence around week 17 of pregnancy, although this correlation does not demonstrate causation. Our genetic description and analysis of ZIKV isolates in Brazil provide a baseline for future studies of the evolution and molecular epidemiology of this emerging virus in the Americas.

Zika virus (ZIKV) is a single-stranded, positive-sense RNA virus with a 10.7-kb genome encoding a single polyprotein that is cleaved into three structural proteins (C, prM/M, E) and seven nonstructural proteins (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, and NS5) (1). ZIKV is a member of the family *Flaviviridae*, genus *Flavivirus*, and is transmitted among humans by *Aedes* mosquito species such as *A. aegypti*,

A. albopictus, and *A. africanus*. The virus was first isolated in 1947 from a sentinel rhesus monkey in the Zika forest in Uganda (2) and is classified by sequence analysis into two genotypes, African and Asian (3). In humans, ZIKV infection typically causes a mild and self-limiting illness known as Zika fever (4), which is accompanied by maculopapular rash, headache, conjunctivitis, and myalgia. In April 2007, a large epidemic of

Asian genotype ZIKV was reported in Yap Island and Guam, Micronesia (5, 6). Between 2013 and 2014, the ZIKV Asian genotype caused epidemics reported in several Pacific Islands, including French Polynesia (7), New Caledonia (8), the Cook Islands (9), Tahiti (10), and Easter Island (11).

By May 2015, ZIKV was reported in Brazil (12) and, subsequently, in several Central and South American countries and in the Caribbean. In Brazil, nearly 30,000 cases of ZIKV infection had been reported by 30 January 2016 (supplementary materials section 1.4). These occurrences point to an epidemic peak in mid-July 2015 (Fig. 1A), and most Brazilian ZIKV cases (93%) were reported in Bahia state (Fig. 1B). Surveillance of ZIKV in Brazil began after the country's first reported case and is conducted through the national Notifiable Diseases Information System (SINAN), which currently relies on passive case detection and reporting and therefore underestimates incidence (23). ZIKV is now widespread in Brazil, with autochthonous transmission and high incidence notified in 22 of 27 administrative states (24). ZIKV infection during pregnancy has been hypothesized to cause microcephaly and congenital abnormalities (15–20). The detection of ZIKV in fetal brain tissue (21, 22) and amniotic fluid (21) supports the hypothesis that the virus is transmitted from mother to child (22); further, the virus infects neural progenitor cells in vitro (23). In Brazil, between November 2015 and 30 January 2016, 4783 suspected cases of microcephaly were reported electronically to the RESP database (www.resp.saude.gov.br; Ministry of Health, Brazil) (supplementary materials section 1.4) (Fig. 1C), although most suspected cases are still under investigation and a substantial proportion may represent misdiagnosis and overreporting (24). Using the 4 March 2016 World Health Organization guidelines for microcephaly diagnosis (25), we identified a total of 1118 suspected microcephaly cases suitable for analysis. The relation between total per-capita ZIKV incidence (Fig. 1B) and per-capita suspected microcephaly cases (Fig. 1C) in each state is weak and only significant under nonparametric correlation ($P < 0.01$) (Fig. 1A); noise and uncertainty probably affect both variables. However, the relation is strengthened if suspected microcephaly cases are measured per pregnancy (Fig. 1B). For municipalities with reported ZIKV incidence and cases of suspected microcephaly, we used a simple linear model to link microcephaly cases as a function of past ZIKV incidence (supplementary materials section 1.5). On average, suspected microcephaly cases are best predicted by ZIKV incidence during week 17 of pregnancy (95% confidence interval of mean = ± 0.11 weeks) or week 14 for suspected

¹Center for Technological Innovation, Evandro Chagas Institute, Ministry of Health, Ananias, PA 67030-000, Brazil. ²Department of Zoology, University of Oxford, South Parks Road, Oxford, OX1 3PS, UK. ³Department of Arbovirology and Hemorrhagic Fevers, Evandro Chagas Institute, Ministry of Health, Ananias, Pará State, Brazil. ⁴Instituto Adolfo Lutz, University of São Paulo, São Paulo, Brazil. ⁵Wellcome Trust Centre for Human Genetics, University of Oxford, Oxford, UK. ⁶Metabiota, San Francisco, CA 94104, USA. ⁷Oswaldo Cruz Foundation (FIOCRUZ), Salvador, Bahia, Brazil. ⁸Centre of Post-Graduation in Collective Health, Department of Health, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, Brazil. ⁹Institute for Health Metrics and Evaluation, University of Washington, Seattle, WA 98121, USA. ¹⁰Laboratório de ADS e Imunologia Molecular, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brazil. ¹¹Li Ka Shing Knowledge Institute, St. Michael's Hospital, Toronto, Ontario, Canada. ¹²Department of Medicine, Division of Infectious Diseases, University of Toronto, Toronto, Ontario, Canada. ¹³Dalla Lana School of Public Health, University of Toronto, Toronto, Ontario, Canada. ¹⁴Brazilian Ministry of Health, Brasília, Brazil. ¹⁵Department of Pathology, University of Texas Medical Branch, Galveston, TX 77555, USA. ^{††}These authors contributed equally to this work. [†]Corresponding author. E-mail: oliver.pybus@zoo.ox.ac.uk (O.G.P.); marcionunesbrasil@yahoo.com.br (M.R.T.N.); pedrovasconcelos@ecp.gov.br (P.E.C.V.).

ANEXO 4 – ARTIGO 4

CUNHA, Rivaldo V. et al. *Seroprevalence of Chikungunya virus in a rural community in Brazil. PLoS neglected tropical diseases*, v. 11, n. 1, p. e0005319, 2017.



RESEARCH ARTICLE

Seroprevalence of Chikungunya Virus in a Rural Community in Brazil

Rivaldo V. Cunha^{1,2}, Karen S. Trinta³, Camila A. Montalbano⁴, Michel V. F. Sucupira³, Maricelia M. de Lima^{5,6}, Erenilde Marques⁶, Izilyanne H. Romanholi⁴, Julio Croda^{2,7*}

1 Faculty of Medicine, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil, **2** Oswaldo Cruz Foundation, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil, **3** Bio-Manguinhos, Oswaldo Cruz Foundation, Rio de Janeiro, Brazil, **4** Faculty of Medicine, Federal University of Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil, **5** Municipal Health Department of Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, Brazil, **6** State University of Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, Brazil, **7** Faculty of Health Sciences, Federal University of Grande Dourados, Dourados, Mato Grosso do Sul, Brazil

* julio.croda@fiocruz.br, julio.croda@ufgd.edu.br



Abstract

Background

The emergence of the Chikungunya virus (CHIKV) is currently expanding. In 2015, 38,332 cases of Chikungunya were reported to the Brazilian epidemiological surveillance system. Eighteen months after notification of the first case in the city of Feira de Santana, we conducted the first serosurvey to define the magnitude of transmission in a rural community in Brazil.

Methodology/Main findings

The serosurvey was conducted in a random sample of 450 residences in the Chapada district, located 100 kilometers from Feira de Santana. We administered questionnaires and tested 120 sera from Chapada district residents for CHIKV IgM- and IgG-specific antibodies. An individual with CHIKV infection was defined as any person with CHIKV IgM or IgG antibodies detected in the serum. One Hundred cases of Chikungunya were reported after prolonged rainfall, which reinforced the relationship between the rainfall index and CHIKV transmission. Eighteen months after the start of the outbreak, we identified a seroprevalence of 20% (95% CI, 15.4–35%). CHIKV IgG- and IgM-specific antibodies were detected in 22/120 (18.3%) and 6/120 (5.0%) individuals, respectively. Among seropositive patients, 13/24 (54.2%) reported fever and joint pain over the previous two years ($p < 0.01$). The rate of symptomatic CHIKV infection was 40.7%.

Conclusions/Significance

We identified a moderate seroprevalence of Chikungunya in the Chapada district, and in half of the confirmed CHIKV infections, patients reported arthralgia and fever over the previous two years.

OPEN ACCESS

Citation: Cunha RV, Trinta KS, Montalbano CA, Sucupira MVF, de Lima MM, Marques E, et al. (2017) Seroprevalence of Chikungunya Virus in a Rural Community in Brazil. *PLoS Negl Trop Dis* 11(1): e0005319. doi:10.1371/journal.pntd.0005319

Editor: Roberto Barreto, Centers for Disease Control and Prevention, UNITED STATES

Received: September 13, 2016

Accepted: January 10, 2017

Published: January 20, 2017

Copyright: © 2017 Cunha et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

Funding: The authors are grateful to Fundação Oswaldo Cruz, Bio-Manguinhos and Instituto de Biologia Molecular do Paraná for their full support during the study period. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

ANEXO 5 – ARTIGO 5

PEREZ-GUZMAN, P. N.; ALCANTARA, L. C. J.; OBOLSKI, U.; **LIMA, M. M. de;** ASHLEY, E. A.; SMITHUIS, F.; HORBY, P.; MAUDE, R. J.; ZAW, L.; KYAW, A. M. M.; LOURENÇO, J. D. Medindo a adequação viral transmitida por mosquitos em Mianmar e as implicações para a transmissão local do Zika vírus. *Plos Currents Outbreaks*, Edição 1, 2018

03/03/2019 Measuring Mosquito-borne Viral Suitability in Myanmar and Implications for Local Zika Virus Transmission – PLOS Currents Outbre...



Medindo a adequação viral transmitida por mosquitos em Mianmar e as implicações para a transmissão local do zika vírus

28 de setembro de 2018 · Artigo de Pesquisa

Citation

Perez-Guzmán PN, Carlos Junior Alcántara L, Obolski U, de Lima MM, Ashley EA, Smithuis F, Horby P, Maude RJ, Lin Z, MAM Kyaw, Lourenço J. Medição da aptidão viral transmitida por mosquitos em Mianmar e implicações para a população local Transmissão do vírus Zika. Surto de Correntes PLOS. 2018 28 de setembro. Edição 1. doi: 10.1371 / correntes.outbreaks.7a6c64436a3085ebba37e5329ba169e6.

Autores

[Pablo Noel Perez-Guzman](#)

Departamento de Saúde Global e Medicina Tropical, Universidade de Oxford, Reino Unido; Departamento de Epidemiologia das Doenças Infecciosas, Imperial College, Londres, Reino Unido.

[Luiz Carlos Junior Alcantara](#)

Laboratório de Hematologia, Genética e Biologia Computacional, FIOCRUZ, Brasil.

[Uri Obolski](#)

Departamento de Zoologia, Universidade de Oxford, Reino Unido.

[Maricelia M. de Lima](#)

Laboratório de Hematologia, Genética e Biologia Computacional, FIOCRUZ, Brasil.

[Elizabeth A. Ashley](#)

Myanmar-Oxford Clinical Research Unit, Yangon; Centre for Tropical Medicine and Global Health, Nuffield Department of Medicine, University of Oxford, UK.

[Frank Smithuis](#)

Myanmar-Oxford Clinical Research Unit, Yangon; Nuffield Department of Medicine, University of Oxford, UK; Centre for Tropical Medicine and Global Health, Nuffield Department of Medicine, University of Oxford, UK.

[Peter Horby](#)

Nuffield Department of Medicine, University of Oxford, UK.

[Richard J. Maude](#)

Nuffield Department of Medicine, University of Oxford, UK; Centre for Tropical Medicine and Global Health, Nuffield Department of Medicine, University of Oxford, UK; Mahidol-Oxford Tropical Medicine Research Unit, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Thailand; Harvard TH Chan School of Public Health, Harvard University, Boston, USA.

[Zaw Lin](#)

Myanmar Ministry of Health and Sports, Naypyidaw, Myanmar.

[Aye Mon Mon Kyaw](#)

ANEXO 6 – ARTIGO 6

OLIVEIRA, M. C.; MOREIRA, R. C. R.; LIMA, M. M. de; MELO, R. O. Vivências de mães que tiveram filhos com microcefalia. **Rev Baiana Enferm.** 32:e26350, 2018.

DOI 10.18471/rbe.v32.26350

Artigo Original¹

VIVÊNCIAS DE MÃES QUE TIVERAM FILHOS COM MICROCEFALIA

EXPERIENCES OF MOTHERS WHO HAD CHILDREN WITH MICROCEPHALY

EXPERIENCIAS DE MADRES QUE TUVIERON HIJOS CON MICROCEFALIA

Mayra Cordeiro Oliveira¹
Rita de Cássia Rocha Moreira²
Maricélia Maia Lima³
Rosana Oliveira Melo⁴

Como citar este artigo: Oliveira MC, Moreira RCR, Lima MM, Melo RO. Vivências de mães que tiveram filhos com microcefalia. *Rev Baiana enferm.* 2018;32:e26350.

Objetivo: compreender as vivências de mães que tiveram filhos com microcefalia. **Método:** estudo qualitativo realizado com oito mulheres, maiores de 18 anos. Foi aplicada a técnica da entrevista semiestruturada em abril de 2017. Para a análise dos dados, utilizou-se a técnica de análise de conteúdo. **Resultados:** emergiram três categorias analíticas: a vivência do diagnóstico da microcefalia; ótica de mães; encontros e (des)encontros dos pais e da família no cuidado à criança com microcefalia; aprendizado com os desafios da microcefalia. As falas revelaram a força de vontade e a determinação das mães no enfrentamento das dificuldades, apesar da vivência marcada por expressões de sofrimento e dor. **Conclusão:** a situação vivenciada por mães que tiveram filhos com microcefalia gera incertezas em relação ao futuro do filho, altera a dinâmica familiar, a relação do casal, o rendimento financeiro e determina a opção de abandonar o trabalho profissional para cuidar do filho.

Descritores: Mães. Microcefalia. Cuidado da Criança. Zika Vírus.

Objective: understand the experiences of mothers who had children with microcephaly. **Method:** this is a qualitative study carried out with eight women aged 18 years and older. The semi-structured interview technique was applied in April 2017. For the analysis of the data, the technique of content analysis was used. **Results:** three analytical categories emerged: the experience of the diagnosis of microcephaly; mothers' optics; encounters and disagreements of the parents and the family in the care of the child with microcephaly; learning with the challenges of microcephaly. The speeches revealed the willpower and determination of the mothers in facing the difficulties, despite the experience marked by expressions of suffering and pain. **Conclusion:** the situation experienced by mothers who had children with microcephaly generates uncertainties regarding the future of the child, changes the family dynamics, the relationship of the couple, and the income, and defines the option to abandon the professional work to take care of the child.

Descriptors: Mothers. Microcephaly. Child Care. Zika Virus.

Objetivo: comprender las experiencias de las madres que tuvieron hijos con microcefalia. **Método:** estudio cualitativo realizado con ocho mujeres, mayores de 18 años. Se aplicó la técnica de entrevista semiestructurada en abril de

¹ Enfermeira, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, Brasil. mayra.cordeiro@hotmail.com

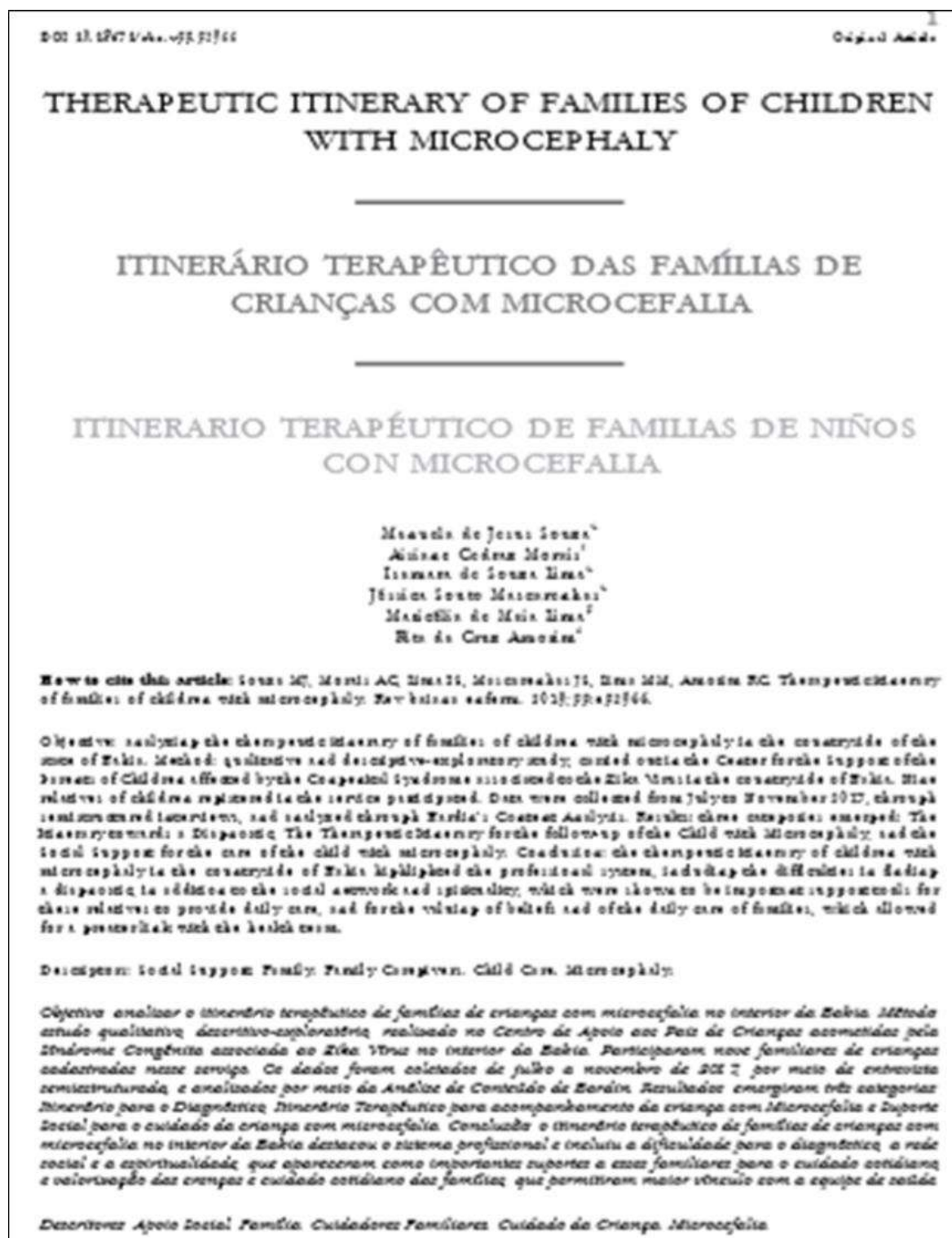
² Enfermeira, Doutora em Enfermagem, Professora Adjunta da Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, Brasil.

³ Enfermeira, Mestre em Enfermagem, Professora Assistente da Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, Brasil.

⁴ Enfermeira, Mestre em Enfermagem, Professora Assistente da Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, Brasil.

ANEXO 7 – ARTIGO 7

SOUZA, M. J.; MORAIS, A. C.; LIMA, I. S.; MASCARENHAS, J. S.; LIMA, M. M. de; AMORIM, R. C. *Therapeutic itinerary of families of children with microcephaly*. *Rev. Baiana Enfermagem*. 33:e32966, 2019.



ANEXO 8 – ARTIGO 8

PEREIRA, Zuinara; LIMA, M. M. de; ALCANTARA, Luiz Carlos Junior; GIOVANETTI, Marta et al. *Return of the founder Chikungunya virus to its place of introduction into Brazil is revealed by genomic characterization of exanthematic disease cases. **Emerging Microbes & Infections**, 9:1, 53-57, 2020. Disponível em: DOI: 10.1080/22221751.2019.1701954*



Emerging Microbes & Infections

ISSN: (Print) 2222-1751 (Online) journal homepage: <https://www.tandfonline.com/loi/tem20>



Return of the founder Chikungunya virus to its place of introduction into Brazil is revealed by genomic characterization of exanthematic disease cases

Zuinara Pereira Gusmão Maia, Felicidade Mota Pereira, Rodrigo Fabiano do Carmo Said, Vagner Fonseca, Tiago Gräf, Fernanda de Bruycker Nogueira, Vanessa Brandão Nardy, Joilson Xavier, Maricélia Lima Maia, André L. Abreu, Carlos F. Campelo de Albuquerque, Wanderson Kleber Oliveira, Julio Croda, Ana Maria Bispo de Filippis, Rivaldo Venancio Cunha, Jose Lourenço, Tulio de Oliveira, Nuno Rodrigues Faria, Luiz Carlos Junior Alcantara & Marta Giovanetti

To cite this article: Zuinara Pereira Gusmão Maia, Felicidade Mota Pereira, Rodrigo Fabiano do Carmo Said, Vagner Fonseca, Tiago Gräf, Fernanda de Bruycker Nogueira, Vanessa Brandão Nardy, Joilson Xavier, Maricélia Lima Maia, André L. Abreu, Carlos F. Campelo de Albuquerque, Wanderson Kleber Oliveira, Julio Croda, Ana Maria Bispo de Filippis, Rivaldo Venancio Cunha, Jose Lourenço, Tulio de Oliveira, Nuno Rodrigues Faria, Luiz Carlos Junior Alcantara & Marta Giovanetti (2020) Return of the founder Chikungunya virus to its place of introduction into Brazil is revealed by genomic characterization of exanthematic disease cases, *Emerging Microbes & Infections*, 9:1, 53-57, DOI: [10.1080/22221751.2019.1701954](https://doi.org/10.1080/22221751.2019.1701954)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/22221751.2019.1701954>



© 2019 The Author(s). Published by Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group, on behalf of Shanghai Shangxun Cultural Communication Co., Ltd



View supplementary material [\[if\]](#)



Published online: 27 Dec 2019.



Submit your article to this journal [\[if\]](#)



Article views: 560

PUBLICAÇÕES EM CAPÍTULOS DE LIVROS

Patologia das Doenças 2

Yvanna Carla de Souza Salgado
(Organizadora)



Atena
Editora

Ano 2018

2018 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Geraldo Alves e Natália Sandrini

Revisão: Os autores

Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
 Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
 Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
 Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
 Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
 Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
 Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
 Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
 Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall'Acqua – Universidade Federal de Rondônia
 Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
 Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
 Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
 Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
 Profª Drª Gislene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
 Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale delle Figlie de Maria Ausiliatrice
 Profª Drª Juliane Sant'Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
 Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
 Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
 Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
 Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
 Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
 Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
 Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
 Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista
 Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
 Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas
 Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
 Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
 Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)	
P312	Patologia das doenças 2 [recurso eletrônico] / Organizadora Yvanna Carla de Souza Salgado. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2018. – (Patologia das Doenças; v. 2) Formato: PDF Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader Modo de acesso: World Wide Web Inclui bibliografia ISBN 978-85-85107-85-7 DOI 10.22533/at.ed.857181411 1. Doenças transmissíveis. 2. Patologia. I. Salgado, Yvanna Carla de Souza. II. Série. CDD 616.9
Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422	

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

2018

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.
www.atenaeditora.com.br

ANEXO 9 – CAPÍTULO 8 – PATOLOGIAS DAS DOENÇAS

LIMA, Maricelia M. de; CERQUEIRA, Erenilde; BARRETO, Melissa; CERQUEIRA, Hélvia Maia de Lima; CUNHA, R. Venâncio da; ALCÂNTARA, Luiz Carlos Junior. (Re) organização da vigilância epidemiológica no enfrentamento da tríplice epidemia de dengue, Chikungunya e Zika: desatando nós e buscando caminhos. In: SALGADO, Y. C. de S. **Patologia das Doenças 2**. Ponta Grossa: Atena Editora, 2018, p. 72-89.

CAPÍTULO 8

(RE) ORGANIZAÇÃO DA VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA NO ENFRENTAMENTO DA TRÍPLICE EPIDEMIA DE DENGUE, CHIKUNGUNYA E ZIKA: DESATANDO NÓS E BUSCANDO CAMINHOS

Maricelia Maia de Lima

Universidade Estadual de Feira de Santana -
Bahia,

Secretaria Municipal de Saúde de Feira de
Santana - Bahia.

Erenilde Marques de Cerqueira

Universidade Estadual de Feira de Santana -
Bahia,

Melissa Barreto Falcão

Universidade Estadual de Feira de Santana -
Bahia,

Secretaria Municipal de Saúde de Feira de
Santana - Bahia.

Hélvia Maia de Lima Cerqueira

Universidade Estadual de Feira de Santana -
Bahia,

Secretaria Municipal de Saúde de Feira de
Santana - Bahia.

Rivaldo Venâncio da Cunha

Fundação Oswaldo Cruz - Fiocruz - Manguinhos,
Rio de Janeiro.

Universidade Federal do Mato Grosso do Sul.

Luiz Carlos Junior Alcântara

Fundação Oswaldo Cruz - Fiocruz - Manguinhos,
Rio de Janeiro.

casos de Zika (ZIKV). Considerando que dengue já era endêmica, o que se observou foi um cenário de triplice epidemia com circulação simultânea dos três arbovírus. Objetivo foi descrever as características epidemiológicas e ações de vigilância epidemiológica (VE) no enfrentamento da tríplice epidemia, Feira de Santana, 2014-2015. Foi elaborado o Plano de Contingência Emergencial priorizando: a (re) organização da rede de saúde; ações de Educação Permanente em Saúde (EPS), comunicação e mobilização social; integração dos serviços; análise da situação de saúde, ações de VE e prevenção e controle do vetor. A epidemia gerou superlotação dos serviços e sobrecarga de trabalho. A (re) organização dos serviços e (re) definição do fluxo de atendimento melhorou o acesso, a resolubilidade dos problemas e integração dos serviços. Diante da dificuldade de diagnóstico laboratorial e do pouco conhecimento dos profissionais sobre o manejo clínico dessas arboviroses, as capacitações em serviço e a implantação do Ambulatório de Infectologia de chikungunya crônica, foram fundamentais. A imprensa, mobilização social e elaboração de boletins epidemiológicos ajudaram na disseminação das informações. No período foram confirmados 2.149 casos de dengue, 3.588 de chikungunya e 858 de zika. Conclui-se que a (re) organização das ações melhorou o acesso e a assistência. As ações

RESUMO: Em setembro de 2014, o município de Feira de Santana confirmou a transmissão autóctone do vírus Chikungunya (CHIKV) na Bahia e março de 2015 registrou os primeiros

de EPS aliado às parcerias com a imprensa e as ações de mobilização social foram fundamentais para a prevenção e controle do vetor.

PALAVRAS-CHAVE: Vigilância Epidemiológica, dengue, chikungunya e zika.

ABSTRACT: In September 2014, the municipality of Feira de Santana confirmed the autochthonous transmission of the Chikungunya virus (CHIKV) in Bahia and March of 2015 registered the first cases of Zika (ZIKV). Considering that dengue was already endemic, what was observed was a scenario of triple epidemic with simultaneous circulation of the three arboviruses. Objective was to describe the epidemiological characteristics and actions of epidemiological surveillance in coping with the triple epidemic, Feira de Santana, 2014-2015. The Emergency Contingency Plan was developed prioritizing: (re) organization of the health network; actions of Permanent Education in Health (EPS), communication and social mobilization; integration of services; health situation analysis, surveillance actions and vector prevention and control. The epidemic has led to overcrowding of services and work overload. The (re) organization of services and (re) definition of the flow of care improved access, problem solving and service integration. Faced with the difficulty of laboratory diagnosis and the lack of knowledge of the professionals about the clinical management of these arboviruses, the in-service training and the implementation of the chronic chikungunya infectious disease outpatient clinic were fundamental. The press, social mobilization and the elaboration of epidemiological bulletins helped in the dissemination of information. In the period were confirmed 2,149 cases of dengue, 3,588 of chikungunya and 858 of zika. It was concluded that (re) organization of actions improved access and assistance. The actions of EPS together with the partnerships with the press and social mobilization actions were fundamental for the prevention and control of the vector.

KEYWORDS: Epidemiological Surveillance, dengue, chikungunya and zika.

1 | INTRODUÇÃO

1.1 Arbovírus Dengue, Chikungunya e Zika: Aspectos Epidemiológicos

Dengue, chikungunya e zika são doenças infecciosas reemergentes e emergentes, transmitidas por mosquitos do gênero *Aedes*, sendo o *Aedes aegypti* o principal vetor. O *Aedes* tem sido responsável pela manutenção do ciclo endêmico/epidêmico da dengue em várias regiões do Brasil principalmente nos grandes centros urbanos e recentemente o responsável pela introdução e disseminação do vírus Chikungunya (CHIKV) e vírus Zika (ZIKV) no país inclusive em Feira de Santana, Bahia. Outros vetores como *Aedes albopictus*, *Aedes polynesiensis* também são considerados transmissores secundários (JUPP e MCINTOSH, 1990; DIALLO et al., 1999; POWERS e LOGUE, 2007).

Apesar da recente introdução do CHIKV E ZIKV no Brasil, a dengue ainda é

considerada a mais importante arbovirose que afeta o homem, pelo seu potencial de morbimortalidade no mundo, com um alto impacto social e elevado custo econômico. Estima-se que cerca de 50% da população mundial vive sob risco da infecção por dengue, em 128 países endêmicos (WHO, 2012).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que ocorram anualmente cerca de 50 a 100 milhões de casos de dengue no mundo, levando a 500 mil hospitalizações e mais de 20 mil óbitos (FERREIRA, 2012; WHO, 2012). Estudo recente aponta a ocorrência de 60 milhões de infecções sintomáticas, o que resulta em cerca de 10 mil mortes por ano. Mostra, ainda, um aumento dramático na incidência de dengue nas últimas duas décadas, entre os anos de 1990 e 2013 (STANAWAY et al., 2016).

O Brasil é responsável por 85% do número total de casos de dengue no continente americano, e desde a reintrodução do vírus, o que se observa é uma rápida dispersão da circulação viral, hiperendemicidade, circulação simultânea dos sorotipos virais e aumento de formas graves da dengue (MESSINA et al., 2014; PAHO, 2015; WHO, 2009).

Portanto, o aumento explosivo de casos observados nas últimas décadas, tem sido atribuído a fatores como o crescimento populacional, a aglomeração urbana, deficiências de infraestrutura na área de saneamento básico, mudanças climáticas e as condições ecológicas que favorecem a proliferação do vetor, (BRADY et al., 2012; FERREIRA, 2012; MESSINA et al., 2014) bem como, a pouca efetividade de resposta dos Programas Nacionais de Prevenção e Controle da Dengue instituído no Brasil a várias décadas.

O fenômeno da globalização aliado à urbanização do *aedes Aegypti* propiciou a emergência das novas arboviroses no Brasil. A chikungunya foi introduzida no país em 2014 no município de Feira de Santana na Bahia, cujo vírus isolado foi da linhagem africana e no Oiapoque no estado do Amapá na mesma ocasião, foi identificado o genótipo asiático (TEIXEIRA et al., 2015; FARIÁ et al., 2016). Quanto ao vírus zika os primeiros casos foram confirmados em 2015 na Bahia e no Rio Grande do Norte (CAMPOS et al., 2015; ZALUCA et al., 2015) no entanto, há evidências de que o mesmo possa ter sido introduzido a partir de 2013 por viajantes infectados durante a Copa das Confederações (FARIÁ, et al., 2016).

O CHIKV foi isolado pela primeira vez em amostras de sangue obtidas durante epidemia de uma enfermidade sugestiva de dengue "dengue-like", ocorrida entre 1952-1953 na Tanzânia, país localizado no sudeste da África (ROSS et al., 1956). O vírus pertence ao gênero *alfavirus* da família *Togaviridae*, e possui genoma RNA de cadeia simples e polaridade positiva (STRAUSS, 1994). É mantido na natureza por meio de dois ciclos, sendo um silvestre e outro urbano. No ambiente urbano, é mantido em um ciclo que envolve seres humanos e mosquitos *Ae. Aegypti* e *Ae. Albopictus* (JUPP; MCINTOSH, 1990; DIALLO, et al., 1999; POWERS; LOGUE, 2007).

A dificuldade para caminhar provocada pela intensidade do comprometimento das articulações serviu de inspiração para o nome dado à doença chikungunya, que

no dialeto Makonde, falado na região significava algo como “andar encurvado sobre o corpo” (ROBINSON, 1955; ROSS, 1956).

Nos próximos 50 anos que se seguiram ao seu isolamento, a circulação do CHIKV esteve restrita à África e à Ásia (POWERS; LOGUE, 2007). Um surto originado na costa do Quênia em 2004 espalhou-se pelas ilhas Comoros, Réunion e muitas outras do Oceano Índico durante os dois anos seguintes. (SERGON et al., 2008; PIALOUX et al., 2007).

Em 2010, o vírus voltou a causar surtos em países como Índia, Indonésia, Myanmar, Tailândia, ilhas Maldivas e também reapareceu na ilha Réunion. No ano de 2010, casos importados foram identificados em Taiwan, França, Estados Unidos e Brasil, trazidos por viajantes advindos, respectivamente, da Indonésia, da ilha Réunion, da Índia e do sudoeste asiático (ROUGERON et al., 2015).

Durante os surtos recentes, indivíduos virêmicos com CHIKV foram encontrados no Caribe (Martinica), nos Estados Unidos e na Guiana Francesa. Todos esses indivíduos estavam retornando de áreas com endemia ou epidemia da doença. Casos autóctones passaram a ser notados a partir de outubro de 2013, quando moradores da ilha de San Martin, sem histórico de viagens, foram diagnosticados com a doença (CASSADOU et al., 2014; STAPLES; FISCHER, 2014). Portanto, o fato de todas essas áreas terem mosquitos transmissores e hospedeiros suscetíveis contribuiu para aumentar o risco da transmissão endêmica do CHIKV nas Américas.

As taxas de ataque em comunidades afetadas em recentes epidemias variaram de 38% a 63% e, embora em níveis reduzidos, muitos casos destes países continuam sendo relatados. O CHIKV tem a capacidade de emergir, reemergir e propagar-se rapidamente em novas áreas, dessa forma, tornam-se necessário a implantação e o aprimoramento das ações de vigilância do vírus no Brasil (BRASIL, 2014).

Com relação ao vírus Zika a sua confirmação no Brasil foi inesperada, surgiu inicialmente após o relato de aumento de incidência de doença febril exantemática até então de causa desconhecida nos estados da região Nordeste do país. O primeiro estado a confirmar foi a Bahia em 29 de abril de 2015 a partir da análise de amostras de sangue de pacientes com quadro exantemático a esclarecer e residentes no município de Camaçari (CAMPOS et al., 2015). Posteriormente em 09 de maio de 2015 o vírus foi isolado no Rio Grande do Norte, onde foi identificado o genótipo Asiático (ZANLUCA et al., 2015).

O ZIKV é um arbovírus do gênero *Flavivirus*, família *Flaviviridae* (GUBLER et al., 2017) identificado pela primeira vez em 1947 na Floresta Zika em Uganda (DICK et al., 1952) durante um programa de monitorização da febre amarela selvagem.

A partir de 1960, casos humanos esporádicos foram relatados na Ásia e África (HAYES, 2009) sendo que o primeiro surto de ZIKV fora dessas regiões ocorreu em 2007, na ilha Yap na Micronésia ao sudoeste do Oceano Pacífico (DUFFY, 2009). Outro grande surto foi registrado na Polinésia Francesa entre outubro de 2013 a março de 2014 (CAO-LORMEAU et al., 2014; MUSSO et al., 2014).

O vírus é transmitido ao homem através da picada de um mosquito do gênero *Aedes*, entretanto, transmissões através de transfusão sanguínea (MUSSO et al., 2014), sexual (FOY et al., 2011) e perinatal (BESNARD et al., 2014) já foram reportadas. Desta forma, as múltiplas formas de transmissão do ZIKV, podem justificar a rapidez da disseminação da doença, superando o poder de propagação de outros arbovírus como dengue e chikungunya.

Estima-se que mais de 1 milhão de brasileiros tenham sido infectados pelo ZIKV em 2015 (SANTOS et al., 2016), refletindo a capacidade do vírus de causar surtos em larga escala onde o vetor está presente.

Em outubro de 2015, ao perceber o aumento de casos de microcefalia em recém-nascidos de mães que relataram a ocorrência de um quadro exantemático durante os primeiros meses da gestação, o estado de Pernambuco alertou o Ministério da Saúde (MS), sobre o aumento de neonatos com microcefalia no estado. A partir desse momento o MS declarou estado de Emergência Sanitária Nacional e iniciou uma investigação, a fim de verificar a hipótese de que a infecção pelo ZIKV poderia ser a causa desse surto.

No decorrer das investigações outras evidências foram reforçando essa hipótese até que foi confirmada a relação causal entre a infecção pelo ZIKV em gestantes e a ocorrência de microcefalia em fetos. (OLIVEIRA et al., 2016).

O cenário epidemiológico de cocirculação dessas arbovírus em espaços interurbanos no Brasil, fenômeno nunca registrado anteriormente no mundo ocidental, tem se constituído um dos maiores desafios a ser enfrentado pela comunidade científica mundial e pela Saúde Pública no século XXI.

1.2 Aspectos Clínicos e Ações de Vigilância para Prevenção e Controle da Dengue, Chikungunya e Zika

A semelhança clínica entre dengue, chikungunya e zika, sobretudo na fase aguda constitui um dos maiores problemas no acompanhamento dos casos. A cocirculação, a possibilidade de coinfeção, bem como a dificuldade de acesso aos testes laboratoriais, são fatores que podem dificultar o diagnóstico diferencial. Portanto, a análise comparativa sobre as manifestações clínicas (Quadro 1) envolvendo essas arboviroses são importantes para a diferenciação dos casos.

Sinais/Sintomas	Dengue	Zika	Chikungunya
Febre	> 38°C	Sem febre ou subfebril (38°C)	Febre alta > 38°C
Duração	4 a 7 dias	1-2 dias subfebril	2-3 dias
Rash	Surge a partir do quarto dia	Surge no primeiro ou segundo dia	Surge 2-5 dia
Frequência	80% a 90% dos casos	90% a 100% dos casos	90% dos casos
Mialgia (Frequência)	+++	++	+
Artralgia (Frequência)	+	++	+++
Intensidade da dor articular	Leve	Leve/Moderada	Moderada/Intensa
Edema da articulação	Raro	Frequente e leve intensidade	Frequente e de moderada a intensa
Conjuntivite	Raro	90% a 90% dos casos	90%
Cefaleia	+++	++	++
Hipertrofia ganglionar	+	+++	++
Discrasia hemorrágica	++	Ausente	+
Risco de morte*	+++	+	++
Acometimento Neurológico	+	+++	++
Leucopenia	+++	+++	+++
Linfopenia	Incomum	Incomum	Frequente
Trombocitopenia	+++	Ausente (raro)	++

Quadro 1 – Diagnóstico diferencial Dengue x Zika x Chikungunya

Fonte: BRITO, CORDEIRO, 2016

* Pode haver risco de morte nos casos neurológicos como a SGB decorrente de Zika ou pela criança com malformações congênicas graves.

Com relação a dengue a maior parte das infecções são assintomáticas, no entanto, na presença de sintomas a doença se caracteriza como uma infecção febril aguda, sistêmica que pode variar desde formas oligossintomáticas até formas graves e óbitos. Os sintomas têm início de forma abrupta e o curso da doença pode ser dividido em três fases.

A fase febril, dura de dois a sete dias, a febre é geralmente alta e pode estar associada a cefaleia, dor retroorbitária, mialgias e artralgias, exantema máculopapular, náuseas, vômitos, diarreia entre outros (BRASIL, 2015). Portanto, a semelhança clínica da dengue com as outras arboviroses como chikungunya e zika principalmente na fase aguda, e em condições de circulação simultânea pode dificultar o diagnóstico dessas doenças.

A fase crítica é caracterizada pela defervescência da febre e pelo aparecimento dos sinais de alarme (dor abdominal intensa, vômitos persistentes, hipotensão postural, hepatomegalia, sangramentos, queda abrupta de plaquetas e desconforto respiratório entre outros). Esses sinais e sintomas ocorrem em consequência do aumento da

permeabilidade vascular, podendo evoluir para a dengue grave.

Portanto, as ações de vigilância epidemiológica como notificação e investigação epidemiológica, entomológica e laboratorial aliada ao manejo clínico adequado, podem contribuir para minimizar os riscos de morbimortalidade por essas arboviroses.

O CHIKV pode causar doença aguda, subaguda e crônica (SERGON et al., 2008). O período de incubação intrínseco no ser humano ocorre em média de 3 a 7 dias, podendo variar de 1 a 12 dias (BURT et al., 2012). O extrínseco, que ocorre no vetor, dura em média 10 dias.

Após a picada por mosquito infectado a maioria dos indivíduos poderá apresentar a doença sintomática. No entanto, análises sorológicas indicam que 3% a 28% das pessoas com anticorpos anti CHIKV apresentam infecção assintomática (SERGON et al., 2008).

A doença aguda dura de 3-14 dias e é caracterizada por febre de início súbito (tipicamente maior que 38°C) e dor articular intensa. Outros sinais e sintomas podem aparecer como: cefaleia, mialgia, náusea, vômito, poliartralgia/poliartrite, erupção cutânea e conjuntivite. A febre pode durar poucos dias até uma semana e pode ser contínua ou intermitente. Entretanto, a queda de temperatura não está associada à piora dos sintomas como se observa em infecções causadas pelo vírus da dengue (BRASIL, 2016).

Os sintomas articulares são comumente simétricos e ocorrem frequentemente nas mãos, pés, joelhos e tornozelos. Edema é bastante comum e esta frequentemente associada com tenossinovite. (SERGON et al., 2008).

Devido à dor articular intensa, ao edema e à rigidez articular, as pessoas ficam incapazes de executar tarefas simples do seu cotidiano como ir ao trabalho, tomar banho, segurar objetos entre outros e podem ficar limitados. As complicações por conta da dor articular intensa e debilitante podem interferir na qualidade de vida das pessoas acometidas pela doença.

Durante a fase subaguda a febre normalmente desaparece, podendo haver persistência ou agravamento da artralgia, incluindo poliartrite distal, exacerbação da dor articular nas regiões previamente acometidas na primeira fase e tenossinovite hipertrófica subaguda em mãos, mais frequentemente nas falanges, punhos e tornozelos. Síndrome do túnel do carpo pode ocorrer como consequência da tenossinovite hipertrófica (sendo muito frequente nas fases subaguda e crônica). Alguns pacientes podem desenvolver doença vascular periférica, fadiga e sintomas depressivos. Se os sintomas persistirem por mais de três meses, após o início da doença, estará instalada a fase crônica (BRASIL, 2017).

Durante a fase crônica alguns pacientes poderão ter persistência dos sintomas, principalmente dor articular e musculoesquelética e neuropática, sendo esta última muito frequente nesta fase. As manifestações têm comportamento flutuante. A prevalência da fase crônica é muito variável entre os estudos, podendo atingir mais da metade dos pacientes.

Outras manifestações descritas foram: fadiga, cefaleia, prurido, alopecia, bursite, tenossinovite, disestesias, parestesias, dor neuropática, fenômeno de Raynaud, alterações cerebelares, distúrbios do sono, alterações da memória, déficit de atenção, alterações do humor, turvação visual e depressão. Alguns trabalhos descrevem que esta fase pode durar até três anos, outros fazem menção a 6 anos de duração (THIBERVILLE et al., 2013).

Dados da Ilha Réunion demonstraram que 80%-93% dos pacientes se queixam de sintomas persistentes três meses após o início da doença; o que diminui para 57% aos 15 meses e 47% aos dois anos (BRASIL, 2014).

Manifestações atípicas da infecção por CHIKV podem acontecer comprometendo o sistema neurológico provocando meningoencefalite, encefalopatia, convulsões, síndrome de Guillain-Barré, síndrome cerebelar, paresia, paralisia, neuropatia. Nos olhos pode aparecer a neurite óptica, iridociclite, episclerite, retinite, Uveíte. Em relação ao sistema cardiovascular pode apresentar miocardite, pericardite, insuficiência cardíaca, arritmias, instabilidade hemodinâmica entre outra (BORGHERINI et al., 2007).

CHIKV pode afetar indivíduos de todas as idades e ambos os sexos. Entretanto, a apresentação clínica é conhecida por variar de acordo com a idade, sendo a muito jovem (neonatal) e a idade avançada os períodos considerados como fator de risco para as doenças mais graves (SHILTE et al., 2013). A presença de comorbidades também vêm sendo identificadas como fator de risco para pior evolução da doença (SISSOKO et al., 2006).

Os sinais e sintomas observados nos primeiros casos de zika atendidos nos serviços de saúde no país apresentavam um quadro clínico semelhante a dengue, porém o que mais chamava atenção era o exantema generalizado pruriginoso em paciente normalmente afebril ou com febre baixa.

Outras manifestações clínicas também são descritas como artralgia, edema periarticular, mialgia, dor de cabeça, conjuntivite, dor retro orbitária, linfonodomegalia, úlceras orais, náuseas, vômitos e diarreia. Complicações neurológicas têm sido relatadas, incluindo a Síndrome de Guillain-Barré e casos de microcefalia (IOOS et al., 2014, ZAMMARCHI et al., 2015).

Os sintomas do ZIKV aparecem até, aproximadamente, seis dias após o contato com o vírus e pode durar até 12 dias, média de sete dias (IOOS et al., 2014, ZAMMARCHI et al., 2015).

Na maioria dos pacientes, os sintomas são usualmente leves e apresentam resolução espontânea após cerca de 2 a 7 dias. No entanto, em alguns pacientes a artralgia pode persistir por cerca de um mês. Até o momento não se conhece o tempo de duração da imunidade conferida pela infecção natural do vírus zika.

Estima-se que apenas 18% dos infectados apresentam sintomas e o fato do ZIKV provocar um quadro clínico semelhante às outras arboviroses, pode possivelmente ter contribuído para a disseminação "silenciosa" do vírus e consequentemente a demora

na identificação etiológica da doença.

Nesse sentido o fortalecimento da vigilância epidemiológica, com agilidade no sistema de notificação e investigação dos casos suspeitos de dengue, chikungunya e zika integrada às demais estratégias de controle do vetor e de assistência aos doentes possibilita a minimização do impacto da epidemia na população.

O estudo tem como objetivo descrever as características epidemiológicas das arboviroses e as ações da vigilância epidemiológica (VE) no enfrentamento da tríplice epidemia, no município de Feira de Santana, Bahia, no período de 2014 a 2015.

2 | METODOLOGIA

Trata-se de um relato de experiência das ações implementadas pelos gestores e as equipes de saúde no enfrentamento da tríplice epidemia de dengue, chikungunya e zika no município de Feira de Santana, Bahia, no período de 2014 e 2015.

Feira de Santana possui uma população de 622.639 mil habitantes, área territorial de 1.334 Km² (IBGE, 2010). É a segunda maior cidade do Estado da Bahia em população, e, pela importância de sua localização geoeconômica é considerada um dos maiores entroncamentos rodoviários do interior do país. Possui clima subtropical, é Polo do Núcleo Regional de Saúde Centro-leste (NRS) e foi o primeiro município da Bahia a confirmar a transmissão autóctone do CHIKV.

Foram utilizados dados dos documentos produzidos durante a epidemia como os boletins epidemiológicos, relatórios, Plano de Contingência Emergencial para Dengue, Chikungunya e Zika, notas técnicas, projetos de pesquisas e de intervenção implementados. O Plano de Contingência teve como objetivo ordenar e organizar o sistema de saúde para o enfrentamento da tríplice epidemia visando minimizar os danos. Nesse sentido, o mesmo contém informações detalhadas e responsabilidades definidas, de forma a dar agilidade às ações.

Dados secundários do Sistema de Informação de Agravos Notificáveis (SINAN) e do sistema de georeferenciamento, bem como dados de prontuários do Ambulatório de infectologia dos pacientes com chikungunya que evoluíram para fase crônica também foram analisados.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

No período foram notificados 4.674 casos de dengue, 5.547 casos de chikungunya e 1.536 casos de zika, como mostra a figura 1. Os dados apontam uma situação de circulação simultânea de DENV e CHIKV em 2014 e dos três arbovírus em 2015.

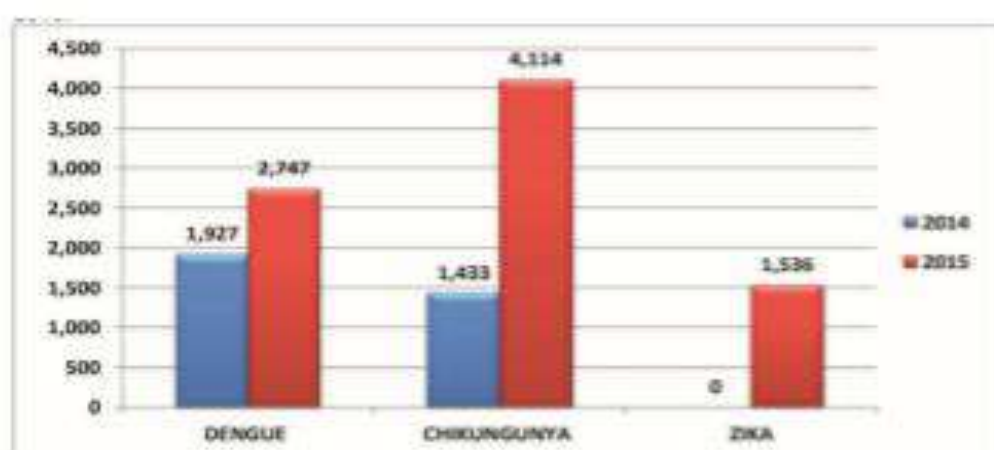


Figura 1 – Casos notificados de dengue, chikungunya e zika, Feira de Santana, BA, 2014 e 2015.

Fonte: Elaboração própria

A investigação epidemiológica retrospectiva dos primeiros casos suspeitos de chikungunya em Feira de Santana permitiu identificar que o primeiro caso (caso índice) tenha sido um paciente procedente de Luanda, Angola, que chegou à cidade em junho de 2014 para visitar a família apresentando suspeita clínica inicial de dengue. Esta hipótese diagnóstica não foi confirmada, sendo o doente encaminhado para unidade hospitalar para avaliação de possível malária como agente causador do quadro clínico, mas os exames realizados também foram negativos.

Nas semanas subsequentes, houve um aumento no número de notificações na mesma localidade, porém os resultados laboratoriais para dengue continuaram negativos. A ocorrência de pessoas acometidas por febre, edema e fortes poliartralgia persistentes e debilitantes nunca vistos anteriormente fez com que técnicos da vigilância epidemiológica da Secretaria Municipal de Saúde suspeitassem de chikungunya. De fato, os resultados de RT-qPCR quantitativa e IgM ELISA de amostras de sangue encaminhadas para o laboratório da Fundação Oswaldo Cruz no Rio de Janeiro confirmaram a infecção por CHIKV em 14 pacientes. Tais resultados surpreenderam a todos e chamou a atenção das autoridades sanitárias e comunidade científica de várias regiões do Brasil e do mundo.

Dentre as manifestações clínicas a febre, poliartralgia intensa e persistente com edema periarticular, exantema, mialgia, conjuntivite foram observados na quase totalidade dos pacientes (Figura 2).



Figura 2 - Manifestações clínicas de pacientes com chikungunya Feira de Santana, Bahia, 2015.

Fotos autorizadas.

- (A) e (B): Artralgia e edema nas articulações dos punhos, dedos das mãos e tornozelos de MMII.
(C): Exantema maculopapular pruriginoso.

A triplice epidemia gerou superlotação dos serviços de saúde e sobrecarga de trabalho para os profissionais, sobretudo aqueles lotados nas unidades de média e alta complexidade, as quais foram inicialmente a porta de entrada para a maioria dos indivíduos com poliartralgia intensa que procuravam os serviços de urgência e emergência em busca de solução para o seu problema. O caráter explosivo da epidemia atingiu grande parte da população inclusive os profissionais de saúde aumentando o absenteísmo.

O aumento da demanda elevou os custos com a compra de insumos hospitalares e medicamentos gerando um impacto econômico para o sistema de saúde municipal. Em resposta a triplice epidemia os gestores e as equipes de saúde do município elaboraram em caráter emergencial o Plano de Contingência para enfrentamento da Dengue, Chikungunya e Zika priorizando os seguintes eixos de intervenção:

- a) A (re) organização da rede de atenção à saúde;
- b) implementação das ações de Educação Permanente em Saúde (EPS);
- c) Ações de comunicação e mobilização social;
- d) Intersetorialidade e integração dos serviços de saúde;
- e) Análise da situação de saúde utilizando dados do Sistema de Informação de Agravos Notificáveis (SINAN) e do sistema de georeferenciamento;
- f) Implementação das ações de vigilância epidemiológica e controle do vetor entre outros.

A construção coletiva de um fluxograma (Figura 3) de atendimento aos casos suspeitos com (re) orientação da porta de entrada para as unidades básicas de saúde (UBS) diminuiu gradativamente a superlotação dos serviços de média complexidade e facilitou o acesso da população aos serviços de saúde.



Figura 3. Fluxograma do atendimento aos casos suspeitos de dengue, chikungunya e zika, Feira de Santana, 2014.

Fonig: Eleboranda praele

Portanto, a (re) organização dos serviços e (re) definição do fluxo e a implementação da ficha de referência e contra referência contribuiu para a integração dos serviços e a resolubilidade dos problemas.

A grande quantidade de pacientes com persistência de dor articular após três meses do início da doença impulsionou as autoridades de saúde local a implantar o Ambulatório de Infectologia para pacientes com chikungunya que evoluíram para fase crônica e o serviço de Acupuntura para acompanhamento dos casos, como mostra a figura 4.



Figura 4 - Realização de acupuntura em pacientes com poliartralgia, Ambulatório de Infectologia dos pacientes com chikungunya que evoluíram para fase crônica, Feira de Santana, 2015.

Foto:

A dor crônica pós Chikungunya é a principal causa de incapacidade física e funcional relatada pelos indivíduos acometidos pela doença e a acupuntura que integra o Sistema Único de Saúde (SUS) através da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) foi uma opção a mais oferecida pelo município para o tratamento. Os pacientes acompanhados referiam melhora da dor e redução do edema articular, melhora dos aspectos emocionais e comportamentais da condição física e psíquica. Alguns deles após o tratamento retornavam às suas atividades laborais e cotidianas melhorando a qualidade de vida.

Quando foi noticiada a introdução do CHIKV em Feira de Santana (BA), observou-se desconhecimento total da doença por parte da população e de parcela significativa dos profissionais de saúde. Como já observado em outras epidemias (Thiberville et al., 2013),

Por se tratar de três doenças com perfis clínicos semelhantes e ainda pouco conhecidas, como foi o caso chikungunya e da zika as capacitações em serviço foram fundamentais para emponderamento das equipes. A metodologia adotada possibilitou associar teoria e prática, de modo que durante a assistência também se promovia a qualificação dos trabalhadores da saúde (Figura 5).



Figura 5 - Capacitação em serviço para as equipes de saúde, Feira de Santana, BA, 2015.

Fonte: Vigilância Epidemiológica

As ações de campo de prevenção e controle do vetor (Figura 6), além de campanhas e mobilização social (Figura 7) foram desenvolvidas pelos profissionais de saúde e coordenadas por uma equipe de educadores. Foram desenvolvidas campanhas educativas de prevenção e controle das arboviroses em escolas, empresas, feiras livres, universidades, igrejas, entre outros.

As campanhas na mídia local (TV e rádio) foram veiculadas durante todo o período com orientações para a população. A divulgação dos boletins epidemiológicos na internet e implantação de uma sala de situação com discussão semanal dos dados pelas equipes possibilitou a avaliação contínua dos dados e a redefinição de estratégias de enfrentamento.



Figura 6 - Ações de campo de prevenção e controle do vetor, Feira de Santana 2014.

Fonte: Fonte: Vigilância Epidemiológica



Figura 7 - Campanha de Prevenção e Combate à dengue e chikungunya, nas escolas e mobilização comunitária, Feira de Santana, BA, 2014.

Fonte: Fonte: Vigilância Epidemiológica

A existência de milhares de municípios infestados pelo *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, aliada à intensa circulação dos quatro sorotipos do vírus dengue sugerem um cenário potencialmente explosivo do ponto de vista de saúde pública (CARVALHO et al., 2014; COFFEY et al., 2014). Por outro lado, a grave deficiência na realização do diagnóstico laboratorial oportuno contribuiu para retardar a confirmação da introdução do CHIKV para outras localidades do país, dificultando as ações das equipes de vigilância em saúde.

Os resultados preliminares do presente estudo sugerem fortemente que há elevado percentual de pessoas que permanecem com artralgias intensas meses após a fase aguda, o que exige o retorno às unidades de saúde em busca de alívio para seu sofrimento.

Ao contrário do que ocorre com dengue, observa-se que durante a epidemia de chikungunya a procura pelas unidades de saúde aumentou consideravelmente. Cabe lembrar que o país possui cerca de 200 milhões de habitantes, na sua quase totalidade susceptível à infecção pelo CHIKV.

São necessários novos estudos com o objetivo de esclarecer, por exemplo, aspectos clínicos e epidemiológicos fundamentais para que o sistema de saúde possa se preparar para atuar nessa nova e complexa realidade epidemiológica. Deve-se atentar para a importância do monitoramento dos possíveis impactos financeiros sobre a previdência social, uma vez que muitos doentes crônicos podem ficar impedidos de trabalhar durante meses, recorrendo aos benefícios legais. Da mesma forma, a avaliação da qualidade de vida desses doentes deve ser uma prioridade imediata.

A introdução do CHIKV na cidade Feira de Santana, que provocou a epidemia aqui relatada, merece ser tratada com muita atenção pelas autoridades sanitárias brasileiras. A situação atual que ocorre nesse momento no Brasil com a circulação simultânea de três arbovírus transmitidos pelos mosquitos *Aedes*, representa uma drástica mudança no cenário epidemiológico de complexidade sem precedentes na história da saúde pública brasileira.

4 | CONCLUSÃO

Conclui-se que a (re) organização das ações minimizou os efeitos da tríplice epidemia, melhorando o acesso e a assistência. As ações de Educação Permanente em Saúde aliado às parcerias com a imprensa e as ações de mobilização social foram fundamentais para a prevenção e controle do vetor.

Diante da dificuldade de diagnóstico laboratorial e do pouco conhecimento dos profissionais sobre o manejo clínico para as arboviroses a qualificação dos profissionais foi fundamental.

A implantação do ambulatório para acompanhamento dos pacientes com chikungunya crônica melhorou a condição clínica e a qualidade de vida dos doentes.

REFERENCIAS

- Beshard, M. et al. Evidence of perinatal transmission of Zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014. *Euro Surveill.* v. 19, n. 13, 20751. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES2014.19.13.20751>. Acesso em: 20 de maio de 2016.
- BORGHERINI, G. et al. Outbreak of chikungunya on Reunion Island: Early Clinical and Laboratory Features in 157 Adult Patients. *Clinical Infectious Diseases*, v.44, p.1401–1407, 2007.
- BRADY, O. J. et al. Refining the Global Spatial Limits of Dengue Virus Transmission by Evidence-Based Consensus. *PLoS Negl Trop Dis*, v. 6, n8, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001760>. Acesso em: 12 de junho de 2016.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Preparação e resposta a introdução do vírus Chikungunya no Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Brasília: DF, 2014.
- BRASIL. Instituto Brasileiro Geográfico e Estatístico. Dados do Censo 2010 publicados no Diário Oficial da União do dia 04/11/2010. Disponível em: <http://www.censo2010.ibge.gov.br>. Acesso em: 20 jan. 2016.
- BRASIL. Boletim Epidemiológico. Secretaria de Vigilância em Saúde – Ministério da Saúde. Vol.47, nº 28. 2016. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br>. Acesso em: 02 ago. 2016.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Febre do Chikungunya: manejo clínico. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Brasília: DF, 2015, 28p.
- BRASIL. Instituto Brasileiro Geográfico e Estatístico. Dados do Censo 2010 publicados no Diário Oficial da União do dia 04/11/2010. Disponível em: <http://www.censo2010.ibge.gov.br>. Acesso em: 20 jan. 2016.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Febre do Chikungunya: manejo clínico. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Brasília: DF, 2017, 65p.
- BRITO, C. A.; CORDEIRO, M. T. One year after the Zika virus outbreak in Brazil: from hypotheses to evidence. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 49, n. 5, p. 537-543, Sep./Oct. 2016.
- BURT, F. J. et al. Chikungunya: a re-emerging virus. *Lancet*, v. 379, p. 662–671. 2012. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60281-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60281-X). Acesso em: 02 de junho de 2016.
- CAMPOS, G. S.; BANDEIRA, A. C.; SARDI, S. I. Zika Virus Outbreak, Bahia, Brazil. *Emerg Infect Dis*, v. 21, n 10, p. 1885-1886. 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3201/eid2110.150847>. Acesso em: 10 de maio de 2016.
- CAO-LORMEAU, V. M. et al. Virus Zika, Polynésie Française, South Pacific, 2013. *Emerg. Infect. Dis.*, v. 20, n 11, p. 1085 – 1086. 2014. Disponível em: <http://doi.org/10.3201/eid2011.141880>. Acesso em:

30 de maio de 2016.

CARVALHO, R. G.; DE OLIVEIRA, R. L.; BRAGA, I. A. Updating the geographical distribution and frequency of *Aedes albopictus* in Brazil with remarks regarding its range in the Americas. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 109, n. 6, p. 787-796, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/0074-02751400304>. Acesso em: 20 de março de 2016.

CASSADOU, S. et al. Emergence of chikungunya fever on the French side of Saint Martin island, October to December 2013. *Euro Surveill*, v. 19, n. 13, p. 1-4, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.2807/1560-917.ES2014.19.13.20752>. Acesso em: 11 de maio de 2016.

COFFEY, L. L.; FAILLoux, A. B.; WEAVER, S. C. Chikungunya Virus-Vector Interactions. *Viruses*, v. 6, n. 11, p. 4626-4638, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/v6114626>. Acesso em: 23 de maio de 2016.

DIALLO, M. et al. 1999. Vectors of chikungunya virus in senegal: current data and transmission cycles. *Am J Trop Med Hyg*, v. 60, n. 2, p. 281-285, 1999. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10072152>. Acesso em: 12 de maio de 2016.

DICK, G. W.; KITCHEN, S. F.; HADDOW, A. J. Zika virus. I. Isolations and serological specificity. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg*, v. 46, n. 5, p. 509-520, 1952. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(52\)90042-4](https://doi.org/10.1016/0035-9203(52)90042-4).

DUFFY, M. R. et al. Zika Virus Outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N. Engl. J. Med.*, v. 360, p. 2536 - 2543, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0905715> PMID: 19516034 C. Acesso em: 01 de junho de 2016.

FERREIRA, G. L. C. Global dengue epidemiology trends. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, São Paulo, v. 54, n. 15, p. S5-S6, 2012.

FARIA, N. R. et al. Epidemiology of Chikungunya Virus in Bahia, Brazil, 2014-2015. *PLOS Currents Outbreaks*, Feb 1, Edition 1, 2016. Disponível em: <http://currents.plos.org/outbreaks/article/epidemiology-of-chikungunya-virus-in-bahia>. Acesso em: 11/02/2016

FARIA et al. Epidemiology of Chikungunya Virus in Bahia, Brazil, 2014-2015. *PLOS Currents Outbreaks*, n. 1, 2016. Disponível em: <http://doi.org/10.1371/currents.outbreaks.c97507e3e48efb946401755d468c28b2>. Acesso em: 02 de junho de 2016.

FOY, B. D. et al. Probable non-vector-borne transmission of Zika virus, Colorado, USA. *Emerg. Infect. Dis.*, v. 17, p. 880-882, 2011. Disponível em: <http://doi.org/10.3201/eid1705.101939>. Acesso em: 10 de maio de 2016.

GUBLER, D. J.; VASILAKIS, N.; MUSSO, E. D.; História e Emergência do Zika vírus, *The Journal of Infectious Diseases*, v. 216, n. 10, p. S880 - S88. 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/infdis/jix451>.

HYES, E. B. Zika virus outside Africa. *Emerg Infect Dis.*, v. 15, n. 9, p. 347-350, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.3201/eid1509.090442>. Acesso em: 03 de junho de 2016.

IOOS, E. et al. Current Zika virus epidemiology and recent epidemics. *Med. Mal. Infect.*, v. 44, n. 7, p. 302 - 307, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2014.04.008>. Acesso em: 02 de junho de 2016.

JUPP, P. G.; MCINTOSH, B. M. *Aedes furcifer* and other mosquitoes as vectors of chikungunya virus at Mica, Northeastern Transvaal, South Africa. *J Am Mosq Control Assoc*, v. 6, n. 3, p. 415 - 420, 1990. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/7668/56fa23052c95e7c72158a70e6aadd087196.pdf>. Acesso em: 19 de fevereiro de 2016.

MESSINA, J. P. et al. Global spread of dengue virus types: mapping the 70 year history. *ScienceDirect*, v. 22, n. 3, p. 138-146, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sm.2013.12.011>. Acesso em: 06 de junho de 2016.

MUSSO, D. et al. Potential for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during

an outbreak in French Polynesia, November 2013 to February 2014. *Euro Surveill*, v. 19, (14) 20761, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES2014.19.14.20761>. Acesso em: 30 de maio de 2016.

NUNES, M. R. T. et al. Emergence and potential for spread of Chikungunya virus in Brazil. *BMC Med*, v.13n 102, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12916-015-0348-x>. Acesso em: 17 de janeiro de 2016.

OLIVEIRA, C. S.; VASCONCELOS, R. F. C. Microcephaly and Zika virus. *J Pediatr*, Rio de Janeiro, v. 92, n 2, p. 103-105, 2016.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. Number of reported cases of Chikungunya Fever in the Americas, by country or territory 2013-2015 – epidemiological week. 2015. Disponível em: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_topics&view=article&id=343&Itemid=40231&lang=en. Acesso em: 11 de junho de 2016.

POWERS, A. M.; LOGUE, C. H. Changing patterns of chikungunya virus: re-emergence of a zoonotic arbovirus. *J Gen Virol*, v. 88, p. 2363-2377, 2007. Disponível em: <http://jgv.microbiologyresearch.org/content/journal/jgv/10.1099/vir.0.82858-0>. Acesso em: 10 de janeiro de 2016.

ROBINSON, M. C. An epidemic of virus disease in southern province, Tanganyika Territory, in 1962-63. I. Clinical Features. *Trans R Soc Trop Med Hyg* v. 49, n 1, p. 28-32, 1955.

ROSS, R. W. The Newala epidemic III. The Virus: Isolation, Pathogenic Properties and Relationship To The Epidemic. *J Hyg*, v. 54, n 2, p. 177-91, 1956.

SERGON, K. et al. Sero-prevalence of Chikungunya virus (CHIKV) infection on Lamu Island, Kenya, October 2004. *Am J Trop Med Hyg*, v.78, n 2, p.333-337, fev. 2008.

SCHILTE, C. et al. Chikungunya Virus-associated Long-term Arthralgia: A 36-month Prospective Longitudinal Study. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 2013. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002137>. Acesso em: 05 de junho de 2016.

SISSORD, D. et al. Sero-prevalence and Risk Factors of Chikungunya Virus Infection in Mayotte, Indian Ocean, 2005-2006: A Population-Based Survey. *Revista Plos*, 2008. Disponível em: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0003066>. Acesso em: 3 mai 2016. Acesso em: 05 de junho de 2016.

STAPLES, J. E; FISCHER, E. M. Chikungunya Virus in the Americas – What a Vectorborne Pathogen can do. *ArtigoN Engl J Med*, v.371, p. 887-892, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1056/NEUjap1407698>. Acesso em: 01 de junho de 2016.

STANAWAY, J. D. et al. The global burden of dengue: an analysis from the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet Infectious Diseases*, v.16, n 6, p. 712-723, 2016. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)00026-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00026-6). Acesso em: 05 de julho de 2016.

STRAUSS, J. H.; STRAUSS, E. M. 1994. The alphaviruses: gene expression, replication and evolution. *Microbiol Rev*. V. 58, p. 491-552, 1994. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC372277/>. Acesso em: 15 de abril de 2016.

TEIXEIRA, M. G. et al. East/Central/South African Genotype Chikungunya Virus, Brazil, 2014. *Emerg Infect Dis*, v. 21, n 3, p. 906-907, 2015. Disponível em: <https://dx.doi.org/10.3201/eid2105.141727>. Acesso em: 15 de junho de 2016.

THIBERVILLE, S. D et al. Chikungunya fever: epidemiology, clinical syndrome, pathogenesis and therapy. *Antiviral Res*, v. 99, n 3, p. 345-70, 2013.

ZANLUCA, C et al. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 110, n 4, p. 569-572, 2015.

ANEXO 10 – CAPÍTULO 11 – PATOLOGIAS DAS DOENÇAS

LIMA, Maricelia M. de; CERQUEIRA, Erenilde; BARRETO, Melissa; CERQUEIRA, Hélvia Maia de Lima; CUNHA, R. Venâncio da; ALCÂNTARA, Luiz Carlos Junior. Microcefalia possivelmente associada ao Vírus zika: desafios para o diagnóstico etiológico. In: SALGADO, Y. C. de S. **Patologia das Doenças 2**. Ponta Grossa: Atena Editora, 2018, p. 116 a 127.

CAPÍTULO 11

MICROCEFALIA POSSIVELMENTE ASSOCIADA AO VÍRUS ZIKA: DESAFIOS PARA O DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO

Maricelia Maia de Lima

Universidade Estadual de Feira de Santana,
Bahia.

Secretaria Municipal de Feira de Santana, Bahia.

Erenilde Marques de Cerqueira

Universidade Estadual de Feira de Santana,
Bahia.

Hélvia Maia de Lima Cerqueira

Universidade Estadual de Feira de Santana,
Bahia.

Maria Aparecida Oliveira Lima

Universidade Estadual de Feira de Santana,
Bahia.

Rivaldo Venâncio da Cunha

Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.

Luiz Carlos Junior Alcântara

Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro.

RESUMO: Em 2015, o Ministério da Saúde (MS) emitiu um alerta sobre surto de microcefalia em Pernambuco possivelmente associado à infecção pelo vírus zika (ZIKV) em gestantes. Objetivo do estudo foi descrever um caso de recém-nascido (RN) com microcefalia e outras alterações neurológicas compatíveis com ZIKV, Feira de Santana-BA, 2015. Estudo de caso através do acompanhamento da mãe do RN no parto e pós-parto, coletada amostra de sangue e dados de prontuários. Genitora na terceira gestação, secundípara, 25 anos, apresentou

rash cutâneo na 8ª semana de gestação (SG). Na 29ª SG a ultrassonografia (USG) morfológica evidenciou má formação fetal, calota craniana com contornos diminuídos e relação ventrículo/hemisfério cerebral anormal devido à ventriculomegalia unilateral direita e perímetro cefálico (PC) abaixo de - 3 desvios padrão para a idade gestacional, indicando microcefalia severa. Os exames maternos apresentaram IgM não reagente e IgG reagente para rubéola, toxoplasmose, herpes 1 e 2, parvovírus B19 e IgM e IgG não reagentes para citomegalovírus. O IgM para dengue não reagente e IgG para ZIKV reagente. Parto cesáreo, na 40ª SG, a termo, feminino, peso ao nascer: 2.775g, estatura: 49 cm, PC 25 cm, PT: 36 cm, Exames do RN: rubéola, toxoplasmose, citomegalovírus, parvovírus B 19, herpes 1 e 2 IgM não reagentes, e ZIKV RT-qPCR não reagente. USG Transfontanela evidenciou ventrículos cerebrais com dilatação bilateral e focos de calcificações. Conclusão: A microcefalia e outras alterações neurológicas no RN foram compatíveis com infecção congênita pelo ZIKV e a dificuldade de acesso ao diagnóstico laboratorial foi um fator limitante. **PALAVRAS-CHAVE:** Vírus zika, gestante, recém-nascido e microcefalia.

ABSTRACT: In 2015, the Ministry of Health (MS) issued an alert on microcephaly outbreak

in Pernambuco possibly associated with Zika virus (ZIKV) infection in pregnant women. The objective of the study was to describe a case of newborn (NN) with microcephaly and other neurological alterations compatible with ZIKV, Feira de Santana-BA, 2015. Case study through the follow-up of the mother of the newborn at birth and postpartum, collected blood sample and medical records. Genitora in the third gestation, secundípara, 25 years old, presented skin rash at the 8th week of gestation (SG). In the 29th SG, morphological ultrasonography (USG) revealed poor fetal formation, reduced skull contour and abnormal ventricular / cerebral hemisphere ratio due to right unilateral ventriculomegaly and cephalic perimeter (PC) below - 3 standard deviations for gestational age, indicating microcephaly severe. Maternal exams presented non-reactive IgM and IgG reagent for rubella, toxoplasmosis, herpes 1 and 2, parvovirus B19 and non-cytomegalovirus IgG and IgG. IgM for non-reactive dengue and IgG for reactive ZIKV. CPR, rubella, toxoplasmosis, cytomegalovirus, parvovirus B 19, herpes simplex virus, herpes simplex virus, and herpes simplex virus. 2 non-reactive IgM, and non-reactive ZIKV RT-qPCR. USG Transfontanela showed cerebral ventricles with bilateral dilatation and foci of calcifications. Conclusion: Microcephaly and other neurological abnormalities in the newborn were compatible with congenital ZIKV infection and the difficulty to access the laboratory diagnosis was a limiting factor.

KEYWORDS: Virus zika, pregnant, newborn and microcephaly.

1 | INTRODUÇÃO

O vírus Zika (ZIKV) é um arbovírus do gênero *Flavivirus*, família *Flaviviridae* (GUBLER et al., 2007) identificado pela primeira vez em 1947 na Floresta Zika em Uganda (DICK et al., 1952).

A partir de 1960, casos humanos esporádicos foram relatados na Ásia e África (HAYES, 2009). O primeiro surto de ZIKV fora dessas regiões ocorreu em 2007, na Ilha Yap na Micronésia ao sudoeste do Oceano Pacífico (DUFFY, 2009). Outro grande surto foi registrado na Polinésia Francesa entre outubro de 2013 a março de 2014 (CAO-LORMEAU et al., 2014; MUSSO et al., 2014).

Até o momento, são conhecidas e descritas duas linhagens do vírus, sendo uma africana e outra asiática. O vírus é transmitido ao homem através da picada de um mosquito do gênero *Aedes*, entretanto, transmissões através de transfusão sanguínea (MUSSO et al., 2014), sexual (FOY et al., 2011) e perinatal (BESNARD et al., 2014) já foram reportadas.

A possibilidade de outras formas de transmissão do ZIKV pode em parte explicar a rapidez da disseminação da doença no Brasil, superando o poder de propagação de outros arbovírus como o da dengue e da chikungunya. Estima-se que mais de 1 milhão de brasileiros tenham sido infectados pelo ZIKV em 2015 (SANTOS et al., 2016), refletindo a capacidade do vírus de causar surtos em larga escala onde o vetor

está presente.

Os primeiros casos confirmados de zika no Brasil ocorreram em abril de 2015, no estado da Bahia (CAMPOS et al., 2015) e no Rio Grande do Norte (ZALUCA et al., 2015), no entanto, existe a possibilidade do vírus ter entrado no país em 2013 durante os grandes eventos esportivos como a Copa das Confederações. (FARIÁ et al., 2017). Portanto, o fato do ZIKV provocar um quadro clínico semelhante às outras arboviroses, possivelmente pode ter contribuído para a disseminação “silenciosa” do vírus e consequentemente uma demora na identificação etiológica da doença no país.

Estima-se que apenas 18% dos infectados apresentam manifestações clínicas, sendo as mais comuns: febre baixa ou afebril, exantema maculopapular, prurido, artralgia, edema periarticular, mialgia, dor de cabeça, conjuntivite, dor retro orbitária, linfonodomegalia, úlceras orais, astenia, náuseas, vômitos e diarreia. Complicações neurológicas têm sido relatadas, incluindo a Síndrome de Guillain-Barré e casos de microcefalia. Os sintomas aparecem até, aproximadamente, seis dias após o contato com o vírus e pode durar até 12 dias, média de sete dias (IOOS et al., 2014, ZAMMARCHI et al., 2015).

Em outubro de 2015, ao perceber o aumento de casos de microcefalia em recém-nascidos de mães que relataram ter apresentado uma doença exantemática nos primeiros meses da gestação, as autoridades do estado de Pernambuco notificaram o Ministério da Saúde (MS), a ocorrência de um surto de neonatos microcefálicos na região.

A partir desse alerta e com a constatação das primeiras evidências científicas de que o vírus zika era causador do problema, o MS declarou situação de Emergência em Saúde Pública de Importância Nacional e iniciou uma investigação, a fim de verificar a hipótese de que a infecção pelo ZIKV poderia ser a causa desse surto. Diante da gravidade e magnitude do problema em 29 de novembro de 2015, a Organização Mundial da Saúde (OMS) mudou a classificação considerando o evento como de Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional (BRASIL, 2015).

No decorrer das investigações outras evidências foram reforçando essa hipótese, a exemplo da identificação do genoma do vírus Zika (utilizando o ensaio de reação em cadeia da transcrição reversa-polimerase) em amostras de líquido amniótico de duas mulheres grávidas com fetos microcefálicos na Paraíba (MELO et al., 2016) e a constatação da presença do ZIKV em sangue e tecidos de um bebê que faleceu no estado do Ceará e a detecção do genoma do vírus Zika nas amostras de sangue e tecido de um recém nascido com microcefalia que morreu cinco minutos após o nascimento (Mlakar et al., 2016).

Após o aumento na prevalência de microcefalias no Brasil e a possível associação com infecção pelo vírus Zika durante a gestação, as autoridades da Polinésia Francesa iniciaram um estudo retrospectivo sobre o surto de Zika ocorrido na região entre 2014 e 2015 e os resultados mostraram um aumento incomum de pelo menos de 17 casos de malformações do Sistema Nervoso Central em fetos e recém-nascidos ocorridos

durante o surto. Apesar de nenhuma das gestantes relatarem sinais de infecção pelo vírus Zika, em quatro testadas foram encontrados anticorpos (IgG) para flavivírus em sorologia, sugerindo infecção assintomática (ECDC, 2015).

A partir da confirmação do surto da doença, principalmente na região nordeste do Brasil, o que se observou foi um aumento na incidência de microcefalia, em relação ao esperado. Desta forma, a relação geográfica e temporal entre esses eventos nesses estados com transmissão autóctone confirmada, passou a indicar cada vez mais, a provável relação causal entre ZIKV em gestantes e ocorrência de microcefalia em recém-nascidos.

A detecção do RNA viral pela técnica de RT-PCR para ZIKV em líquido amniótico, placenta, sangue do cordão umbilical e tecido cerebral (MELO et al., 2016) reforçou a hipótese de que o ZIKV é capaz de infectar e atravessar a barreira placentária podendo, então, acometer o tecido nervoso em formação e provocar microcefalia e/ou outras alterações neurológicas ao feto. Tal constatação representa um marco para a comunidade científica brasileira e mundial diante da magnitude do problema.

A infecção pelo vírus Zika durante a gravidez pode estar associada com consequências graves, incluindo morte fetal, insuficiência placentária, redução do crescimento fetal e lesões do sistema nervoso central (SNC) (BRASIL, et al., 2016).

A microcefalia é uma condição em que uma criança apresenta a medida da cabeça substancialmente menor, quando comparada com a de outras crianças do mesmo sexo e idade. A microcefalia é um sinal clínico e não uma doença. Os recém-nascidos (RNs) com microcefalia correm o risco de atraso no desenvolvimento e incapacidade intelectual, podendo também desenvolver convulsões e incapacidades físicas, incluindo dificuldades auditivas e visuais (BRASIL, 2017).

A microcefalia tem sido associada a uma série de fatores, como a desnutrição da mãe, uso de drogas, anormalidades e síndromes metabólicas e/ou genéticas, agressões ambientais e causas ainda desconhecidas infecções durante a gestação pelo vírus da rubéola, citomegalovírus, herpes I e II, toxoplasmose e mais recentemente o ZIKV.

Após as recomendações iniciais estabelecidas pelo MS para a notificação de casos suspeitos de microcefalia, em março de 2016 o MS alinhado com as orientações da OMS, recomendou uma nova definição com padrão internacional para microcefalia a ser adotadas para crianças a termo onde as medidas de 31,5 cm para meninas e 31,9 cm para meninos (BRASIL, 2016). No entanto, em 30 de agosto de 2016, a OMS recomendou aos países que adotassem como referência para as primeiras 24-48h de vida os parâmetros de InterGrowth para ambos os sexos (OMS, 2016; INTERGROWTH-21st, 2016). Nessa nova tabela de referência, para uma criança que nasceu com 37 semanas de gestação, a medida de referência será 30,24 cm para meninas e 30,54 cm para meninos e a medida deve ser aferida com a maior precisão possível. (BRASIL, 2017).

Portanto, o ponto de corte para microcefalia segundo a OMS é um perímetro cefálico inferior a -2 desvios-padrão e microcefalia grave aquele que apresentar um

perímetro cefálico inferior a -3 desvios padrão abaixo da média para idade gestacional e sexo. (BRASIL, 2017)

Além da microcefalia congênita, uma série de manifestações, incluindo desproporção craniofacial, espasticidade, convulsões, irritabilidade, disfunção do tronco encefálico, como problemas de deglutição, contraturas de membros, anormalidades auditivas e oculares, e anomalias cerebrais detectadas por neuroimagem têm sido relatadas entre neonatos que foram expostos ao vírus Zika durante a gestação (FALUY et al., 2016; MO, ALFEREZ SALADA, TAMBYAH, 2016)

O MS considera caso confirmado de Síndrome Congênita pelo ZIKV (SZC) aquele que apresente sinais e sintomas (clínicos ou em exames de neuroimagem) compatíveis infecção pelo vírus Zika, e que o RN apresente resultado positivo para o vírus Zika no teste em amostra do RN, se cumprida as exigências de (coleta até o 8º dia de vida, tipo de material, processamento etc.) e que tenha resultado negativo ou inconclusivo em pelo menos 1 STORCH (sífilis, toxoplasmose, rubéola, CMV ou HSV) em amostra do RN ou da mãe (durante a gestação) e que apresente dois ou mais dos sinais e sintomas (em exame de imagem ou clínico) (BRASIL, 2017).

Até o momento não se conhece o tempo de duração da imunidade conferida pela infecção natural do vírus zika.

O diagnóstico laboratorial específico para ZIKV é bastante complexo não só pelo curto período de viremia da infecção, bem como pela circulação simultânea de outros arbovírus no país, em especial o vírus da dengue (flavivírus) que além de produzir sinais e sintomas semelhantes aos da zika o risco dos testes sorológicos produzirem reação cruzada com outros flavivírus é muito frequente. Desta forma, um resultado positivo para vírus Zika não elimina a possibilidade de infecção por outros flavivírus (BRASIL, 2017).

O diagnóstico laboratorial pode ser por biologia molecular (reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa – RT-qPCR), que é considerado o padrão ouro, ou pela detecção de anticorpos anti IgM e IgG contra o vírus por sorologia, porém o acesso aos testes ainda é limitado. (EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2014).

A cocirculação, a possibilidade de coinfeção, o desconhecimento da doença por parte dos profissionais de saúde e a perda de oportunidade de coletar amostras de sangue nas pessoas acometidas no momento adequado (fase aguda) são fatores que dificultam o diagnóstico etiológico dessas arboviroses e portanto, um grande desafio a ser superado.

2.1 METODOLOGIA

Trata-se de um relato do caso de uma gestante, cujo conceito apresenta diagnóstico de microcefalia fetal na 29ª semana de gestação. Realizado entrevista

com mãe e coletado dados do prontuário. Realizado acompanhamento do caso durante a gestação, parto e pós-parto. Feito coleta de amostras de sangue da Mãe e do RN no momento do parto para pesquisa de vírus zika (RT-PCR) e após o parto IgG materno e do RN. Realizado Ultrassonografia Transfontanela (USTF) e Tomografia Computadorizada de Crânio (TCC) da criança após o nascimento e avaliação clínica multidisciplinar e do desenvolvimento neuropsicomotor da criança. O estudo foi realizado no município de Feira de Santana que está situada a 110 Km de distância da capital baiana e apresenta clima semiárido, com população de 617.528 habitantes (IBGE, 2015). Foi o primeiro município do Brasil a confirmar a transmissão autóctone do vírus chikungunya em 2014 com genótipo de linhagem africana. Portanto, nos anos seguintes (2015 e 2016) o município apresentava um cenário de cocirculação do ZIKV e CHIKV simultaneamente.

3 | RESULTADOS

Gestante com 25 anos de idade, parda, lavradora, estudou até o ensino fundamental, sem relato de comorbidades, nega uso de fumo, álcool e drogas durante a gestação. Terceira gestação, segundo parto e um aborto prévio. Realizou ultrassonografias obstétricas (USG) na 9ª, 13ª e 20ª semana de gestação (SG) e todos os exames de imagem foram normais e não apresentaram alterações no feto e nos anexos embrionários. Ao iniciar o pré-natal, relatou ter apresentado *rash* cutâneo pruriginoso difuso na 8ª SG que evoluiu para cura espontânea após três dias do início dos sintomas. Informa que não realizou exames específicos para Zikv no período de fase aguda da doença. Informou que o companheiro também apresentou exantema no mesmo período. Os exames maternos realizados na gestação para rubéola, toxoplasmose, sífilis, herpes 1 e 2 e parvovirus B19 apresentaram IgM não reagente e IgG reagente e IgM e IgG não reagentes para citomegalovírus.

Essas informações coletadas durante o pré-natal suscitou a necessidade da adoção de novas condutas terapêuticas, sendo solicitados novos exames sorológicos e de imagens e na 20ª SG a ultrassonografia (USG) morfológica evidenciou má formação fetal apresentando calota craniana com contornos diminuídos e relação ventrículo/hemisfério cerebral anormal devido a ventriculomegalia unilateral direita. As medidas do Perímetro Cefálico (PC) evidenciaram que estavam abaixo de menos 3 desvio padrão para a idade gestacional e sexo, caracterizando como microcefalia grave (Figura 1).



Figura 1. O RN apresenta características fenotípicas (PC=25 cm) desproporção craniofacial, proeminência occipital externa (foto à esquerda). Achados clínicos compatíveis com Síndrome da Zika Congênita (SZC) presumida, Feira de Santana, 2016.

Fonte: Foto autorizada.

Os resultados dos exames da mãe de amostras coletadas no momento do parto mostraram que todas as sorologias para TORSCH foram IgM negativas, dengue e chikungunya com IgM não reagente e ZikV não foi realizado pelo laboratório de referência em Saúde Pública do estado.

O parto cesáreo ocorreu na 40ª semana gestacional, o Apgar ao nascer foi de 7 no primeiro minuto e 9 no quinto minuto, peso de 2.775g, estatura de 49 cm e PC de 25 cm, sendo confirmada a microcefalia grave. Após o nascimento a ultrassonografia Transfontanela (USGTF) evidenciou imagens hiperecóticas dispersas indicando focos de calcificações puntiformes pariventriculares na região dos cornos anteriores dos ventrículos laterais e assimetria do corno anterior do ventrículo lateral esquerdo que se encontrava ectasiado e medido 10 mm. A tomografia computadorizada de crânio (TCC) também apontou atrofia cerebral presença de calcificações com imagem anecótica em região dos ventrículos cerebrais, com dilatação ventricular bilateral compatível com alterações observadas nas infecções congênitas pelo vírus zika.

No acompanhamento a criança apresentou tremores em extremidades evoluindo com crises convulsivas sucessivas e secundárias a microcefalia e com comprometimento do desenvolvimento neuropsicomotor. Outras alterações foram detectadas como cardiopatia congênita, hérnia umbilical, e alterações oftalmológicas com epitelopatia macular em ambos os olhos.

Os resultados dos exames do RN das amostras de sangue coletadas logo após o nascimento apresentaram os seguintes resultados: rubéola, toxoplasmose, citomegalovírus, parvovírus B 19 e herpes 1 e 2 IgM não reagentes, chikungunya RT qPCR indetectável e sorologia IgM não reagente, RT-qPCR para vírus dengue indetectável e sorologia IgM não reagente, RT-qPCR para vírus zika indetectável.

A amostra de sangue da mãe do RN coletadas após o parto para pesquisa de anticorpos Anti-IgG para o ZikV evidenciaram IgG positivo na mãe e negativo no RN.

4 | DISCUSSÃO

O ano de nascimento do recém-nascido com microcefalia, apresentado neste estudo coincide com o período em que o município de Feira de Santana, Bahia registrou um aumento significativo no número de casos novos de microcefalia documentados nos Sistemas de Informação de Nascidos Vivos (SINASC) e no sistema de Registro de Eventos em Saúde Pública (RESP) do município. (FEIRA DE SANTANA, 2016).

O início dos sintomas da doença exantemática relatada pela mãe também coincide com o ano em que se registrou uma epidemia de zika com 1.563 notificados (FEIRA DE SANTANA, 2015). Portanto, os dados apontam uma associação temporal entre a epidemia de zika em 2015 e o aumento de recém-nascidos microcefálicos no ano subsequente. Essa mesma tendência foi observada em outros estados da região nordeste do Brasil onde se verificou a circulação do vírus zika (SANTOS et al., 2016).

As condições socioeconômicas e demográficas maternas evidenciadas neste caso mostra que a mãe possui baixa escolaridade, se autodeclara de cor preta, se encontra desempregada, não possui casa própria e renda familiar é de apenas um salário mínimo. Portanto, o caso aqui relatado se assemelha a muitos outros já documentados no Brasil, sobretudo na região nordeste (epicentro da epidemia de microcefalia) onde as famílias vivem em um contexto de vulnerabilidades e desigualdades sociais. (DINIZ, 2016).

Apesar do período embrionário ser considerado o de maior risco por conta das múltiplas complicações decorrentes de processo infeccioso, sabe-se que o sistema nervoso central permanece suscetível a complicações durante toda a gestação. Nesse caso específico os sinais e sintomas referidos pela mãe foi exantema, prurido, artralgia e que iniciaram no primeiro trimestre de gestação, período onde as lesões neurológicas podem ser mais graves, por conta de coincidir com o momento de formação do tubo neural do embrião.

Os resultados dos exames de imagem (USGTF e TCC) evidenciados nesse caso específico são compatíveis com outros estudos onde os principais achados em tomografia computadorizada cerebral (TCC) de recém-nascidos com SCZ incluem calcificações cerebrais (principalmente na junção cortical-branco da matéria branca), diminuição do volume cerebral com malformação do desenvolvimento cortical, ventriculomegalia (principalmente colpocefalia, definida como aumento desproporcional dos chifres occipitais dos ventrículos laterais), hipoplasia do cerebelo e proeminente protuberância do osso occipital. ^{54,55,56}

Embora a microcefalia seja a consequência mais frequente do ZIKV evidenciadas em crianças com Síndrome da Zika Congênita (SZC) as complicações oftalmológicas e auditivas também já foram relatadas. Os achados oftalmológicos incluem cicatrizes maculares, defeitos da retina, baixa acuidade visual, estrabismo e nistagmo.

No nosso estudo a avaliação oftalmológica do RN evidenciou epitelioptia macular em ambos os olhos com presença de catarata congênita. Dois artigos publicados

no Journal of the American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus (AAPOS) avaliaram a função visual entre lactentes com CZS suspeita e confirmada e descobriram que, a deficiência visual cortical pode ser a causa mais comum de cegueira entre crianças com SZC.

Outro estudo, que incluiu 32 crianças nascidas em Pernambuco, Brasil, de maio a dezembro de 2015 com infecção confirmada por ZIKV, encontrou deficiência visual em todos os pacientes. Do total de casos avaliados quatorze pacientes apresentaram dano no retino e/ou nervo óptico e tiveram neuroimagem ou anormalidades neurológicas detectadas no nascimento.

Ainda existem dados limitados sobre os achados oftalmológicos em bebês nascidos de mulheres com infecção por ZIKV durante a gravidez, são necessários mais estudos para compreender os achados oculares nos recém-nascidos com infecção congênita por ZIKV com e sem microcefalia. (Fonte)

Diante das malformações do desenvolvimento cortical que ocorrem na síndrome congênita do vírus Zika, uma consequência comum é a ocorrência de epilepsia, na forma de crises sutis, motoras focais ou, o mais comum, espasmos infantis, que são contrações bruscas e súbitas do corpo para frente, que se repetem em intervalos regulares (salvas), várias vezes ao dia e que acarretam choro e irritabilidade entre os espasmos. Outras crises também podem ocorrer, como crises crônicas localizadas em apenas um membro ou hemicorpo, bem como crises generalizadas.

Os resultados dos exames laboratoriais e dificuldades para o diagnóstico etiológico se constituem em verdadeiros desafios para se comprovar a relação causal entre o vírus Zika e microcefalia e/ou outras alterações congênitas em fetos e recém-nascidos provocadas pelo ZIKV como observado nesse caso.

Portanto, a junção dos dados clínicos maternos compatíveis com Zika na gestação, a presença da microcefalia e outras alterações neurológicas no RN evidenciadas nos exames de neuroimagem que foram também compatíveis com a infecção pelo ZIKV, o descarte de outras infecções congênitas com sorologias negativas coletadas e avaliadas no pré-natal e após o parto, bem como a confirmação do IgG reagente no soro da mãe, são evidências que analisadas em conjunto sugerem que esse caso específico se trata de um provável caso de Síndrome da Zika Congênita (SZC).

5 | CONCLUSÃO

Os resultados sorológicos dos exames realizados pela mãe não apontaram outras infecções adquiridas durante a gestação que justifique as alterações neurológicas do sistema nervoso central e demais alterações observadas no recém-nascido.

As lesões envolvendo estruturas cerebrais observado nesse caso evidencia o neurotropismo do agente infeccioso causador da infecção, sendo compatível com infecção pelo ZIKV.

A avaliação oftalmológica apontou lesões oftálmicas características de infecção congênita incluindo as verificadas nos casos confirmados de SZC.

Portanto, diante das dificuldades de acesso ao diagnóstico laboratorial para ZIKV e levando em consideração a exclusão de outras infecções congênitas e a constatação de lesões cerebrais compatíveis com infecção pelo Zikv foi possível confirmar como um provável caso de SZC.

O diagnóstico laboratorial é um fator limitante e desafiador para diagnóstico etiológico da zika de forma rápida e eficiente, portanto, outros estudos devem ser realizados para a produção de testes diagnósticos oportunos, a fim de minimizar o sofrimento, sobretudo emocional e psicológico das famílias acometidas que não conseguem ter o diagnóstico da causa da microcefalia e/ou outras lesões cerebrais às quais seus filhos foram acometidos.

Dentre as medidas recomendadas o controle do vetor é uma das mais importantes para a prevenção da doença.

REFERÊNCIAS

- Besnard, M. et al. Evidence of perinatal transmission of Zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014. *Euro Surveill.* v. 19, n 19, 20751. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES2014.19.19.20751>. Acesso em: 20 de maio de 2016.
- DICK, G. W; KITCHEN, S. F; HADDOW, A. J. Zika virus. I. Isolations and serological specificity. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* v. 46, n 5, p. 509-520. 1952. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(52\)90042-4](https://doi.org/10.1016/0035-9203(52)90042-4).
- GUBLER J.D.; KUNO, G.; MARKOFF, L. Flaviviruses, in: *Field Virology*, Fifth Ed., pp. 1155-227, Chapter 34. 2007.
- IOOS, S. et al. Current Zika virus epidemiology and recent epidemics. *Med. Mal. Infectar.* v. 44, n 7, p. 902 - 907. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2014.04.008>. Acesso em: 02 de junho de 2016.
- HYES, E. B. Zika virus outside Africa. *Emerg Infect Dis.* v. 15, n 9, p. 347-350. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.3201/eid1509.090442>. Acesso em: 03 de junho de 2016.
- DUFFY, M. R. et al. Zika Virus Outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N. Engl. J. Med.* V. 360, p. 2536 - 2543. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0905715> pmid: 19516034 C. Acesso em: 01 de junho de 2016.
- CAC-LORMEAU, V. M. et al. Virus Zika, Polinésia Francesa, South Pacific, 2013. *Emerg. Infect. Dis.* v. 20, n 11, p. 1085 - 1086. 2014. Disponível em: <http://doi.org/10.3201/eid2011.141880>. Acesso em: 30 de maio de 2016.
- MUSSE, D. et al. Potential for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during an outbreak in French Polynesia, November 2013 to February 2014. *Euro Surveill.* v. 19, (14) 20761. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES2014.19.14.20761>. Acesso em: 30 de maio de 2016.

FOY, B. D. et al. Probable non-vector-borne transmission of Zika virus, Colorado, USA. *Emerg. Infect. Dis.* v. 17, p. 880-882. 2011. Disponível em: <http://doi:10.3201/eid1705.101289>. Acesso em: 10 de maio de 2016.

Besnard, M. et al. Evidence of perinatal transmission of Zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014. *Euro Surveill.* v. 19, n. 13, p. 20751. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES2014.19.13.20751>. Acesso em: 20 de maio de 2016.

SANTOS, D. N. et al. Documento de posição sobre a tripla epidemia de Zika-Dengue-Chikungunya. Observatório de Análise Política em Saúde, 2016.

FARIA et al. Epidemiology of Chikungunya Virus in Bahia, Brazil, 2014-2015. *PLOS Currents Outbreaks*, n. 1. 2016. Disponível em: <http://doi:10.1371/currents.outbreaks.c97507e3e48e6b946401755d468c28b2>. Acesso em: 02 de junho de 2016.

MELO, A. S. O. et al. A infecção intra-uterina do vírus Zika causa anormalidades cerebrais do feto e microcefalia: ponta do iceberg? *Ultrasound Obstet Gynecol*, v. 47, p. 6-7, 2016. Disponível em: <https://doi:10.1002/uog.15831> pmid: 26781034

Mikar J, Korva M, Tul N, et al. Virus Zika associado à microcefalia. *N Engl J Med* 2016; 374 : 951-6. doi: 10.1056 / NEJMa1600651 . pmid: 26862926

ECDC. RAPID RISK ASSESSMENT Microcephaly in Brazil potentially linked to the Zika virus epidemic - 24 November 2015 [Internet]. Stockholm: Rapid Risk Assessment; 2015. Available from: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/zika-microcephaly-Brazil-rapid-risk-assessment-Nov-2015.pdf>

ZAMMARCHI, Lorenzo et al. Zika virus infections imported to Italy: clinical, immunological and virological findings, and public health implications. *Journal of Clinical Virology*, v. 68, p. 32-35, 2015.

BRASIL, P. et al. Zika virus infection in pregnant women in Rio de Janeiro: preliminary report. *The New England Journal of Medicine*, Massachusetts, March 8, p. 1-11, 2016.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Orientações integradas de vigilância e atenção à saúde no âmbito da Emergência de Saúde Pública de Importância Nacional (procedimentos para o monitoramento das alterações no crescimento e desenvolvimento a partir da gestação até a primeira infância, relacionadas à infecção pelo vírus Zika e outras etiologias infecciosas dentro da capacidade operacional do SUS [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde. – Brasília : Ministério da Saúde, 2017.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Protocolo de vigilância e resposta à ocorrência de microcefalia e/ou alterações do sistema nervoso central (SNC) /Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília; Ministério da Saúde, 2015.

EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, fev2014).

HAZIN, A. N. et al. Microcephaly Epidemic Research Group. Resultados tomográficos computadorizados na microcefalia associados ao vírus Zika. *N Engl J Med* 2016; v. 359, p. 2193 – 5. Disponível em: <https://doi:10.1056 / NEJMc1603617> pmid: 27050112 .

ARAGÃO, MFV, et al. Características clínicas e neuroimagem (TC e MRI) descobertas em presumível infecção congênita relacionada ao vírus Zika e microcefalia: estudo retrospectivo de séries de casos. *BMJ*, v. 359 (1201). 2016 . Disponível em: <https://doi:10.1136 / bmj.i1201> pmid: 27075009 .

SZEJNFELD, P. S. O. et al. Anormalidades cerebrais congênitas e vírus Zika: o que o radiologista pode esperar ver de forma prenatal e pós-natal. *Radiologia*, v. 359, p. 208 – 18, 2016. doi: 10.1148 /

radiol.2016161584 pmid: 27552482.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Protocolo de vigilância e resposta à ocorrência de microcefalia: versão 1.2. Brasília, 2016. Disponível em: <<http://pesquisa.bvsalud.org/ghn/resource/en/ii-778183>>. Acesso em: 1 nov. 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Avaliação de bebês com microcefalia no contexto do vírus Zika: orientações provisórias, 2016. Disponível em: <<http://www.who.int/csr/resources/publications/zika/assessment-infants/en/>>. Acesso em: 14 dez. 2016.

INTERGROWTH-21ST. Sobre INTERGROWTH-21st. c2009-2016. Disponível em: <<https://intergrowth21.ighn.org/about/sobre-intergrowth-21st-portuguese/>>. Acesso em: 19 nov. 2016.

ECDC. RAPID RISK ASSESSMENT Microcephaly in Brazil potentially linked to the Zika virus epidemic - 24 November 2015 [Internet]. Stockholm: Rapid Risk Assessment; 2015. Available from: <http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/zika-microcephaly-Brazil-rapid-risk-assessment-Nov-2015.pdf>

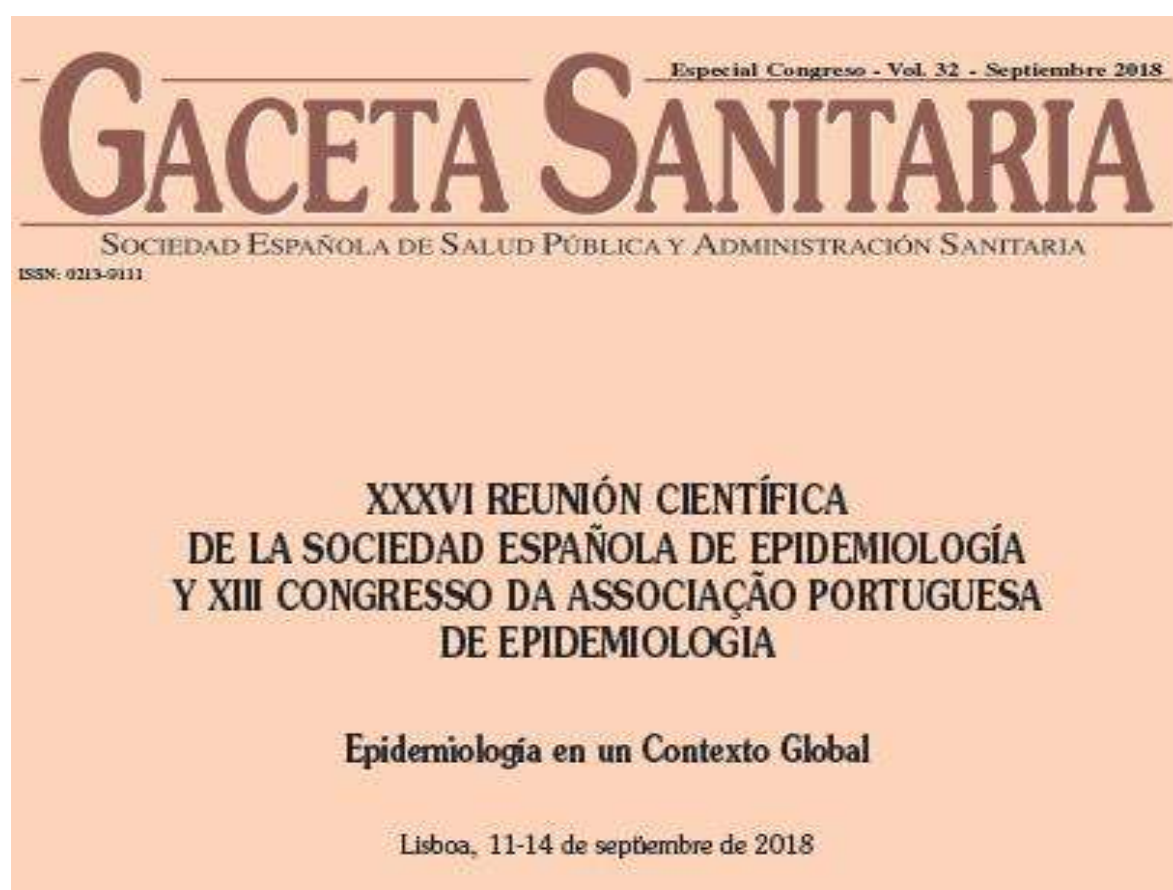
FALUYI, U. et al. Complications Associated with Zika Virus Infection: A Systematic Review Study. American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences, [S.l.], v. 24, n. 1, p. 151-161, 2016.

MO, Y.; ALFEREZ SALADA, B. M.; TAMBYAH, P. A. Zika virus: a review for clinicians. British Medical Bulletin, [S.l.], v. 119, p. 25-36, June 2016.

Os resultados desta pesquisa também foram apresentados em eventos científicos nacionais e internacionais, a saber:

**ANEXO 11 – RESUMO EXPANDIDO PRODUTO DA TESE E PUBLICADO NA
“REVISTA GACETA SANITÁRIA”, DA SOCIEDADE ESPANHOLA DE SAÚDE
PÚBLICA**

LIMA, Maricélia Maia de; SANTOS, Neuza Silva; BARRETO, Melissa; CERQUEIRA, Erenilde; ALCÂNTARA, Luiz Carlos Junior. Infecção aguda por Chikungunya na gestação, Bahia, Brasil. **Revista Gaceta Sanitária**, Vol. 32, 2018.



Introdução

O vírus Chikungunya (CHIKV) é um vírus de RNA da família *Togaviridae*, do gênero *Alphavirus*. Os primeiros casos no Brasil foram registrados em 2014, em Feira de Santana, Bahia, Brasil. Os sinais e sintomas são: febre alta e de início súbito, poliartralgia simétrica, edema periarticular, cefaleia, mialgia, hiperemia

conjuntival, manchas vermelhas na pele, entre outros. É transmitido através do mosquito *Aedes Aegypti*; no entanto, estudos mostram evidências de que a infecção fetal possa ocorrer *in* útero. Mães infectadas no período intraparto podem transmitir o vírus aos recém-nascidos por via transplacentária. O objetivo é analisar o caso de uma gestante com infecção aguda pelo CHIKV e os desfechos clínicos no feto.

Metodologia: Relato de caso, secundigesta, 21 (vinte e um) anos, solteira, nível médio, parda, sem comorbidades, 1 (um) aborto prévio. Com 16 (dezesesseis) semanas apresentou febre alta, cefaleia, hiperemia conjuntival, exantema pruriginoso, cefaleia, vômito, náuseas, dispneia intensa, mialgia, poliartralgia simétrica nas articulações, edema, formigamento e dormência em panturrilhas. Coletada Sorologia IgM e IgG para Dengue, Zika e CHIKV fase aguda. Fez sorologias do pré-natal: TORSCH. USG com 16 (dezesesseis) semanas de gestação evidenciou oligodramnio severo. Nega uso de drogas, álcool, fumo, contato com produtos tóxicos e parentesco com o companheiro. Pesquisa autorizada pelo Comitê de Ética, segundo Resolução 466/2012 do CNS. **Resultados:** Os resultados das sorologias foram IgM não reagente e IgG reagente para as TROSCH, CHIKV IgM Reagente e IgG não reagente. Dengue IgM inconclusivo e Zika IgM não reagente. Ultrassonografia Morfológica com 23 (vinte e três) semanas de gestação constatou Adramnia e rins com dimensões aumentadas e com numerosos cistos difusos em ambos os rins. Parto normal, a termo, idade gestacional 37 (trinta e sete) semanas, gravidez única, peso ao nascer 2.586g (dois quilos e quinhentos e oitenta e seis gramas), estatura: 48 cm (quarenta e oito centímetros), PC: 29 cm (vinte e nove centímetros), PT: 34 cm (trinta e quatro centímetros), PA: 32 cm (trinta e dois centímetros), Apgar de 5 (cinco) no 1º min, 6 (seis) no 5º min e 8 (oito) no 10º min, e não chorou ao nascer. Apresentou microcefalia grave, hipoplasia renal e pulmonar secundária, a Síndrome de Potter. Evolui com hipoatividade, icterícia neonatal, desidratado, anúrico, com tendência a bradicardia, evoluindo para óbito. **Conclusão:** O CHIKV pode provocar danos severos no feto e evoluir para perdas fetais. A transmissão vertical pode ocorrer no período *in* útero e causar efeitos patogênicos no feto. O mecanismo pelo qual o CHIKV cruza a barreira placentária ainda é desconhecido.

ANEXO 12 – CONGRESSO CALASS

CERQUEIRA, Erenilde Marques de; ALCÂNTARA, Luiz; **LIMA, Maricelia Maia de;** CUNHA, Venâncio da. Dor crônica pós Chikungunya: impactos na qualidade de vida. XXIX CONGRÈS ALASS. Lyon, França. 06 a 08 de setembro de 2018. **Anais...**, 2018.

XXIX CONGRÈS ALASS 2018 - CALASS 2018 Lyon, 6, 7 y 8 - 09 - 2018

Tipo de resumo: Comunicação oral

Tema específico: Epidemiologia e Saúde Pública

Título comunicação: Dor crônica pós Chikungunya: impactos na qualidade de vida

Autor(es) e filiação institucional (para cada autor):

Hélvia Maia de Lima Cerqueira¹, Erenilde Marques de Cerqueira¹, Iago Barbosa Ribeiro¹, João Batista Oliveira Lima², Mara Luiza Anunciação Rios¹, Maricélia Maia de Lima¹, Melissa Barreto Falcão¹, Maria Aparecida Oliveira Lima³, Rivaldo Venâncio da Cunha³

¹Universidade Estadual de Feira de Santana - Feira de Santana, Bahia, Brasil.

²Bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia.

³Faculdade Anísio Teixeira - Feira de Santana, Bahia, Brasil.

³Universidade Federal do Mato Grosso do Sul - Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil.

Resumo:

O Brasil enfrentou em 2014 uma epidemia de chikungunya de grandes proporções. Um dos municípios mais afetados e o primeiro a registrar casos autóctones da doença foi Feira de Santana, localizado no nordeste do país. Sabe-se que, em alguns indivíduos, a artralgia pós fase aguda do Chikungunya pode evoluir para a dor crônica incapacitante por longo período de tempo, causando sofrimento físico e psíquico aos doentes, além de causar impacto social e econômico na população. O objetivo deste estudo é avaliar a qualidade de vida (QV) dos indivíduos com artralgia crônica pós Chikungunya em Feira de Santana-Brasil. Trata-se de um estudo de corte transversal, descritivo, do tipo quantitativo. Participaram 101 pacientes com artralgia persistente por mais de três meses após o início da doença. Para a coleta dos dados foi utilizado o questionário genérico de avaliação de QV, o Medical Outcome Study Short-Form 36 Health Survey (SF 36) englobando as dimensões: Capacidade Funcional; Aspectos Físicos; Dor; Estado Geral de Saúde; Vitalidade; Aspectos Sociais; Aspectos Emocionais e Saúde Mental. Os escores do SF 36 variam de 0 a 100, onde 0 representa pior estado de saúde e 100 melhor estado. Os dados foram analisados no programa estatístico Stata 14.0. A análise descritiva das variáveis sociodemográficas, demonstrou um predomínio do sexo feminino (87,13%). A média de idade foi de 55,04. Quanto à faixa etária, 57% dos indivíduos estão entre 30 a 59 anos e 40,19% acima de 60 anos. 50% são casados. Apenas 7,92% se declararam brancos. 2,97% analfabetos e 53,47% possuíam renda até um salário mínimo. Quanto à situação laboral, 91,1% relataram dificuldades para exercer as atividades ocupacionais; 77,23% foram afastados do trabalho durante algum período da doença e 16,9% perderam o emprego por conta do Chikungunya. No que se refere às manifestações da doença, 100% persistem com artralgia de forma contínua ou intermitente, seguida de outras manifestações como dormência (86,14%), formigamento (84,16%), alteração de humor (80,20%), perda da força muscular (75,25%), edema (76,24%), cefaléia (62,38%), esquecimento (61,3%), mialgia (58,42%), prostração (52,48%), entre outros. A maioria relatou

**ANEXO 13 – TRABALHOS PREMIADOS EM EVENTOS CIENTÍFICOS
RELACIONADOS AO TEMA DA TESE DO DOUTORADO**

- **Trabalho premiado 1** – Projeto Aconchego: Compartilhando experiências e emoções.
- **Trabalho premiado 2** – Projeto Aconchego: uma experiência bem-sucedida no SUS. Prêmio Irmã Dulce.
- **Trabalho premiado 3** – 16ª EXPOEPI 2019: Projeto de Intervenção: Projeto Aconchego: desafios e conquistas na busca do acesso e do direito à saúde de crianças com Síndrome Congênita do Zika em um município da Bahia.

