



Universidade Federal do Maranhão
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação e Inovação
Centro de Ciências Biológica e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto



CUIDADOS COM A GESTANTE EXPOSTA AO ZIKA VÍRUS NO MARANHÃO, BRASIL

REBECA COSTA CASTELO BRANCO

**São Luís - MA
2019**

REBECA COSTA CASTELO BRANCO

**CUIDADOS COM A GESTANTE EXPOSTA AO ZIKA VÍRUS
NO MARANHÃO, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Saúde do Adulto, como pré-requisito para obtenção de título de Mestre em Saúde do Adulto.

Área de Concentração:

Ciências aplicadas à saúde do Adulto.

Linha de Pesquisa: HPV e Câncer; Doenças Infeciosas e Endêmicas no Maranhão.

Orientadora: Profa. Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento.

Co-Orientadora: Profa. Dra. Zulmira da Silva Batista

Co-Orientador: Prof. Caio Márcio Barros de Oliveira

Coordenadora: Profa. Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento.

**São Luís - MA
2019**

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

BRANCO, REBECA COSTA CASTELO.

CUIDADOS COM A GESTANTE EXPOSTA AO ZIKA VÍRUS NO
MARANHÃO, BRASIL / REBECA COSTA CASTELO BRANCO. - 2019.
185 f.

Coorientador(a): Zulmira da Silva Batista.

Orientador(a): Maria do Desterro Soares Brandão
Nascimento.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em
Saúde do Adulto/ccbs, Universidade Federal do Maranhão,
SAO LUIS-MA, 2019.

1. Cuidado pré-natal. 2. Infecção pelo Zika vírus. 3.
Sistema Único de Saúde. I. Batista, Zulmira da Silva. II.
Nascimento, Maria do Desterro Soares Brandão. III. Título.

REBECA COSTA CASTELO BRANCO

**CUIDADOS COM A GESTANTE EXPOSTA AO ZIKA VÍRUS
NO MARANHÃO, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto, como pré-requisito para obtenção de título de Mestre em Saúde do Adulto.

A Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado apresentada em sessão pública considerou a candidata aprovada em: **27/02/2019**.

Profa. Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento (Orientadora)
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

Profa. Dra. Zulmira da Silva Batista (Co-Orientadora)
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Profa. Dr. Caio Marcio Barros de Oliveira (Co-Orientador)
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

Prof. Dr. Marcos Antônio Barbosa Pacheco
Universidade Ceuma – UNICEUMA

Profa. Dra. Geusa Felipa de Barros Bezerra
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

Profa. Dra. Flávia Castello Branco Vidal
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

Profa. Dra. Maria do Carmo Lacerda Barbosa
Universidade Federal do Maranhão – UFMA

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser minha fonte diária de força e determinação. Senhor, sem Ti nada posso fazer! Te agradeço por todas as bênçãos e te peço que me faça sempre instrumento da Tua vontade.

A minha mãe, Luzia Herlene da Costa Castelo Branco, por seu apoio incondicional e por ter acreditado em mim em todos os momentos, mesmo nas vezes em que eu achei que não seria capaz. Obrigado por tamanho amor, dedicação e companherismo.

A minha avó, Maria de Lourdes Costa Ibiapina, exemplo de mulher e mãe, que criou seus filhos com muito amor e tementes à Deus.

A todos os meus familiares, em especial, às minhas madrinhas Berenice e Wanda, ao meu padrinho Carlos Henrique, às minhas tias e tios e aos meus primos, por sempre me ajudarem em todos os momentos e por desde cedo me mostrarem o verdadeiro significado de família.

Ao meu namorado, Guilherme Augusto Pereira de Brito Alencar, que vem demonstrando carinho, compreensão e companheirismo durante todos esses meses e a toda sua família, que me abraçaram como filha.

A Universidade Federal do Maranhão (UFMA), pelos conhecimentos e habilidades adquiridos durante o curso de Medicina e agora na pós-graduação.

Ao Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto - PPGSAD/UFMA pela oportunidade de ampliar a ciência em nosso estado, pela certificação e aos funcionários da secretaria, o meu muito obrigado.

A minha orientadora, Profa. Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento, que me acompanhou durante 3 anos na Iniciação Científica e agora por mais 2 anos no Mestrado, contribuindo tanto no meu crescimento profissional como pessoal.

A minha co-orientadora, Profa. Dra. Zulmira da Silva Batista, por todo auxílio e parceria, principalmente na parte experimental do trabalho.

A Profa. Dra. Raimunda Ribeiro da Silva, por ter disponibilizado seu tempo e conhecimento na leitura das lâminas da pesquisa.

Aos alunos do Núcleo de Imunologia Básica e Aplicada da Universidade Federal do Maranhão pela disponibilidade e pelo auxílio na coleta de dados da pesquisa.

As gestantes que se disponibilizaram a participar voluntariamente da pesquisa ajudando com que novas descobertas pudessem ser realizadas.

Ao Centro de Saúde Vila Nova, na figura dos diretores (Raimundo José Carvalho dos Santos e Francidalva Dias Castro) e a todos os funcionários, que sempre foram tão

compreensivos e me auxiliaram para que eu pudesse avançar no aprimoramento científico.

A Universidade Federal do Rio Grande do Norte, por meio do Prof. Dr. Josélio Maria Galvão de Araújo, que abriu as portas do seu laboratório para que pudéssemos realizar uma parte da pesquisa. Além de toda acolhida e receptividade quando fomos à Natal.

A Fundação Osvaldo Cruz, através da Profa. Dra. Flávia de Oliveira Cardoso, que nos ofereceu grande parceria permitindo a realização dos testes rápidos em seu laboratório.

A minha gratidão ao Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (Unidade Materno Infantil) e à Maternidade Estadual Benedito Leite, por terem cedido seu espaço para coleta dos dados; ao Laboratório de Multiusuários do Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto que funciona nas dependências do Banco de Tumores e DNA do Maranhão, por ter acondicionado as amostras dos procedimentos experimentais.

Ao meu irmão de vida, Marcos Antonio Custódio Neto da Silva, muito obrigada pelo apoio de sempre, por dedicar muito do seu tempo para me ajudar, incentivar e cobrar também, pois sei que é necessário. Sem seu apoio eu não teria conseguido concluir mais essa etapa.

Aos meus amigos, que não cansam de me apoiar um segundo sequer, que compartilham das minhas aflições e que estão comigo nessa jornada, sintam-se todos lembrado, pois vocês estão no meu coração.

A todos que de alguma forma estavam na torcida e orando por mim.

“Se eu não tentar não saberei como se voa.
Não foi a toa que eu nasci para voar.”

Padre Zezinho

RESUMO

BRANCO, Rebeca Costa Castelo. **CUIDADOS COM A GESTANTE EXPOSTA AO ZIKA VÍRUS NO MARANHÃO, BRASIL.** 2019, 166 folhas. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Maranhão.

Introdução: O Zika vírus (ZIKV) pertence ao gênero *Flavivirus* e é transmitido por mosquitos do gênero *Aedes*, sendo identificado pela primeira vez em 1947 em macacos em Uganda. Durante a gravidez de mamíferos, a placenta atua como uma barreira entre o compartimento materno e fetal. A associação observada entre infecção pelo ZIKV durante a gravidez humana com microcefalia e outras anomalias fetais sugere que esse vírus pode causar danos à placenta e atingir o feto. **Objetivos:** Analisar os cuidados para gestantes expostas ao vírus Zika na rede de atenção ao Sistema Único de Saúde, com foco em diagnóstico clínico e molecular da infecção pelo ZIKV e atenção ao pré-natal. **Desenho do estudo:** Foram incluídas 197 mulheres, a partir de uma amostra de conveniência, assistidas em duas maternidades públicas do estado do Maranhão, região Nordeste do Brasil, entre abril de 2017 e junho de 2018. As pacientes foram submetidas a coleta de sangue venoso, sangue de cordão umbilical no período de dequitação placentária, além de coleta de fragmentos de tecido placentário (face materna e fetal) próximos à inserção do cordão umbilical e nos ápices. O perfil laboratorial específico (sorologia IgG e IgM e RTPCR) foi realizado a partir das amostras de sangue e placenta e o perfil laboratorial inespecífico (TORCHs) foi obtido do prontuário. Os dados foram avaliados e transferidos para um banco de dados, informatizado no software Epi-Info. **Resultados:** Os resultados do estudo apontam que: as gestantes eram predominantemente da área metropolitana de São Luís, capital do estado, com faixa etária entre 19-35 anos, com 10-15 anos de escolaridade, raça parda, casadas e católicas, sendo que as mães positivas para RT-PCR ZIKV compreenderam a faixa etária de maiores que 19 anos. Em relação ao teste rápido, 6 gestantes apresentaram IgM positivo para o ZIKV. Das 197 amostras de placenta, 9 foram positivas pela RT-PCR, e das 197 amostras de sangue do cordão umbilical, 3 foram positivas pela RT-PCR. Em relação ao pré-natal destas gestantes observou-se que o mesmo não preencheu os critérios de qualidade preconizados pelo Ministério da Saúde. Os cuidados foram oferecidos as gestantes desde as consultas de pré-natal, através de palestras, distribuição de folders, cartilhas, momentos de acolhimento e capacitação dos profissionais de saúde quanto ao tema, além de se estender para o momento do parto. **Conclusões:** Os cuidados às gestantes detectaram o ZIKV na placenta e cordão umbilical, em mulheres sem evidência de manifestações clínicas; Os cuidados aos recém nascidos foram ofertados através dos exames de RT-PCR realizados nas mães; A presença do ZIKV em sangue de cordão não foi relacionado com alterações morfológicas e/ou psicomotoras nos recém nascidos; A assistência pré-natal revelou que metade das gestantes realizou seis ou mais consultas, menos da metade iniciou o pré-natal no primeiro trimestre e o exame das sorologias para TORCH não foi realizado por todas às gestantes que apresentaram RT-PCR positivo em placenta para o ZIKV.

Palavras-chave: Infecção pelo Zika vírus; Cuidado pré-natal; Sistema Único de Saúde.

ABSTRACT

BRANCO, Rebeca Costa Castelo. **CARE WITH PREGNANT WOMEN EXPOSED TO ZIKA VIRUS IN MARANHÃO, BRAZIL**. 2019, 166 folhas. Dissertation (Master degree). Universidade Federal do Maranhão.

Introduction: The Zika virus (ZIKV) belongs to the genus Flavivirus and is transmitted by mosquitoes of the genus Aedes, being identified for the first time in 1947 in monkeys in Uganda. During mammalian pregnancy, the placenta acts as a barrier between the maternal and fetal compartment. The association observed between ZIKV infection during human pregnancy with microcephaly and other fetal anomalies suggests that this virus can cause damage to the placenta and fetus. **Objectives:** To analyze care for pregnant women exposed to the Zika virus in the network of attention to the Unified Health System, focusing on clinical and molecular diagnosis of ZIKV infection and prenatal care. **Study design:** We included 197 women, from a convenience sample, assisted at two public maternity hospitals in the state of Maranhão, Northeastern region of Brazil, between April 2017 and June 2018. The patients were submitted to venous blood collection, umbilical cord blood in the period of placental deconvolution, and collection of placental tissue fragments (maternal and fetal sides) close to the umbilical cord insertion and in the apices. The specific laboratory profile (IgG and IgM serology and RTPCR) was performed from the blood and placenta samples and the nonspecific laboratory profile (TORCHs) was obtained from the medical record. The data were evaluated and transferred to a database, computerized in the software Epi-Info. **Results:** The results of the study indicate that: the pregnant women were predominantly of the metropolitan area of São Luís, capital of the state, with age group between 19-35 years, 10-15 years of schooling, brown race, married and catholic, whereas positive mothers for ZIKV RT-PCR comprised the age group of more than 19 years. In relation to the rapid test, 6 pregnant women presented IgM positive for ZIKV. Of the 197 placenta samples, 9 were positive by RT-PCR, and of the 197 umbilical cord blood samples, 3 were positive by RT-PCR. Regarding the prenatal care of these pregnant women, it was observed that it did not fulfill the quality criteria recommended by the Ministry of Health. The care was offered to pregnant women from prenatal consultations through lectures, distribution of folders, moments of reception and training of health professionals on the subject, in addition to extending to the time of delivery. **Conclusions:** Care of pregnant women detected ZIKV in the placenta and umbilical cord, in women with no evidence of clinical manifestations; Care for newborns was offered through the RT-PCR tests performed in the mothers; The presence of ZIKV in cord blood was not related to morphological and / or psychomotor alterations in newborns; Prenatal care revealed that half of the pregnant women had six or more consultations, less than half started prenatal care in the first trimester, and examination of the serologies for TORCH was not at all reported to pregnant women who had positive placental RT-PCR for or ZIKV.

Keywords: Zika virus infection; Prenatal care; Unified Health System.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

BNC	- Benefício de Prestação Continuada
CMV	- Citomegalovírus
CRAS	- Centro de Referência de Assistência Social
ESPII	- Emergência em Saúde Pública de Importância Internacional
ESPIN	- Emergência em Saúde Pública de Importância Nacional
EUA	- Estados Unidos da América
HSV	- Vírus Herpes Simples
IgG	- Imunoglobulina G
IgM	- Imunoglobulina M
MS	- Ministério da Saúde
OMS	- Organização Mundial de Saúde
PAISM	- Programa de Assistência Integral à Saúde da Mulher
PHPN	- Programa de Humanização no Pré-Natal e Nascimento
qRT-PCR	- Transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase em tempo real
RNA	- Ácido ribonucleico
SCZ	- Síndrome Congênita do Zika vírus
SE	- Semana Epidemiológica
SGB	- Síndrome de Guillain-Barré
SNC	- Sistema Nervoso Central
SUS	- Sistema Único de Saúde
TCLE	- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TORCH	- Toxoplasmose, Rubéola, Citomegalovírus e Herpes vírus
UFMA	- Universidade Federal do Maranhão
ZIKV	- Zika vírus
WHO	- World Health Organization

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Características clínicas da infecção aguda pelo ZIKV	33
Tabela 2: Evidências da relação causal entre ZIKV e microcefalia	50
Tabela 3: Resumo para interpretação dos valores numéricos	67
Tabela 4: Relação dos oligonucleotídeos iniciadores utilizados na transcrição reversa seguida da reação em cadeia pela polimerase em tempo real (qRT-PCR) para detecção do Zika vírus (Y = T ou C, R = A ou G)	69

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01: Epidemia do ZIKV rapidamente se desenvolveu no mundo	18
Figura 02: Os países americanos nos quais a circulação do ZIKV foi relatada até janeiro de 2016	19
Figura 03: Países africanos nos quais a circulação do ZIKV foi relatada até janeiro de 2016	20
Figura 04: Difusão espacial do ZIKV no Brasil entre 2014-2016 de acordo com relato de casos e dados epidemiológicos do Ministério da Saúde e secretarias estaduais de saúde	22
Figura 05: Sumário cronológico da introdução do ZIKV no Brasil	23
Figura 06: Uma árvore filogenética enraizada baseada na sequência nucleotídica de genomas completos ou quase completos de todos os 46 flavivírus disponíveis (a partir de novembro de 2016)	24
Figura 07: Estrutura do genoma e ciclo de replicação do ZIKV	25
Figura 08: Árvore filogenética do ZIKV mostrando as linhagens africanas e asiáticas, incluindo as cepas que surgiram recentemente no Pacífico e no Brasil	26
Figura 09: Conexão e entrada do ZIKV nas células e impacto das interações vírus-célula na transcriptoma	28
Gráfico 01: Casos prováveis de doença aguda pelo Zika vírus, por semana epidemiológica de início de sintomas, Brasil, 2017 e 2018	29
Figura 10: Resumo das vias conhecidas de transmissão do ZIKV	31
Figura 11: Conjuntivite e rashes na infecção pelo ZIKV	33
Gráfico 02. Associação temporal de casos de ZIKV e SGB durante a epidemia na Polinésia Francesa	35
Figura 12: Estratégia recomendada para o teste do Zika Virus em mulheres sintomáticas. ZIKV, vírus Zika; DENV, vírus da dengue	36
Figura 13: Oportunidade de detecção do Zika vírus segundo a técnica laboratorial por isolamento, reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa – RT-qPCR sorologia – IgM/IgG40	37
Quadro 01: Critérios para realização do teste rápido	38
Figura 14: Fluxograma de investigação laboratorial de amostras suspeitas de microcefalia relacionadas à infecção pelo ZIKV	40

Quadro 02: Características clínicas de dengue, doença aguda pelo Zika vírus e Febre Chikungunya	41
Figura 15: Quando o Zika Virus transita pela barreira placentária, o ambiente pró-inflamatório e imunológico da placenta no primeiro trimestre pode permitir a transmissão transplacentária sem ruptura substancial da barreira placentária	43
Figura 16: O Zika Virus inibe a secreção trofoblástica de interferon tipo I através do fosforilação de STAT2	44
Figura 17: Distribuição do total de notificações de casos suspeitos com alterações no crescimento e desenvolvimento possivelmente relacionadas à infecção pelo Zika vírus	48
Figura 18: Difusão espacial de casos de microcefalia no Brasil entre junho de 2015 e março de 2016	49
Figura 19: Infecção congênita pelo Zika vírus	52
Figura 20: Alterações em exames de imagem (tomografia e ressonância) do sistema nervoso central em infecção congênita pelo ZIKV	53
Figura 21: Alterações no fundo de olho na infecção congênita pelo ZIKV	54
Figura 22: Alterações antômicas na infecção congênita pelo Zika vírus	54
Quadro 3: Principais achados em crianças com infecções congênicas de diferentes etiologias	56

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
2.1. Zika vírus	18
2.1. 1. História	18
2.1. 2 Biologia	23
2.1. 3 Epidemiologia	28
2.1.4. Modos de transmissão do vírus	30
2.1.5 Diagnóstico clínico	31
2.1.6 Diagnóstico laboratorial	35
2.2 Outras arboviroses	40
2.3 Placenta	41
2.4 Microcefalia	46
2.5. Síndrome congênita associada ao Zika vírus	51
2.6 Outras infecções congênicas (TORCH)	55
2.7 Assistência ao Pré-Natal	57
2.8. Impacto da infecção pelo zika vírus na gestação	60
3 JUSTIFICATIVA	62
4 OBJETIVOS	63
4.1 Geral	63
4.2 Específicos	63
5 MATERIAL E MÉTODOS	64
5.1 Tipo e área de estudo	64
5.2 População do estudo	64
5.3 Critérios de inclusão e exclusão	64
5.4 Cálculo amostral e amostra final	65

5.5 Dados sóciodemográficos, história clínica e material biológico (sangue e placenta) ...	66
5.6 Teste rápido	67
5.7. qRT-PCR	68
5.7.1 Amostras clínicas	68
5.7.2 Extração do RNA viral	68
5.7.3 Transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase em tempo real (qRT-PCR) para pesquisa do Zika vírus	68
5.8 Análise Estatística	69
5.9 Aspectos Éticos	70
6 ARTIGO: Cuidados com a gestante exposta ao zika vírus no Maranhão, Brasil	71
7 CONCLUSÕES	86
REFERÊNCIAS	87
APÊNDICES	104
ANEXOS	118

1. INTRODUÇÃO

O Zika vírus (ZIKV) é um flavivírus transmitido pelos mosquitos *Aedes*, foi identificado em 1947 em um macaco sentinela em Uganda, e mais tarde em humanos na Nigéria. O vírus esteve restrito principalmente no continente Africano, até que foi detectado no sudeste da Ásia década de 1980, em seguida na Micronésia em 2007 e, mais recentemente, nas Américas em 2014, onde tem exibido um padrão de transmissão explosivo, conforme alertado pela Organização Mundial de Saúde (OMS), resultando na infecção de centenas de milhares de pessoas (SAIZ et al., 2016).

O ZIKV foi reconhecido por causar lesão cerebral fetal quando um aumento de casos de infecção pelo vírus no Brasil foi associado a um surto de microcefalia congênita. A OMS declarou rapidamente a epidemia de ZIKV resultando em uma emergência de saúde pública global em 2016. O termo Síndrome Congênita do Zika vírus (SCZ) foi cunhado para descrever uma série de defeitos congênitos associados à infecção por ZIKV, incluindo microcefalia, malformações cerebrais complexas e lesões oculares. Embora a microcefalia seja reconhecida como um achado clássico para o diagnóstico da SCZ, evidências estão demonstrando que lesões cerebrais e oculares sutis, mas destrutivas, também pode ocorrer em bebês com uma tamanho normal da cabeça no nascimento. Uma gama de anomalias pode ser difícil ou impossível de diagnosticar no pré-natal, e continuamos incertos quanto aos efeitos neurocognitivos de longo prazo da exposição ao ZIKV (WALKER et al., 2018).

Durante a gravidez de mamíferos, a placenta atua como uma barreira entre o compartimento materno e fetal. A associação observada recentemente entre infecção pelo ZIKV durante a gravidez humana com microcefalia fetal e outras anomalias sugere que ZIKV pode ignorar a placenta para atingir o feto (BAYER et al., 2016) A placenta tem uma grande variedade de funções essenciais durante a gravidez, incluindo mediar a troca de gases, nutrientes e resíduos de produtos entre a mãe e o feto; produção de hormônios; e agindo como uma barreira física e imunológica entre os compartimentos materno e fetal. (HUPPERTZ, 2008; MCCONKEY et al., 2016).

Respostas inflamatórias celulares crônicas por infecção hematogênica por vírus e protozoários são geralmente restritas ao estroma das vilosidades e espaço intervilosos (ALTSCHULER; RUSSELL, 1975) As infecções por organismos mais comuns, tipo TORCH (toxoplasmose, outra [da hepatite B], rubéola [sarampo alemão], citomegalovírus e herpes

simplex virus), tais como o citomegalovírus causam uma vilosite difusa com edema, fibrose, células plasmáticas. Infecções menos comuns, como a malária, estão associadas com inflamação, mas que não envolve as vilosidades (intervillosite crônica) (ORDI et al., 1998).

O Ministério da Saúde (MS) já tem um fluxo de rastreamento dos casos suspeitos de infecção por ZIKA vírus na gestação (toda grávida, em qualquer idade gestacional, com doença exantemática aguda, excluídas as hipóteses não infecção por Zika vírus), que farão reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa (RT-PCR) no soro até o 5º dia do início dos sintomas e urina se estiver até 8º dia do início dos sintomas, além de sorologias (IgG e IgM) com coleta da 1ª amostra se estiver do 3º – 5º dia do início dos sintomas e da 2ª amostra após 2 a 4 semanas da primeira coleta (BRASIL, 2016).

Considerando a importância epidemiológica da infecção pelo zika vírus na gestação e suas repercussões no binômio mãe-bebê, o presente trabalho objetivou correlacionar infecção pelo zika vírus com achados placentários, sangue de cordão umbilical e teratogenia em mulheres atendidas pela rede do Sistema Único de Saúde (SUS) em São Luís – MA.

Trata-se do primeiro trabalho de diagnóstico de infecção pelo zika vírus em gestantes assintomáticas no Estado do Maranhão por diferentes métodos, o que contribuirá para melhor assistência em saúde e planejamento estratégico das políticas públicas em relação ao cuidado obstétrico e neonatal.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Zika vírus

2.1.1 História

O ZIKV é classificado como arbovírus, ou seja, vírus transmitido por artrópodes. A primeira descrição desse vírus ocorreu em 1947 na África isolado de macaco *Rhesus*. Em humanos, o primeiro isolamento ocorreu em 1952 na Nigéria (DICK; KITCHEN; HADDOW, 1952). Até 2007, poucos casos de infecção pelo ZIKV foram descritos, quando ocorreu a primeira descrição de febre associada ao vírus na Micronésia (LANCIOTTI et al., 2008). Em 2013/2014, uma epidemia ocorreu na Polinésia francesa, despertando o interesse da comunidade científica sobre o vírus (CAO-LORMEAU et al., 2014) (Figura 1).

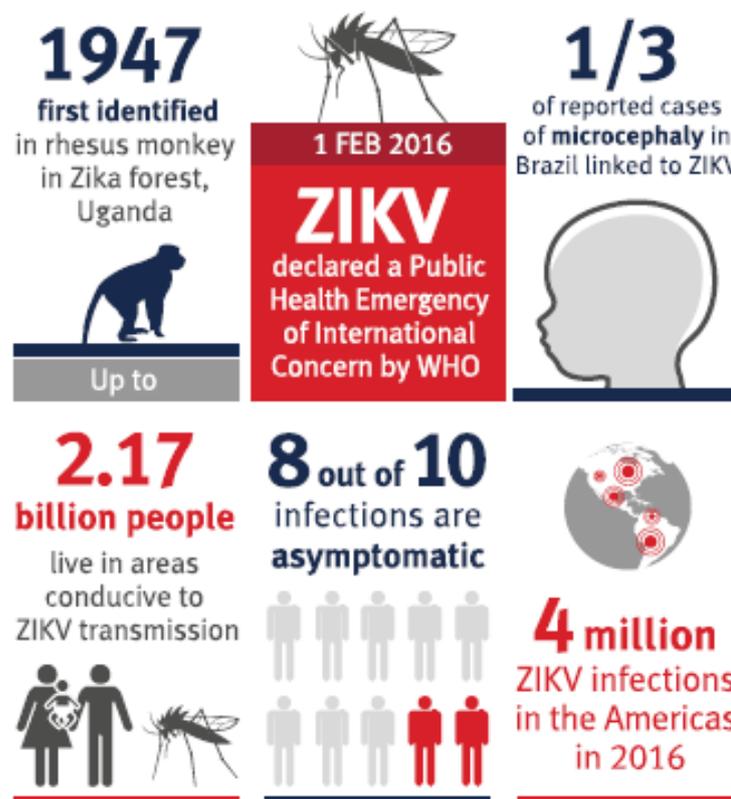


Figura 1: Epidemia do ZIKV rapidamente se desenvolveu no mundo.
Fonte: (BOUEF et al., 2016).

Nas Américas, o vírus passou a circular a partir de 2015, e no Brasil, em março do mesmo ano, embora haja dados sugestivos de que o vírus se originou nas Américas, no Brasil, entre outubro de 2012 e maio de 2013 (AYLLÓN et al., 2017; FARIA et al, 2016). Em 2016, a circulação autóctone do ZIKV já havia sido descrita em mais de 20 países (Figura 2).

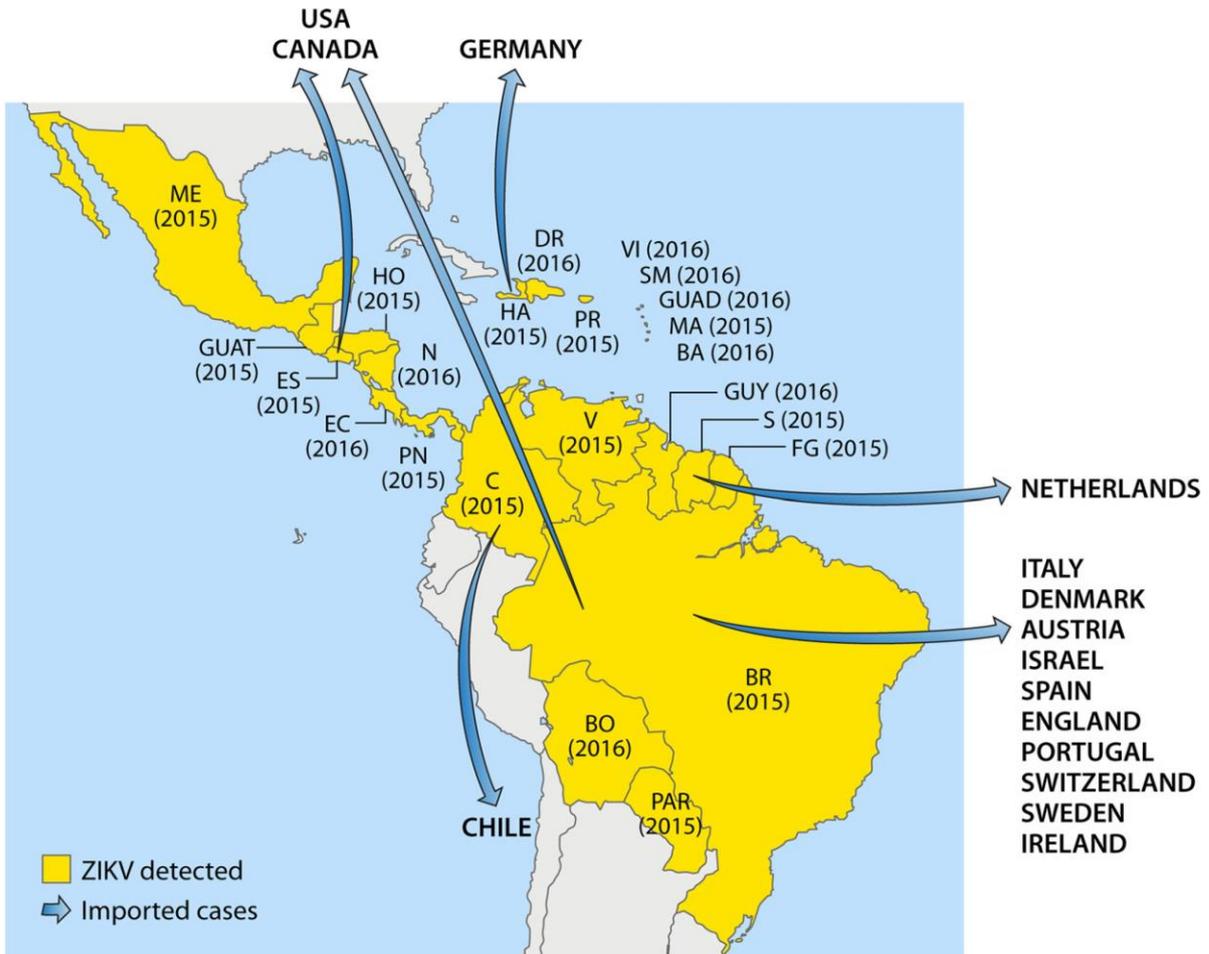


Figura 2: Os países americanos nos quais a circulação do ZIKV foi relatada até janeiro de 2016. Abreviações: ME, México; DR, República Dominicana; VI, Ilhas Virgínicas; SM, San Martin; GUAD, Guadalupe; MA, Martinica; BA, Barbados; HA, Haiti; PR, Porto Rico; HO, Honduras; GUAT, Guatemala; N, Nicarágua; ES, El Salvador; EC, Costa Rica; PN, Panamá; V, Venezuela; GUY, Guiana; S, Suriname; FG, Guiana Francesa; C, Colômbia; BR, Brasil; BO, Bolívia; PAR, Paraguai.

Fonte: (MUSSO; GUBLER, 2016).

Antes de chegar ao Brasil, o Zika vírus havia circulado por vários países da África (incluindo Costa do Marfim, Nigéria, Camarões, Uganda, Tanzânia, Egito, República Centro-Africana, Serra Leoa e Gabão), além de partes da Ásia – incluindo, além das Ilhas do Pacífico, Índia, Malásia, Filipinas, Tailândia, Vietnã e Indonésia (MUSSO; NILLES; CAOLORMEAU, 2014) (Figura 3).

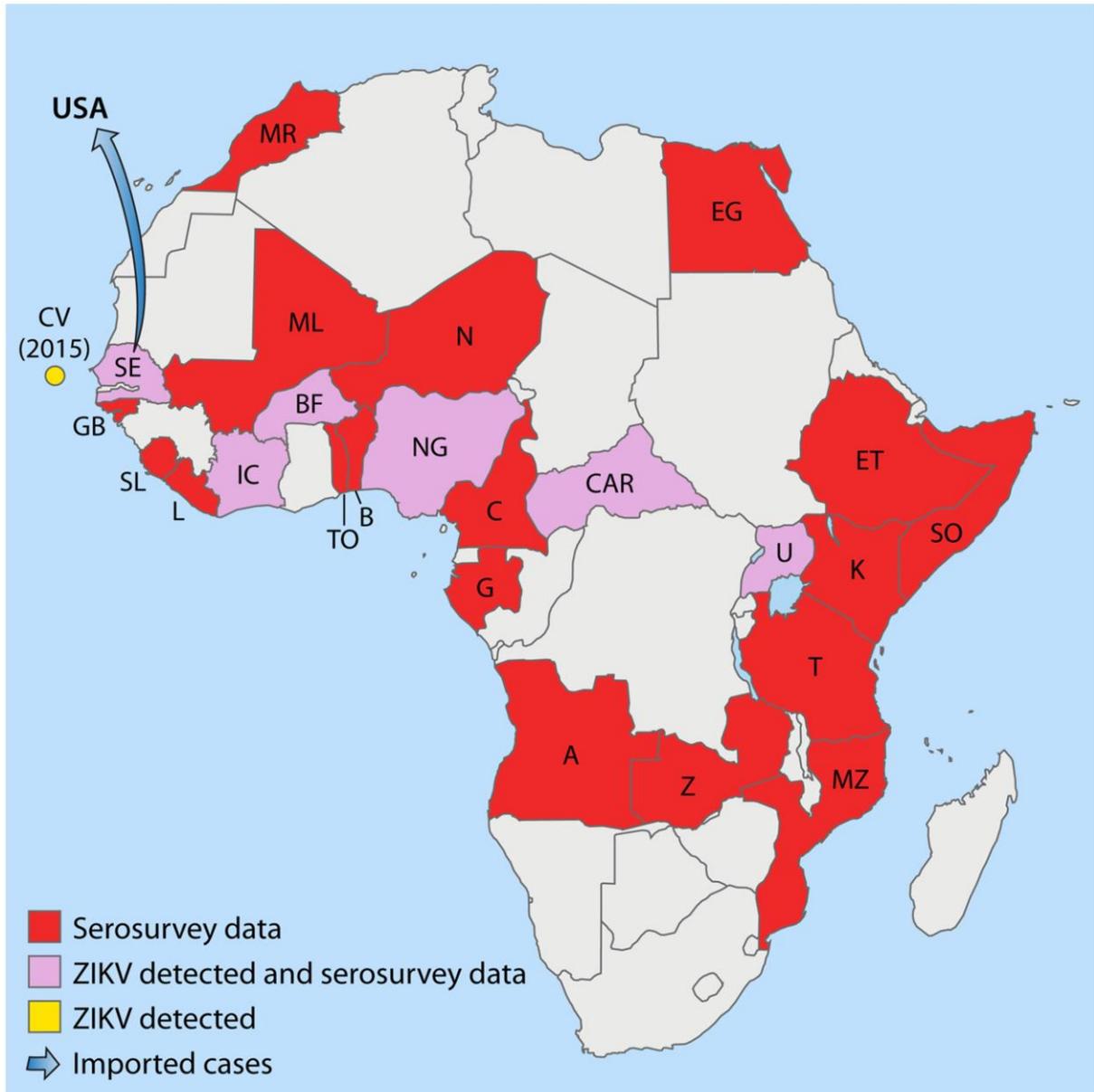


Figura 3: Países africanos nos quais a circulação do ZIKV foi relatada até janeiro de 2016. Abreviações: MR, Marrocos; CV, Cabo Verde; SE, Senegal; GB, Gabão; SL, Serra Leoa; L, Libéria; IC, Costa do Marfim; BF, Burkina Faso; ML, Mali; N, Nigéria; NG, Níger; TO, Togo; B, Benin; C, Camarões; CAR, Central Africano República; G, Gabão; A, Angola; Z, Zaire; MZ, Moçambique; T, Tanzânia; U, Uganda; K, Quênia; SO, Somália; ET, Etiópia; EG, Egito.
Fonte: (MUSSO; GUBLER, 2016).

A emergência da infecção pelo Zika foi associada ao aumento de casos de Síndrome de Guillain-Barré (SGB) em adultos da Polinésia francesa e a microcefalia em neonatos no Brasil.

Na Polinésia Francesa, em 2013 e 2014, foram registrados aproximadamente 30 mil casos de febre pelo Zika vírus, a maioria deles com sintomas leves. Foi observado um aumento acentuado do número de casos de SGB, contudo, a suspeita mais forte era que

estivessem associados à febre Chikungunya, que também ocorria naquele momento (OEHLER et al., 2014).

Uma associação entre a infecção pelo vírus da Zika e a microcefalia fetal, bem como outras malformações congênitas, foi relatada pela primeira vez durante o surto em andamento em outubro de 2015 (OLIVEIRA MELO et al., 2016).

A prevalência de malformações congênitas possivelmente relacionadas com a infecção pelo vírus da Zika é tida como 3 para cada 1000 nascidos vivos em uma coorte de quase 1 milhão de nascimentos em 2016 (DELANEY et al., 2018). Dados do Registro de gravidez com Zika nos EUA revelaram que 10% das gestações com infecção confirmada em laboratório resultaram em fetos/bebês com malformações congênitas. Esse número aumenta para 15% quando se restringe a análise ao primeiro trimestre (REYNOLDS et al., 2017). Esse relatório incluiu apenas os casos notificados pelos estados dos EUA. Um estudo mais robusto de gestações a termo em mulheres com evidências laboratoriais de infecção pelo Zika vírus em território norte-americano concluiu que aproximadamente 1 em 20 (5%) fetos ou bebês tinham possíveis malformações congênitas associadas ao Zika. Quando a análise foi limitada a infecções de ocorrência confirmada no primeiro trimestre da gestação, a taxa aumentou para 1 em 12 (8%) (SHAPIRO-MENDOZA et al., 2017).

Em outubro de 2015, foi observado no Brasil um aumento inesperado do número de casos de nascidos vivos com microcefalia, inicialmente em Pernambuco e posteriormente em outros estados da região Nordeste. O crescimento inesperado de nascimentos com esse quadro ocorreu após registro da ocorrência da febre pelo Zika vírus na mesma região.

A existência de um sistema de vigilância atuante no Brasil permitiu a imediata detecção do evento, que rapidamente foi declarado como Emergência em Saúde Pública de Importância Nacional (Espin) pelas autoridades sanitárias brasileiras. Em seguida, a OMS declarou a situação como Emergência em Saúde Pública de Importância Internacional (ESPII), embora os especialistas internacionais não acreditassem que uma doença transmitida por mosquito (arbovirose) pudesse causar malformações congênitas de tamanha severidade (BRASIL, 2018).

Em menos de um ano após sua introdução, o Zika vírus se espalhou por todas as regiões do Brasil, embora com distribuição desigual entre essas, sendo maior o número de casos nas regiões Nordeste e Sudeste. A doença passou a exibir transmissão continuada em grande parte do território brasileiro (BRASIL, 2018).

No início de dezembro de 2015, 18 estados brasileiros confirmavam a transmissão do vírus autóctone nas regiões norte, nordeste, sudeste, centro-oeste e sul (OPAS, 2015a):

Alagoas (PROMED, 2015a, 2015b, 2015c), Bahia (CAMPOS; BANDEIRA; SARDI, 2015; PROMED, 2015d, 2015e), Ceará. (PROMED, 2015f), Maranhão (ECDC, 2015), Mato Grosso (PROMED, 2015c, 2015g), Pará (PROMED, 2015h), Paraíba (OPAS, 2015b), Paraná (PROMED 2015i, 2015j), Pernambuco (OPAS, 2015b), Piauí (PROMED, 2015l), Rio Grande do Norte (ZANLUCA et al, 2015), Rio de Janeiro (PROMED, 2015m), Roraima (PROMED, 2015n), São Paulo (PROMED, 2015o), Espírito Santo (OPAS, 2015a), Amazonas (OPAS, 2015a), Rondônia (OPAS, 2015a) e Tocantins (OPAS, 2015a). No entanto, o ZIKV provavelmente já estava circulando em outros estados, mas ainda não havia sido detectado. No final de dezembro de 2015, o número estimado de casos suspeitos de infecção por ZIKV variou de 440.000 a 1.300.000 (HENESSEY; FISCHER; STAPLES, 2016) (Figura 4).

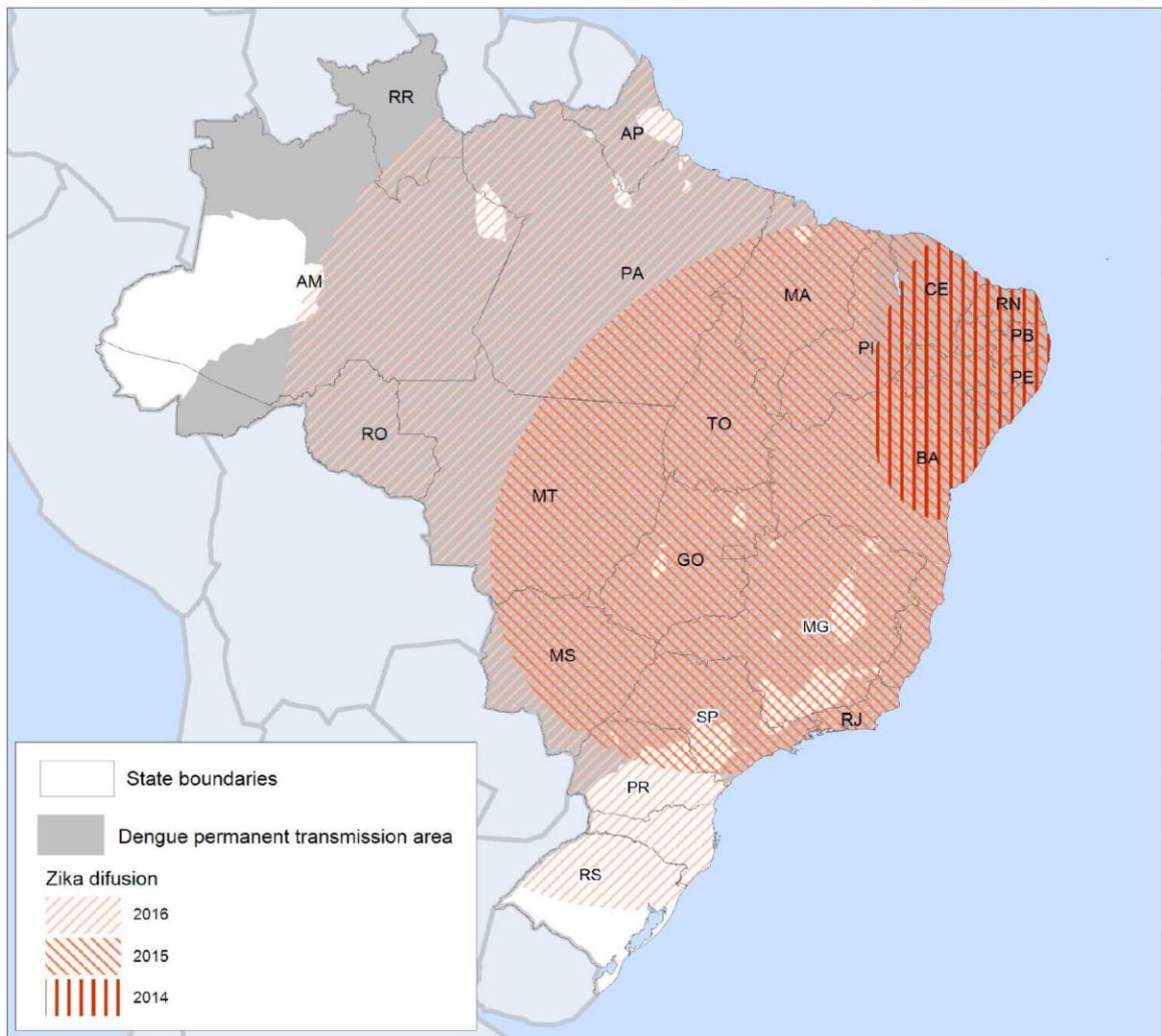


Figura 4: Difusão espacial do ZIKV no Brasil entre 2014-2016 de acordo com relato de casos e dados epidemiológicos do Ministério da Saúde e secretarias estaduais de saúde. As áreas de transmissão permanente de dengue estão em cinza.

Fonte: (BARCELLOS; LOWE, 2014; BRASIL, 2017)

Foi sugerido pela primeira vez que o ZIKV foi introduzido no Brasil durante a Copa do Mundo de Futebol de 2014 (ZANLUCA et al., 2015; SALVADOR; FUJITA, 2014), mas equipes de países do Pacífico com circulação contínua do ZIKV não participaram da competição. Em 2014, no entanto, o Brasil também sediou o Campeonato Mundial de Canoagem de Primavera no Rio de Janeiro com a participação de quatro países do Pacífico em que o ZIKV estava circulando (Polinésia Francesa, Nova Caledônia, Ilhas Cook e Ilha de Páscoa). Estudos filogenéticos sugerem que o ZIKV pode ter sido introduzido no Brasil durante aquele evento esportivo (MUSSO, 2015) (Figura 5).

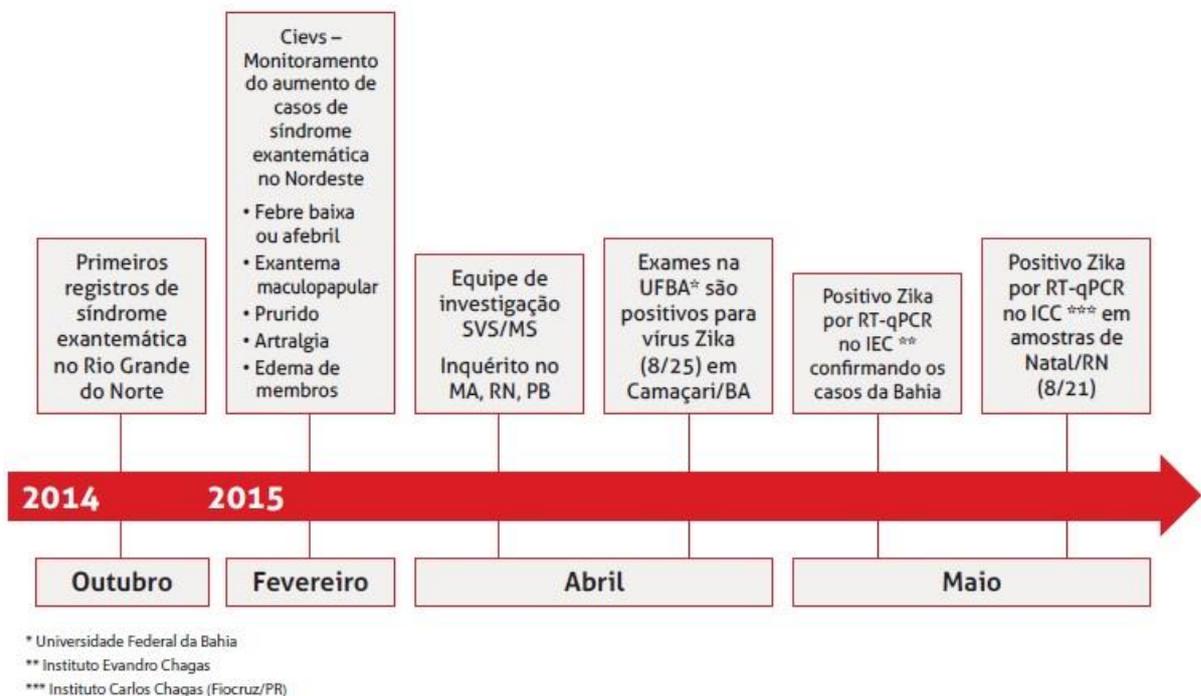


Figura 5: Sumário cronológico da introdução do ZIKV no Brasil

Fonte: (BRASIL, 2017).

2.1. 2 Biologia

O ZIKV pertence à família *Flaviviridae*, gênero *Flavivírus*. Esse gênero atualmente compreende 53 espécies (Figura 6).

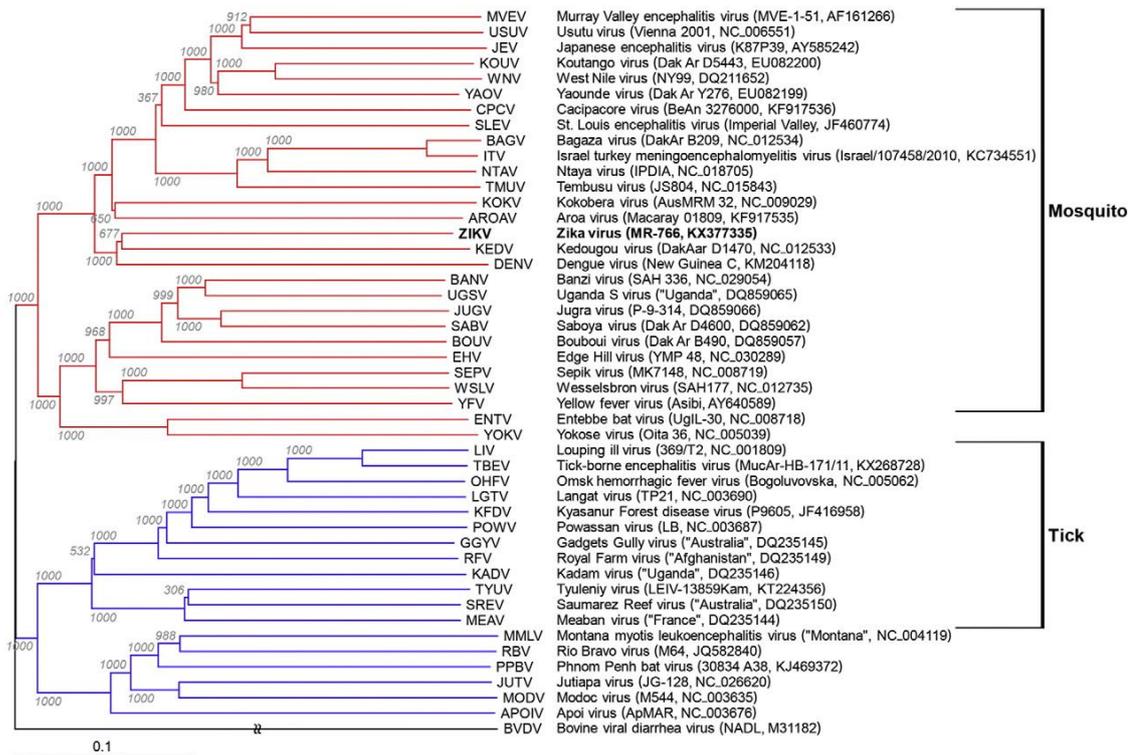


Figura 6: Uma árvore filogenética enraizada baseada na sequência nucleotídica de genomas completos ou quase completos de todos os 46 flavivírus disponíveis (a partir de novembro de 2016). Alinhamentos de múltiplas seqüências foram produzidos por ClustalX (THOMPSON et al., 1997), e a árvore filogenética enraizada foi gerada pelo método neighbor-joining (SAITOU; NEI, 1987). A barra de escala representa a distância genética nas substituições de nucleotídeos por local. Valores de bootstrap (1000 replicações) são mostrados em cada nó. A sequência completa do genoma do vírus da diarreia viral bovina, um membro do gênero *Pestivirus* na família *Flaviviridae*, foi usada como um grupo externo. As abreviaturas do vírus atribuídas pelo Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus são listadas, e os nomes das cepas e seus números de acesso ao GenBank são fornecidos entre parênteses. O vetor conhecido ou provável (mosquito ou carrapato) é indicado à direita lado da árvore.

ZIKV, uma partícula envelopada de 50-nm, contém um nucleocapsídeo interno composto de um RNA genômico linear e múltiplas cópias do capsídeo viral, proteínas e a bicamada lipídica derivada do hospedeiro com 180 cópias de cada uma das duas proteínas: a membrana viral (M, proteína de clivagem do prM) e a proteína do envelope (E) (KOSTYUCHENKO et al., 2016; SIROHI et al., 2016).

A ORF codifica uma grande poliproteína de 3423 aminoácidos (aa), que se prevê que seja clivada por proteases virais e celulares em pelo menos 10 proteínas individuais, designadas numa direção N para C terminal (KIM et al., 2015; YUN et al., 2016): C (122 aa), prM (168 aa), E (504 aa), NS1 (352 aa), NS2A (226 aa), NS2B (130 aa), NS3 (617 aa), NS4A (150 aa), NS4B (251 aa) e NS5 (903 aa). As três proteínas estruturais N-terminais são necessárias para a formação de virions infecciosos (KOSTYUCHENKO et al., 2016; SIROHI et al., 2016), e as

sete proteínas não estruturais C-terminais são essenciais para a replicação do RNA genômico viral (WESTAWAY; MACKENZIE; KHROMYKH, 2002; YUN; LEE, 2006; VILLORDO; GAMARNIK, 2009; BRINTON, 2013).

A replicação de RNA viral é catalisada pelas duas proteínas virais não estruturais: (1) NS3 tem um domínio de protease de serina N-terminal, que requer NS2B como cofator de sua atividade (LEI et al., 2016; PHOO et al., 2016); também possui um domínio de helicase de RNA no terminal C que também possui atividades de trifosfatase de nucleosídeo e trifosfatase de RNA 5 (JAIN et al., 2016). (2) NS5 possui um domínio de metiltransferase N-terminal (COLOMA et al., 2016; ZHANG et al., 2016a) e um domínio de RNA polimerase dependente de RNA C-terminal (COX; STANTON; SCHINAZI, 2015; ADIGA, 2016) (Figura 7).

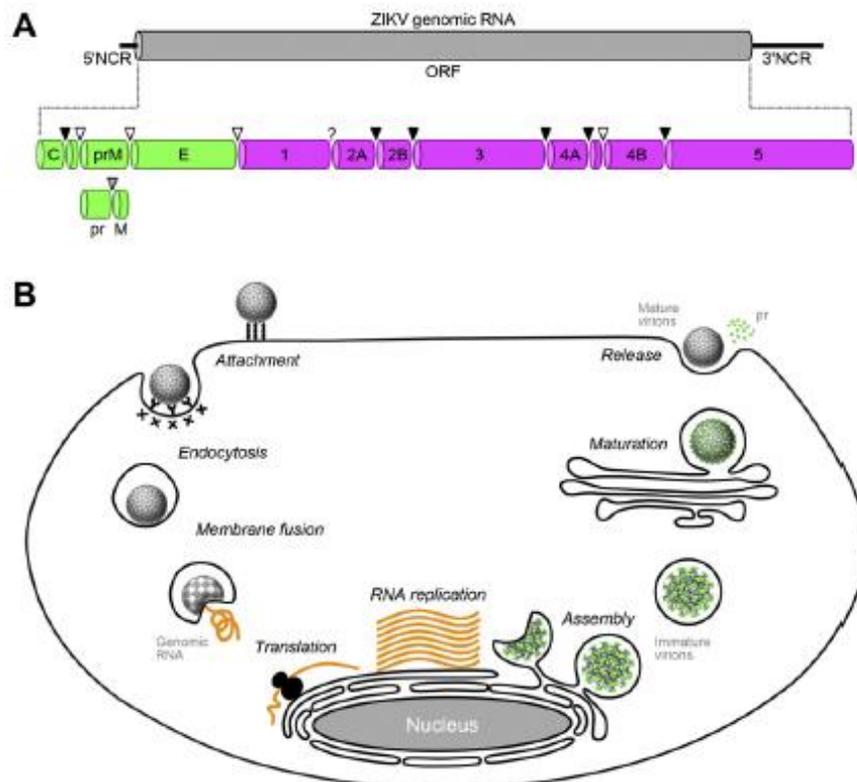


Figura 7: Estrutura do genoma e ciclo de replicação do ZIKV. (A) Um diagrama esquemático do RNA genômico do ZIKV. O único quadro de leitura aberta (ORF) codificado no genoma viral é mostrado como barril cinza longo, com as três proteínas estruturais (verde) e sete não-estruturais (magenta) definidas abaixo da ORF. NCR, região não codificante. Setas abertas indicam a clivagem locais para sinalases celulares e setas sólidas marcam os locais de clivagem para a serina protease viral (NS2B-NS3). Uma ponta de seta cinza indica o local de clivagem para a furina ou um furin-like protease. A clivagem na junção NS1-NS2A é mediada por uma protease desconhecida (s). (B) Ciclo de vida proposto do ZIKV. Os oito principais passos do ciclo de vida viral são: endocitose, fusão de membrana, tradução, replicação de RNA, montagem, maturação e liberação.

Fonte: (YUN; LEE, 2014).

O primeiro estudo filogenético do ZIKV foi conduzido por Lanciotti et al (2008) após o surto do Estado Yap (135). O sequenciamento da região codificadora completa do gene codificador da NS5 revelou três diferentes linhagens ou subclados do ZIKV: leste-africano (protótipo de cepa Uganda), oeste africano (cepas do Senegal) e asiático (cepa ZIKV 2007 Yap). A linhagem asiática divergiu de um ancestral comum que se movia no Sudeste Asiático e no Pacífico (Figura 8).

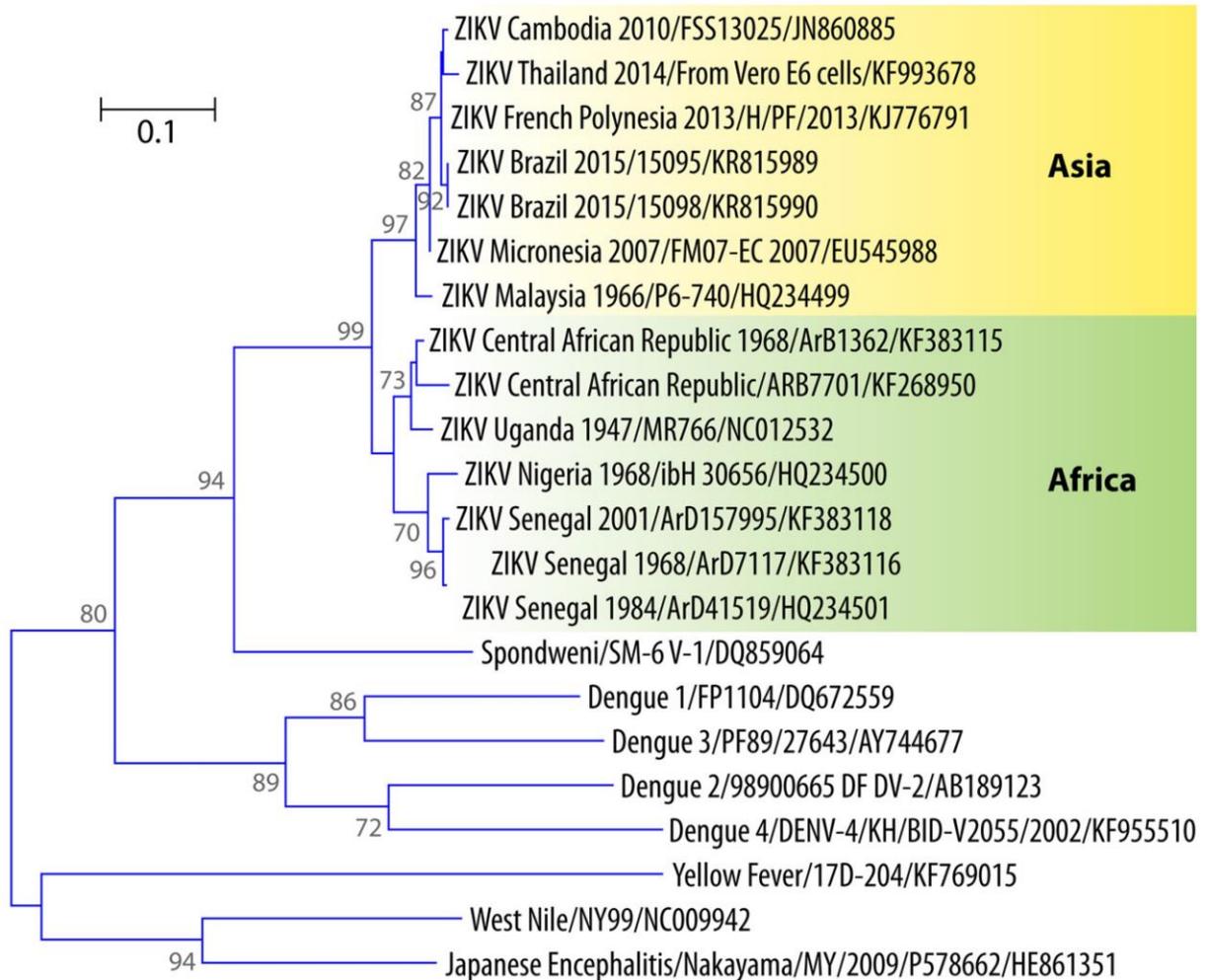


Figura 8: Árvore filogenética do ZIKV mostrando as linhagens africanas e asiáticas, incluindo as cepas que surgiram recentemente no Pacífico e no Brasil.

Fonte: (MUSSO; GUBLER, 2016).

Nas Américas, as sequências do ZIKV do Brasil (CAMPOS; BANDEIRA; SARDI, 2015; ZANLUCA et al., 2015; CALVET et al., 2016), Colômbia (CAMACHO et al., 2016), Porto Rico (LANCIOTTI et al., 2016) e Guatemala (LANCIOTTI et al., 2016) foram avaliadas. Todos eles apresentaram mais de 99% de identidade nucleotídica com as cepas da Polinésia Francesa. Essas linhagens americanas podem constituir um "grupo do hemisfério ocidental" dentro do genótipo asiático (LANCIOTTI et al., 2016). O gene codificador de NS5

da cepa isolada na Ilha de Páscoa também mostrou 99,8% de identidade no nível de nucleotídeo com a cepa polinésia francesa (TOGNARELLI et al., 2016).

O ZIKV pode infectar e replicar em vários órgãos humanos e tipos de células (ALIOTA et al., 2017). No trato reprodutivo masculino de camundongo, a infecção por ZIKV foi detectada em vários tipos de células, incluindo espermatogônias, espermátocitos primários, células de Sertoli, células mióide peritubulares, células de Leydig e células epiteliais do lúmen (GOVERO et al., 2016).

Entre as moléculas da superfície da célula hospedeira relacionadas que permitem a adesão e a entrada do vírus estão: receptor tirosina-quinase AXL (AXL), a molécula de adesão intercelular específica da célula dendrítica (DC-SIGN), domínio de célula T e mucina - 1 (TIM-1) e proteínas de superfície tirosina quinase Tyro3 (Tyro3) (HAMEL et al., 2015; GAVEGNANO et al., 2017; GOO et al., 2018) (Figura 9).

A proteína de membrana AXL está predominantemente envolvida na infecção de vários tipos de células, incluindo glioblastoma, células de Sertoli epiteliais, microgliais e humanas (LIU et al., 2016; MEERTENS et al., 2017; RICHARD et al., 2017; KUMAR et al., 2018). Foi relatado que o silenciamento da expressão do AXL pela interferência de repetições palindrômicas curtas interespaiais agrupadas (CRISPR) em células HeLa e células de glioblastoma U87 preveniu a infecção pelo ZIKV (RETALLACK et al., 2016; HASTINGS et al., 2017). Em contraste, a ablação do AXL no olho e cérebro do camundongo e nas células progenitoras neurais humanas não afeta a infecção pelo ZIKV, sugerindo que fatores adicionais podem ser necessários para a entrada do ZIKV (MINER et al., 2016a; WELLS et al., 2016).

TIM e receptores da família Tyro3-AXL-Mertk (TAM) adicionais mediam a entrada do ZIKV em fibroblastos da pele, células endoteliais e células da retina (HAMEL et al., 2015; TABATA et al., 2016; ZHAO et al., 2017). Recentemente, os ensaios de ligação *in vitro* confirmaram um grau significativo de ligação entre a proteína do envelope de zika (ZENV) e tanto o TIM-1 quanto a proteína de choque térmico 70 kDa HSP70 (SHELBY et al., 2017). No entanto, a incubação de células de Sertoli com anticorpos bloqueadores contra o AXL reduz a infecção viral, enquanto a inibição dos receptores TIM-1 e TIM-4 e os receptores TAM (Tyro3 e Mertk) não afetaram significativamente a replicação viral (KUMAR et al., 2018). Em um estudo mais recente, foi relatado que a entrada do ZIKV nas células do hospedeiro também requer endocitose mediada pela clatrina e um pH baixo para a fusão da membrana (PERSAUD et al., 2018).

Estes dados sugerem que, dependendo do tipo de célula, são necessários diferentes co-receptores para a entrada do vírus ou que o ponto de restrição é mais a jusante da ligação ao receptor (SAKKAS et al., 2018)

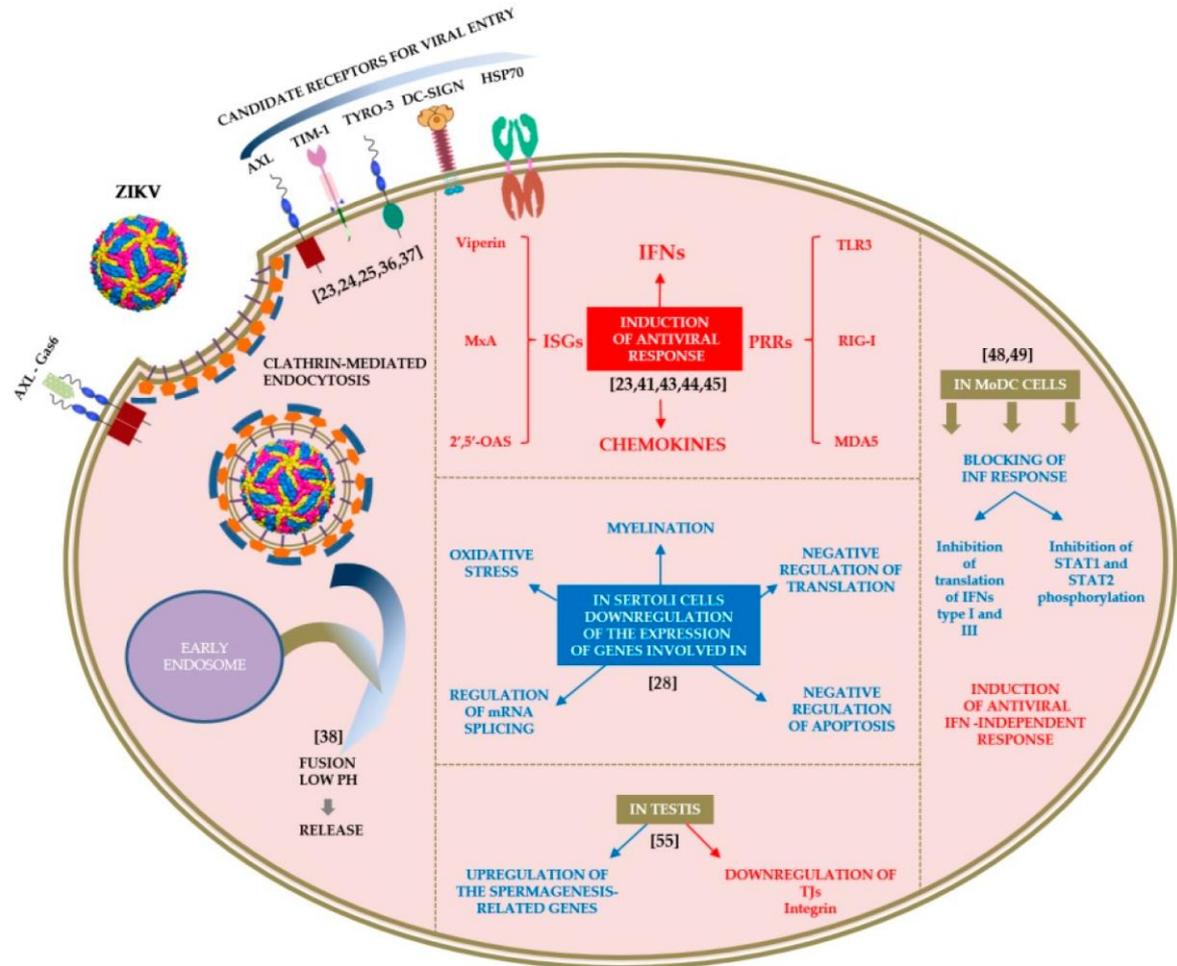


Figura 9: Conexão e entrada do ZIKV nas células e impacto das interações vírus-célula na transcriptoma. Setas e legendas com cor vermelha correspondem a genes regulados positivamente, enquanto setas e legendas com cor azul correspondem a genes regulados negativamente. A interação potente do virion ZIKV com o estado homodimérico ativado do receptor AXL através do ligando Gas6 também é descrita no esquema

Fonte: (MEERTENS et al., 2017).

2.1. 3 Epidemiologia

Casos de doença exantemática foram descritos no Brasil desde o final de 2014 e no começo de 2015 pacientes de Natal, Rio Grande do Norte apresentaram sintomas semelhantes à dengue. Os primeiros isolados de Zika vírus no soro de pacientes de Natal (RN) e Camaçari (BA) (DUPONT-ROUZEYROL et al., 2015).

De acordo com a Secretaria de Vigilância em Saúde no Monitoramento dos casos de dengue, febre Chikungunya e febre aguda pelo vírus Zika em 2016, entre as semanas epidemiológicas (SE) 1 a 52 foram registrados 215.319 casos prováveis de doença aguda pelo Zika vírus e confirmados 8 óbitos, sendo um no Maranhão (BRASIL, 2017).

Em 2017, entre as SE 1 a 52, foram registrados 17.593 casos prováveis de doença aguda pelo Zika vírus no país (Gráfico 1) (BRASIL, 2018).

Em 2018, até a SE 46, foram registrados 8.024 casos prováveis de doença pelo Zika vírus no país, com taxa de incidência de 3,8 casos/100 mil hab, destes, 3.625 (45,2%) foram confirmados (Gráfico 1) (BRASIL, 2018).

A região Sudeste apresentou o maior número de casos prováveis (2.969 casos; 37,0%) em relação ao total do país. Em seguida aparecem as regiões Nordeste (2.301 casos; 28,7%), Centro-Oeste (1.620 casos; 20,2%), Norte (1.096 casos; 13,7%) e Sul (38 casos; 0,5%) (BRASIL, 2018).

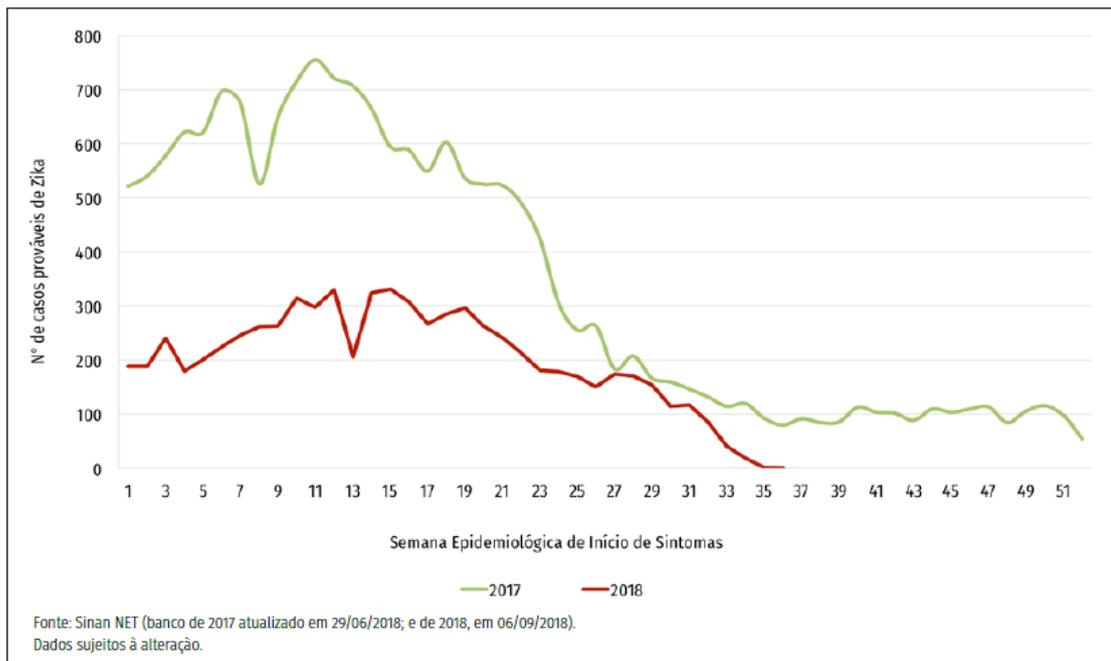


Gráfico 1: Casos prováveis de doença aguda pelo Zika vírus, por semana epidemiológica de início de sintomas, Brasil, 2017 e 2018

Fonte: SINAN NET (BRASIL, 2018).

Em 2017, SE 1 a 52, foi confirmado laboratorialmente um óbito por Zika vírus, no estado de Rondônia. Em 2018, até a SE 46, quatro óbitos por Zika vírus foram confirmados nos estados de Paraíba, Alagoas, São Paulo e Goiás (BRASIL, 2018).

Em relação às gestantes no país, no mesmo período de 2018, foram registrados 1.058 casos prováveis, sendo 420 confirmados por critério clínico-epidemiológico ou laboratorial,

segundo dados do Sinan-NET (BRASIL, 2018).

Outra análise de dados secundários provenientes dos sistemas de vigilância do Ministério da Saúde (DE OLIVEIRA et al., 2017) apontou a ocorrência de duas ondas distintas da epidemia pelo Zika vírus em gestantes que atingiram todas as regiões do Brasil em 2015 e 2016. Foram notificados 1.673.272 casos suspeitos de dengue, Chikungunya ou Zika de 1º de janeiro de 2015 a 12 de fevereiro de 2016, 32,5% dos quais foram considerados casos possíveis de infecção pelo Zika vírus. A primeira onda iniciou-se com o aumento da incidência de casos possíveis de doença pelo Zika vírus, em março de 2015, seguido pelo crescimento do número de casos de microcefalia na região Nordeste, a partir de agosto do mesmo ano, e continuou até abril de 2016. A segunda onda foi mais abrangente e atingiu todas as regiões do Brasil de novembro de 2015 a agosto de 2016. Durante a segunda onda, o aumento do número de casos de microcefalia foi bastante pequeno nas regiões Sul, Sudeste e Norte, enquanto a maior incidência de casos possíveis de infecção pelo Zika vírus foi registrada na região Centro-Oeste, em fevereiro de 2016. Esses achados reforçam as marcantes desigualdades regionais existentes no Brasil.

A infecção pelo zika vírus na gestação e a ocorrência de microcefalia são de notificação compulsória (BRASIL, 2017)

2.1.4 Modos de transmissão do vírus

O ZIKV é um vírus transmitido por artrópodes (arbovírus), com dois ciclos de transmissão distintos (WEAVER et al., 2016): (i) um ciclo silvestre, envolvido na manutenção do ZIKV entre primatas não humanos e mosquitos arbóreos nas florestas; e (ii) um ciclo urbano, envolvido na transmissão do ZIKV entre humanos e mosquitos urbanos nas cidades (Figura 10).

O ZIKV foi isolado na África e na Ásia a partir de diferentes espécies de mosquitos no gênero *Aedes* (por exemplo, *A. aegypti*, *A. africanus*, *A. albopictus*, *A. apicoargenteus*, *A. furcifer*, *A. luteocephalus*, *A. opok* e *A. vittatus*), que podem potencialmente atuar como vetores para a transmissão viral em um dado ambiente dessas áreas endêmicas (DICK; KITCHEN; HADDOW, 1952; WEINBREN; WILLIAMS, 1958; HADDOW et al., 1964; MARCHETTE; GARCIA; RUDNICK, 1969; CORNET et al., 1979b; FAGBAMI, 1979; MCCRAE; KIRYA, 1982; AKOUA-KOFFI et al., 2001; BERTHET et al., 2014; DIALLO et al., 2014; GRARD et al., 2014). No ciclo urbano, o ZIKV é transmitido predominantemente

pelo *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* (ECDC, 2016). Entre as duas espécies, o *Aedes aegypti* é considerado o principal vetor (MARCHETTE; GARCIA; RUDNICK, 1969; AKOUA-KOFFI et al., 2001; DIALLO et al., 2014). Ocasionalmente, o ZIKV tem sido isolado de outros mosquitos, como *Culex perfuscus*, *Anopheles coustani* e *Mansonia uniformis* (FAYE et al., 2013; DIALLO et al., 2014).

Embora na maioria das infecções por Zika vírus em humanos haja predominância da transmissão vetorial, também foi documentada transmissão do Zika vírus por meio de contato sexual (BROOKS et al., 2016; D'ORTENZIO et al., 2016; MUSSO et al., 2017), transfusão de sangue (MUSSO et al., 2014; BARJAS-CASTRO et al., 2016) e exposição ocupacional em laboratório, além da transmissão intrauterina e intraparto (PETERSEN et al., 2016).

O RNA do Zika vírus foi detectado em sêmen, urina, líquido cefalorraquidiano, secreções vaginais ou cervicais e outros fluidos corporais, incluindo o leite materno (Figura 10) (GOURINAT et al., 2015; D'ORTENZIO et al., 2016; DUPONT-ROUZEYROL, 2016; PRISANT et al., 2016; ROZÉ et al., 2016a; 2016b).

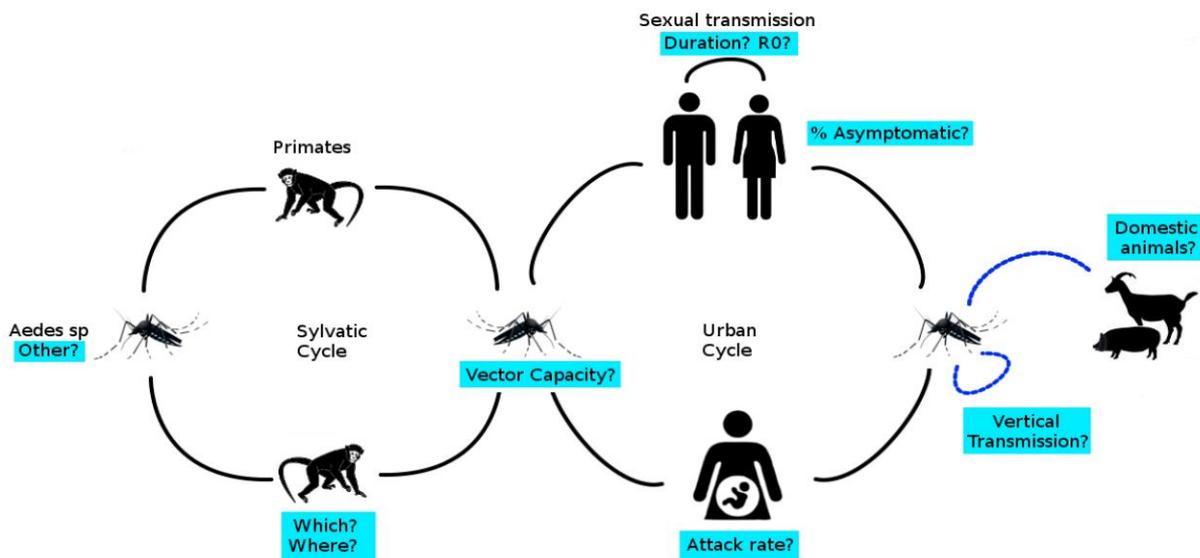


Figura 10: Resumo das vias conhecidas de transmissão do ZIKV. Vias de transmissão ainda não completamente estabelecidas estão destacadas em azul.

Fonte: (LOWE, 2018)

2.1.5 Diagnóstico clínico

O ZIKA vírus tem um período de incubação de 3-12 dias (BURKE et al., 2016; GOEIJENBIER et al., 2016).

A apresentação clássica da doença causada pelo Zika vírus é semelhante à dengue e à Chikungunya e inclui febre aguda, erupções cutâneas maculopapulares, conjuntivite não purulenta, artralgia, cefaleia, mialgia, astenia, edema da mão e pés e sinais menos evidentes como anorexia, dor abdominal, vômitos, diarreia, vertigem, sensação de queimação de sola e palma e às vezes pode haver dor retro-orbital e prurido (ZAMMARCHI et al., 2015; FAUCI; MORENS, 2016; KORHONEN et al. 2016; SHINOHARA et al. 2016; BASARAB et al. 2016; GOEIJENBIER et al. 2016) (Figura 11) (Tabela 1).

Os sintomas geralmente são autolimitados e podem durar de quatro a sete dias (BARRERA-CRUZ et al. 2016). A hematúria e a hematospermia (não há relato de hematospermia causada por outros arbovírus) foram documentadas em alguns casos (FOY et al., 2011; MUSSO, ROCHE, ROBIN et al., 2015).

Início abrupto de febre e aparecimento de erupções cutâneas, muitas vezes pruriginosas que desaparecem rapidamente com o tempo, são achados característicos. Ocasionalmente, o Zika vírus pode causar anormalidades neurológicas, como Síndrome de Guillain-Barré (OEHLER et al. 2014; PINTO et al., 2015; GATHERER, KOHL, 2016).

Cabe ressaltar, que as dores articulares são menos intensas do que na Chikungunya e predominam nas mãos, joelhos e tornozelos, com duração média de três a cinco dias (HEANG, et al., 2012).

Os sinais e sintomas mais predominantes em gestantes incluem alterações como, erupção maculopapular descendente ou pruriginosa, febre, artralgias, conjuntivite e dor de cabeça. Porém, cabe ressaltar, que uma pesquisa realizada no Peru constatou uma prevalência de 3,2% de pacientes assintomáticas, mas portadoras de infecção por ZIKV. Tal fato pode ser explicado pela baixa sensibilidade dos testes disponíveis e, possivelmente, esse panorama aplica-se também ao Brasil. Uma vez que ainda não temos um método de diagnóstico eficiente disponível no mercado (WEILG, et al., 2018).

Apesar dos leves sintomas em gestantes, a infecção pelo ZIKV pode ter repercussões muito deletérias para o feto, tais como, restrição do crescimento fetal, anormalidades do sistema nervoso central e até mesmo a morte fetal (BRASIL, et al., 2018). Se ocorrer infecção neonatal pelo ZIKV, podem ocorrer microcefalia, calcificação intracraniana, hidropisia fetal, hidranencefalia e anormalidades oculares que afetam principalmente o desenvolvimento do nervo óptico e macular (MCCARTHY, 2016; SARNO et al., 2016; SHIU, 2018).

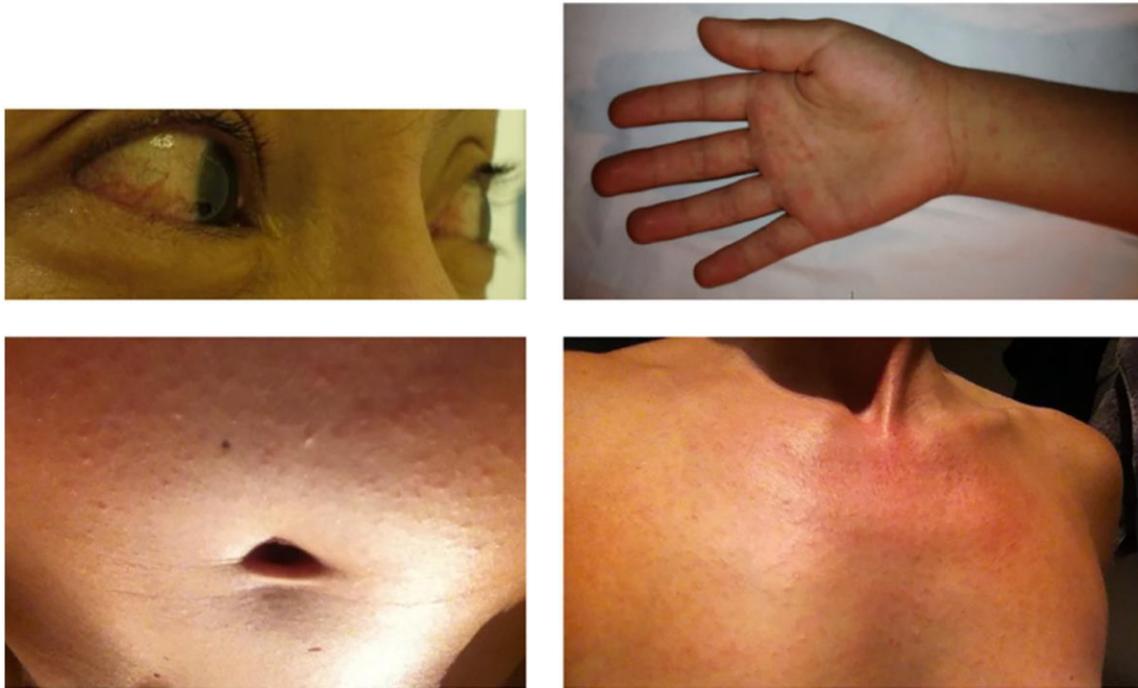


Figura 11: Conjuntivite e rashes na infecção pelo ZIKV. Foto esquerda superior, cortesia de H. P. Mallet, Departamento de Saúde da Polinésia Francesa; canto superior direito, canto inferior esquerdo e foto inferior direita de V. M. Cao-Lormeau e E. Grange, Institut Louis Malardé.

Tabela 1: Características clínicas da infecção aguda pelo ZIKV

Sinais e sintomas	Características	Referências
Rash maculopapular/prurido	Rash maculopapular difuso em palmas e plantas, podendo ser pruriginoso	Korhonen et al., 2016; Atkinson et al., 2016; Calvet et al., 2016.
Fadiga/letargia/astenia <30	-	Brust; Prince; Fader, 2014; Atkinson et al., 2016; Calvet et al., 2016.
Febre	Geralmente leve e principalmente autorrelatada; início abrupto de febre alta muito incomum; febre alta (cerca de 39 ° C) relatado em 2 brasileiros (28), 7 Indonésios (119) e 1 colombiano (451)	Tappe et al., 2014; Zammarchi et al., 2015; Leung et al., 2015.
Artrite/artralgia/mialgia	Principalmente envolvendo mãos, pés e joelhos, edema pode estar presente	Grard et al., 2014; Campos; Bandeira; Sardi, 2015; Zammarchi et al., 2015.
Conjuntivite	Hiperemia conjuntival bilateral, sem secreção	Cao-Lormeau et al., 2014; Zammarchi et al., 2015; Leung et al., 2015.
Cefaleia	-	Campos; Bandeira; Sardi, 2015; Zanluca et al., 2015; Kwong; Druce; Leder, 2013; Alera et al., 2015..
Mal-estar	-	Olson et al., 1981; Tappe et al., 2014.; Zammarchi et al., 2015
Icterícia	-	Macnamara, 1954

Sinais e sintomas	Características	Referências
Calafrios	-	Olson et al., 1981; Foy et al., 2011; ProMED-mail. 29 May 2013.
Tontura	-	Olson et al., 1981.
Dor retro-orbital	-	Kutsuna et al., 2014; Gourinat et al., 2015; Korhonen et al., 2016.
Anorexia	-	Olson et al., 1981; Alera et al., 2015.
Fotofobia	-	Foy et al., 2011.
Desordens gastrintestinais	-	Olson et al., 1981; Pyke et al., 2014; Alera et al., 2015.
Dor de garganta	-	Heang et al., 2012; Tappe et al., 2015; Buathong et al., 2015; Alera et al., 2015.
Tosse	-	Macnamara, 1954; Heang et al., 2012;. Kwong; Druce; Leder, 2013
Rinorreia	-	Buathong et al., 2015.
Úlceras aftóides	-	Foy et al., 2011; ProMED-mail. 29 May 2013; Cao-Lormeau et al., 2014; Fonseca et al., 2014.
Hipotensão	-	Olson et al., 1981.
Hematúria	-	Olson et al., 1981.
Prostatite	-	Foy et al., 2011.
Dor lombar	-	Filipe; Martins; Rocha, 1973; ProMED-mail. 29 May 2013; Summers; Acosta; Acosta, 2015.
Dificuldades auditivas	-	Tappe et al., 2015.
Hematospermia	-	Foy et al., 2011.
Linfadenopatia	-	Zammarchi et al., 2015; ProMED-mail. 8 January 2016. Zanluca et al., 2015.
Sudorese	-	Filipe; Martins; Rocha, 1973

Fonte: Adaptado de (MUSSO; GUBLER, 2016).

Durante o surto na Polinésia Francesa foi observado um número inesperadamente elevado de casos de SGB. A incidência estabelecida de SGB é de cerca de 1 a 3 casos por 100.000 habitantes por ano (376). Durante a epidemia, foram notificados 42 casos de SGB, aproximadamente 20 vezes mais do que o esperado (Direção da Saúde da Polinésia Francesa, <http://www.hygiene-publique.gov.pf/>). Todos os pacientes com SGB desenvolveram sintomas neurológicos após um episódio de “síndrome do tipo zika” (Gráfico 2).

A associação temporal de casos de ZIKV e Sgb sugeriram que a causa foi o ZIKV.

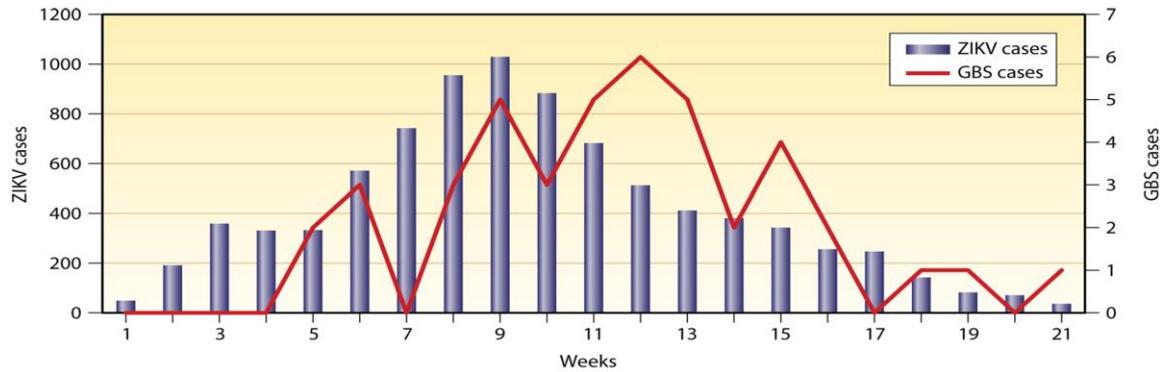


Gráfico 2: Associação temporal de casos de ZIKV e SGB durante a epidemia na Polinésia Francesa.
Fonte: (MUSSO; GUBLER, 2016)

Nas Américas, um aumento no GBS foi relatado em três países (31). De janeiro a julho de 2015, o Brasil registrou 121 casos nos estados nordestinos; 62% dos pacientes apresentaram sintomas consistentes com febre zika precedendo o GBS. Em El Salvador, dos 22 casos investigados em dezembro de 2015, 54% também apresentavam sintomas consistentes com a febre zika precedendo a SGB. Na Venezuela, um aumento de 2 a 3 vezes da linha de base nacional foi registrado. Finalmente, um primeiro caso de GBS possivelmente associado à infecção pelo ZIKV foi relatado pelo Ministério da Saúde da França na Martinica (31). Coletivamente, esses dados epidemiológicos reforçam a hipótese de uma relação entre o ZIKV e o GBS. Complicações oculares em adultos foram relatadas (383).

2.1.6 Diagnóstico laboratorial

Os métodos de teste incluem testes sorológicos e moleculares. Testes laboratoriais com o algoritmo incluem Zika Vírus IgM, Zika Vírus NAT (Teste de Ácido nucléico) e teste de neutralização de redução de placas (Figura 12).

O diagnóstico sorológico envolve a detecção de anticorpos IgG e IgM. Para a detecção de anticorpos contra o zika vírus no soro de pacientes, os anticorpos IgM podem ser monitorados por ELISA. É positivo se o título de anticorpos neutralizantes do vírus Zika for superior a quatro vezes dos anticorpos neutralizantes da Dengue, caso contrário, o teste é considerado inconclusivo (STAPLES et al., 2016). A reação cruzada entre outros Flavivírus dificulta o uso de técnicas de ELISA e, portanto, o teste de neutralização por redução de placa (PRNT) pode ser feito para identificar anticorpos induzidos pelo vírus Zika (PETERSEN, JAMIESON et al., 2016).

A soroconversão é confirmada pela análise dos títulos de IgM e IgG em amostras de soro pareadas da fase aguda e de convalescença da infecção (PYKE et al., 2014).

O Zika Vírus IgM está temporariamente presente no soro após uma infecção por Zika Vírus, e a duração da persistência do anticorpo IgM após a infecção pelo Zika Vírus é desconhecida. Anticorpos IgM para o vírus do Nilo Ocidental (um flavivírus intimamente relacionado) foram detectados por pelo menos 3 meses após o período virêmico em doadores de sangue infectados e assintomáticos, e mais de 1 ano em doentes com encefalite do Nilo Ocidental. Estes resultados foram extrapolados para o Zika Vírus e usado como potencial janela de teste para pacientes com suspeita de infecção. O Zika Vírus IgM também pode reagir de forma cruzada com flavivírus relacionados, como dengue, tornando os resultados IgM positivos mais difíceis de interpretar. Portanto, uma placa com o teste de neutralização por redução deve ser realizado no caso de um anticorpo IgM positivo, para confirmar o diagnóstico de Zika Vírus (WOOD;HUGHES, 2018)

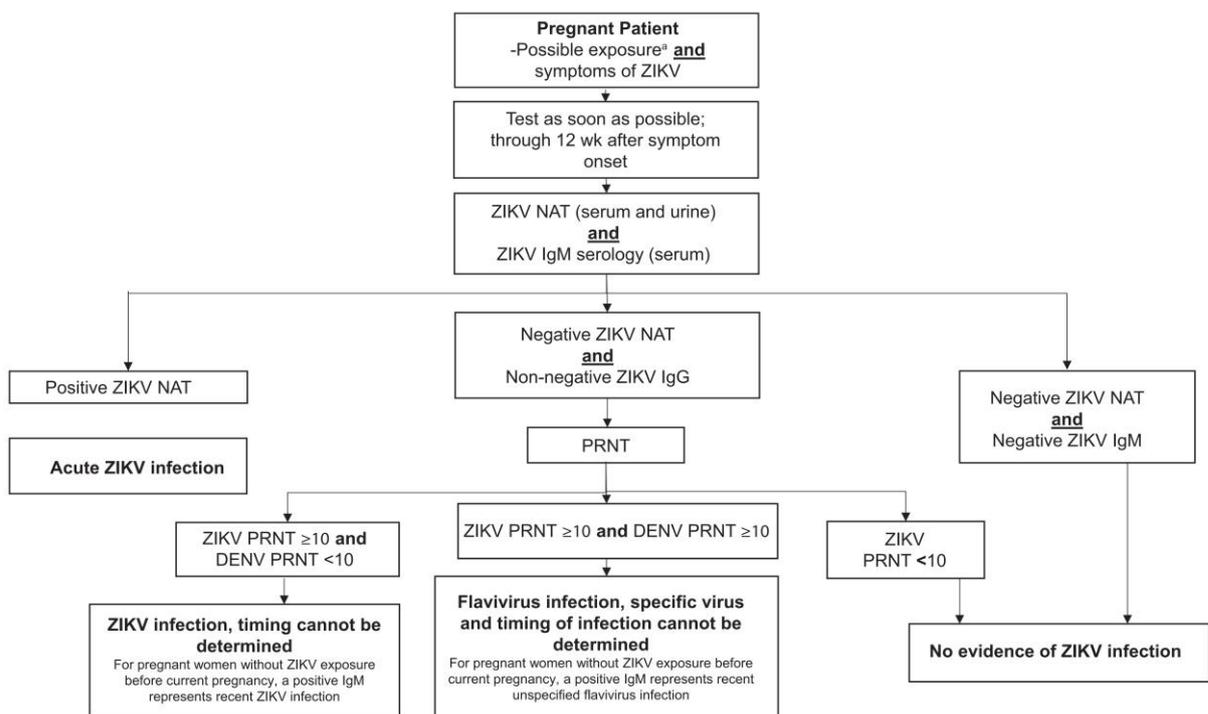


Figura 12: Estratégia recomendada para o teste do Zika Vírus em mulheres sintomáticas. ZIKV, vírus Zika; DENV, vírus da dengue; IgM, imunoglobulina M; PRNT, teste de neutralização por redução de placa; NAT, Teste de ácido nucleico.

Fonte: Adaptado de (WOOD; HUGHES, 2018).

O teste de diagnóstico molecular para Zika Vírus está disponível na forma de NAT, que é usado para identificar o RNA viral em amostras clínicas ou patológicas. Um resultado

positivo geralmente indica infecção, embora falsos positivos tenham sido relatados (PAZ-BAILEY; ROSENBERG, et al. 2017). Um teste negativo não exclui a infecção, porque a duração e a persistência da viremia ainda não são conhecidas. (RABE; STAPLES et al., 2016).

Em um recente estudo de coorte de Zika Vírus em fluidos corporais de 150 sintomáticos e positivos para PCR Zika Vírus, os pesquisadores descobriram que a mediana e o percentil 95 de tempo até a perda de detecção de RNA do Zika Vírus foi de 14 e 54 dias, respectivamente, no soro, 8 e 39 dias na urina e 34 e 81 dias no sêmen.(PAZ-BAILEY; ROSENBERG, et al., 2017).

Esses achados indicam que o intervalo de tempo em que o Zika Vírus está presente nos fluidos corporais é variável, e testar muito tarde após o início dos sintomas pode resultar em um resultado NAT falso-negativo (Figura 13).

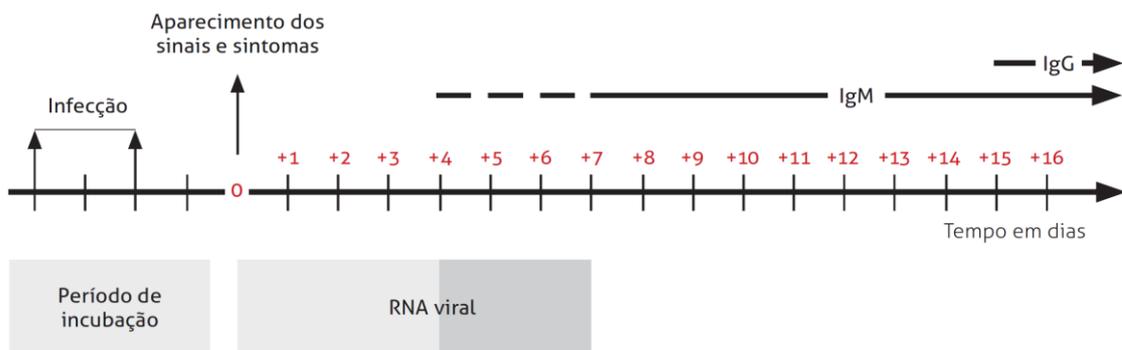


Figura 13: Oportunidade de detecção do Zika vírus segundo a técnica laboratorial por isolamento, reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa – RT-qPCR sorologia – IgM/IgG40.

Fonte: (BRASIL, 2016).

A amniocentese para o Zika Vírus NAT também pode ser realizada em casos de preocupação de infecção materna baseada em resultados laboratoriais positivos ou resultados ultrassonográficos fetais anormais com exposição materna conhecida ao Zika Vírus. No entanto, a sensibilidade, especificidade e valores preditivos de NAT no líquido amniótico são desconhecidos.

Uma pesquisa recente demonstrou que a detecção do RNA do Zika Vírus no líquido amniótico de fetos com anomalias congênitas associados ao Zika Vírus indicam infecção fetal. No entanto, em vários casos com resultados inicialmente positivos, as amniocenteses subsequentes foram negativas, indicando que a presença de Zika Vírus no líquido amniótico pode ser transitória e nem sempre detectável. (RABE et al., 2016) A idade gestacional ideal para a amniocentese é desconhecida. (WOOD; HUGHES, 2018).

Visando otimizar o diagnóstico laboratorial, testes rápidos de imunocromatografia qualitativa (IgM/IgG) para triagem inicial de amostras suspeitas estão sendo incorporados à rotina, sendo que as amostras positivas devem ser confirmadas por ensaios imunoenzimáticos (ELISA) ou outros ensaios imunológicos (BRASIL, 2017).

O teste rápido é um teste de triagem e tem por objetivo investigar a condição imunológica do usuário do serviço de saúde no momento da consulta médica, seja no pré-natal ou outra situação que o profissional de saúde julgue necessário, de acordo com alguns critérios (BRASIL, 2017) (Quadro 1).

Público-Alvo	Critérios
Gestante	<ul style="list-style-type: none"> • Suspeita clínica de febre pelo vírus Zika. • Contato com fluídos corporais (sêmen, fluidos vaginais, orais, urina ou sangue) de pessoas suspeitas de infecção pelo vírus Zika. • Receptora de sangue ou hemoderivados durante a gestação. • USG do feto com padrão alterado.
RN e criança até o 8º dia de vida	<ul style="list-style-type: none"> • Deve-se fazer o teste rápido nas crianças que atendem aos critérios de notificação ou cuja mãe se enquadre em uma das situações anteriores. <p>OBS.: Para os RNs notificados, a coleta de material para o teste laboratorial deverá ser feita preferencialmente dentro das primeiras 48h de vida.</p>
Criança após o 8º dia de vida	<ul style="list-style-type: none"> • Deve-se fazer o teste rápido nas crianças que atendem aos critérios de notificação ou cuja mãe se enquadre em uma das situações anteriores. Além do teste rápido, devem ser coletadas amostras de sangue para realização da sorologia IgM/IgG (ELISA). • RT-qPCR só deverá ser realizado quando a criança apresentar sintomas compatíveis com a infecção pelo vírus na fase aguda, segundo instruções da vigilância de Zika.

Quadro 1: Critérios para realização do teste rápido.

Fonte: CGLAB/SVS/MS

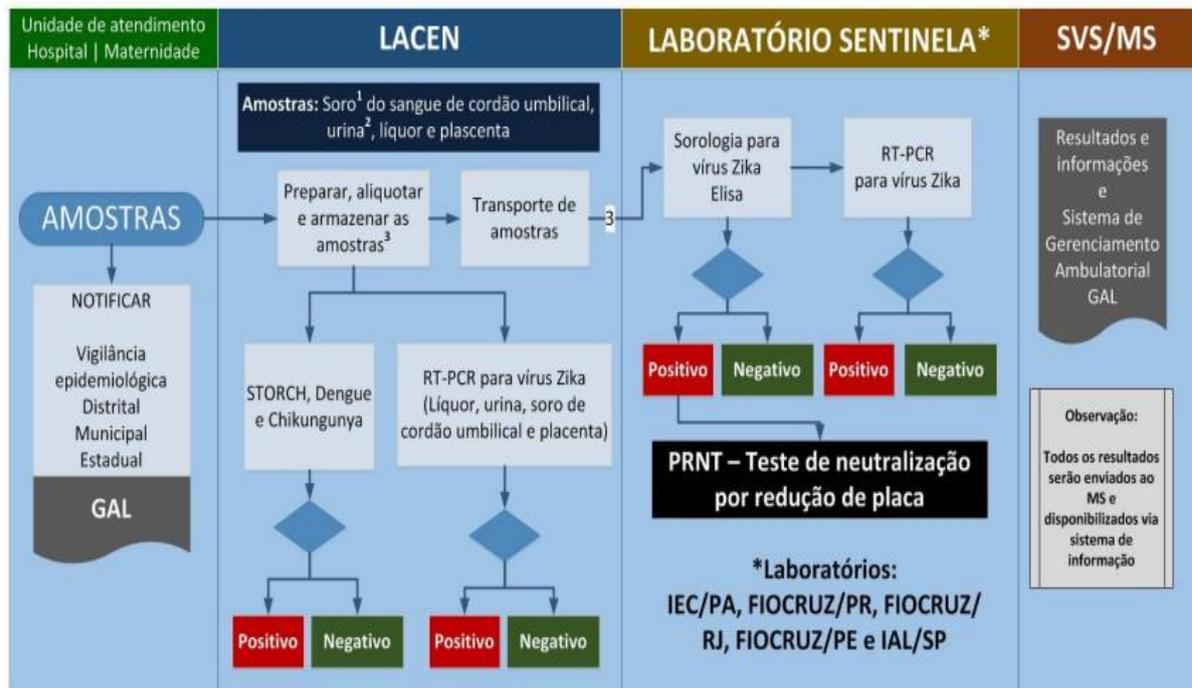
O diagnóstico molecular envolve a detecção do RNA do Zika vírus por RT-PCR. Na fase inicial da doença (primeiros sete dias), os ácidos nucleicos virais podem ser detectados no soro (HAUG; KIENY; MURGUE, 2016). As amostras podem ser de soro de pacientes ou amostra de cordão umbilical de lactentes, urina, swab nasofaríngeo, saliva, líquido amniótico, líquido (LCR) e placenta congelada e fixa (BALM et al., 2012; LEUNG et al., 2015; MUSSO et al., 2015; GOURINAT et al., 2015; CAMPOS et al., 2016; SHINOHARA et al., 2016;

STAPLES et al., 2016; TOGNARELLI et al., 2016). A presença do vírus em diferentes fluidos corporais, como a urina (persiste por 15 a 20 dias, deve ser elucidada para estabelecer um melhor diagnóstico combinado com exata escolha da amostra (MOULIN et al., 2016). Um relatório sugere que a virúria pode ser observada mais de 15 dias após o início dos sintomas (ROZÉ et al., 2016b) (Figura 14).

Recentemente, a fim de estabelecer a relação entre o Zika vírus e a microcefalia, os cientistas começaram a investigar anticorpos contra o Zika vírus no líquido amniótico e também no sangue de neonatos (JACOB, 2016). RT-PCR seguido de sequenciamento de DNA é considerado confirmatório (ZANLUCA et al., 2015). O sequenciamento adicional do gene NS5, NS3 e envelope confirma a relação de várias cepas do Zika vírus (FONSECA et al., 2014; GRARD et al., 2014; TOGNARELLI et al., 2016).

No Brasil, o algoritmo para testagem de amostras depende da capacidade de diagnóstico laboratorial instalada no local de ocorrência. Com a disponibilização do teste rápido antiZika IgM/IgG pelo SUS para rede de assistência, essa deve ser a primeira escolha, para seleção e triagem criteriosa dos casos suspeitos (BRASIL, 2016)

A confirmação do teste rápido deverá ocorrer por sorologia ELISA IgM/IgG antiZika, quando disponível e o desempenho (sensibilidade e especificidade) desses testes superar o que for apresentado pelo teste rápido. Caso a suspeita clínico-epidemiológica ocorra no período agudo da infecção pelo Zika vírus, deve-se coletar amostra para detecção por biologia molecular (qRT-PCR) que é o padrão-ouro para diagnóstico laboratorial do Zika vírus (BRASIL, 2016)



1. As amostras de soro devem ser submetidas às análises para Dengue, Chikungunya e STORCH (Sífilis, Toxoplasmose, Rubéola, Citomegalovírus e Herpes)
2. As amostras de urina serão coletadas apenas em gestantes para realização de diagnóstico por RT-PCR
3. Lacen que não realizar RT-PCR para vírus Zika, encaminhar ao Laboratório Sentinela de sua área.

Figura 14: Fluxograma de investigação laboratorial de amostras suspeitas de microcefalia relacionadas à infecção pelo ZIKV.

Fonte: (BRASIL, 2016).

2.2 Outras arboviroses

A apresentação clínica da febre Zika não é específica e pode mimetizar doenças responsáveis por febre, erupção cutânea e artralgia, especialmente dengue e chikungunya (HADDOW et al., 2012; KEIGHLEY et al, 2015). Casos esporádicos de febre Zika em áreas onde dengue e/ou chikungunya são endêmicos podem ser difíceis de diagnosticar clinicamente, destacando a importância da investigação laboratorial de pacientes que apresentam “síndromes do tipo dengue” e testes negativos para dengue. Algoritmos comparando sintomas clínicos de febre Zika, dengue e chikungunya têm sido propostos, mas devem ser usados com cautela, especialmente quando vários arbovírus são cocirculantes (IOOS et al., 2014) (Quadro 2).

Sinais/Sintomas	Dengue	Zika	Chikungunya
Febre (duração)	Acima de 38°C (4 a 7 dias)	Sem febre ou subfebril ≤ 38°C (1-2 dias subfebril)	Febre alta > 38°C (2-3 dias)
Manchas na pele (Frequência)	Surge a partir do quarto dia 30-50% dos casos	Surge no primeiro ou segundo dia 90-100% dos casos	Surge 2-5 dia 50% dos casos
Dor nos músculos (Frequência)	+++/>+++	++/>+++	+/>+++
Dor na articulação (frequência)	+/>+++	++/>+++	+++/>+++
Intensidade da dor articular	Leve	Leve/Moderada	Moderada/Intensa
Edema da articulação	Raro	Frequente e leve intensidade	Frequente e de moderada a intenso
Conjuntivite	Raro	50-90% dos casos	30%
Cefaleia (Frequência e intensidade)	+++	++	++
Prurido	Leve	Moderada/Intensa	Leve
Hipertrofia ganglionar (frequência)	Leve	Intensa	Moderada
Discrasia hemorrágica (frequência)	Moderada	ausente	Leve
Acometimento Neurológico	Raro	Mais frequente que Dengue e Chikungunya	Raro (predominante em Neonatos)

Quadro 2: Características clínicas de dengue, doença aguda pelo Zika vírus e Febre Chikungunya

2.3 Placenta

Os mecanismos como o Zika Virus ultrapassa o esquema de defesa estabelecido pela placenta ainda não estão bem estabelecidos.

A placenta tem maneiras de bloquear infecções congênicas de forma eficaz. Além da barreira física, o sinciciotrofoblasto é resistente a ação do Zika Virus por meio da liberação de interferon gama do tipo III (IFN λ), que atua de forma autócrina para proteger a placenta em períodos de infecção intra útero tardia (BAYER et al., 2016).

MicroRNAs pertencentes a um cluster expressos somente na placenta podem mediar a resposta ao enfraquece a replicação de alguns vírus, como o citomegalovírus (CMV) e o vírus herpes simples (HSV), diferentemente do que é descrito para os microRNAs em geral, que contribuem com persistência da infecção. Alguns autores supõem diversas vias de infecção fetal. Uma das hipóteses é que o vírus poderia infectar trofoblastos extravilicos que haviam se diferenciado em citotrofoblasto invasivo, penetrando na decídua basal. Este empilhamento dos citotrofoblastos poderia oferecer um contato físico do sangue materno com a circulação fetal (TABATA et al., 2016).

Outra possibilidade é através do sinciciotrofoblasto, por transcitose mediada por anticorpos ou um vazamento promovido por estas células através do sistema imune materno. Além disso, a via de infecção ascendente na cavidade vaginal também é uma hipótese a se considerar. A transmissão sexual do Zika Vírus foi primeiramente sugerida por Foy et al (2011) e o RNA foi detectado no sêmen em diversas pesquisas. A proximidade do sêmen com a placenta pode facilitar o acesso do vírus ao feto (BROOKS et al., 2016).

Durante a gravidez, a transferência do Zika Virus para a placenta provavelmente é secundária à infecção viral da decídua materna. Estudos mostraram que as células deciduais maternas são permissivas à infecção pelo Zika Virus e continuam sendo permissivas durante toda a gestação. Partículas virais liberadas da decídua poderiam então infectar o sincício viloso via transferência hematogênica ou infectar os trofoblastos extravilicos via disseminação célula a célula (ROBINSON et al., 2018).

Experimentos *in vitro* mostraram que o Zika Virus pode infectar citotrofoblastos e trofoblastos extravasculares no primeiro trimestre e; em comparação, os sincitiotrofoblastos permanecem relativamente resistente à infecção viral durante toda a gestação. Isto sugere que a transmissão transplacentária ocorre predominantemente através de células à disseminação celular via trofoblastos extravilicos (Figura 19) (ROBINSON et al., 2018).

Evidentemente, a transferência transplacentária do Zika Virus é mais provável de ocorrer no ambiente inflamatório e imuno-tolerante, característico da placenta no primeiro trimestre, já que experimentos *in vitro* mostraram que as células trofoblásticas tornam-se progressivamente mais resistentes a infecção pelo Zika Virus durante a gestação, em parte pela secreção de IFNs, embora a infecção possa ocorrer também neste ponto. Além disso, dados epidemiológicos indicam que a infecção materna com o Zika Virus durante o primeiro trimestre da gravidez está associado a maior risco de efeito adverso na gravidez (Figura 15) (ROBINSON et al., 2018).

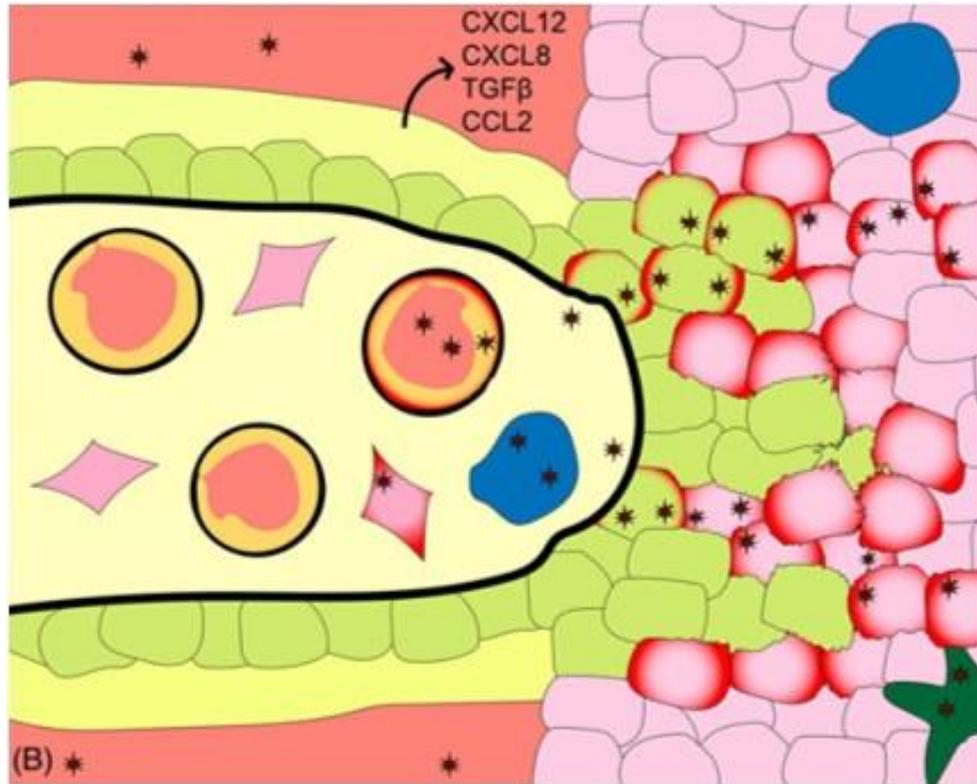


Figura 15: Quando o Zika Virus transita pela barreira placentária, o ambiente pró-inflamatório e imunológico da placenta no primeiro trimestre pode permitir a transmissão transplacentária sem ruptura substancial da barreira placentária. Nesses casos, defeitos congênitos podem ser limitados ao sistema nervoso central.

Fonte: Adaptado de (ROBISON et al., 2018).

Embora muitos estudos relatem um risco diminuído de transmissão transplacentária nos últimos trimestres, casos de síndrome congênita do zika foram relatados durante o segundo e terceiro trimestre. Um estudo de caso controle relatou que 55% das mulheres que tiveram uma infecção no primeiro trimestre tiveram algum tipo de resultado adverso na gravidez, enquanto que 51,4% das mulheres que tiveram uma infecção no segundo trimestre também tiveram um resultado adverso na gravidez (mal formação do sistema nervoso central, restrição de crescimento e / ou perda fetal). Como os casos de transmissão transplacentária podem ocorrer no final da gestação, especialmente se tiver persistência da secreção de Interferon e transcitose mediada por anticorpos, pode ser um possível mecanismo pelo qual o Zika Virus é capaz de obter acesso aos compartimentos fetais sem danificar a barreira placentária (Figura 20) (WELSBLUM et al., 2017; ROBINSON et al., 2018)

Além do que, foi observado que o Zika Virus é capaz de inibir a sinalização IFN em parte através da fosforilação do transdutor de sinal e ativador de transcrição (STAT) Ao interferir com a sinalização IFN, o Zika Virus pode suprimir o comportamento anti-inflamatório observado nas células imunes presente na interface materno-fetal, necessária para

permitir uma ambiente de tolerância imunológica e o desenvolvimento fetal. Após liberação desse sistema, essas células podem ser acionadas com o intuito de montar uma resposta imune contra a microbiota materna e uma subsequente inflamação pode ser suficiente para causar danos significativos a barreira e permitir a entrada viral no compartimento fetal (Figura 16) (ROBINSON et al., 2018).

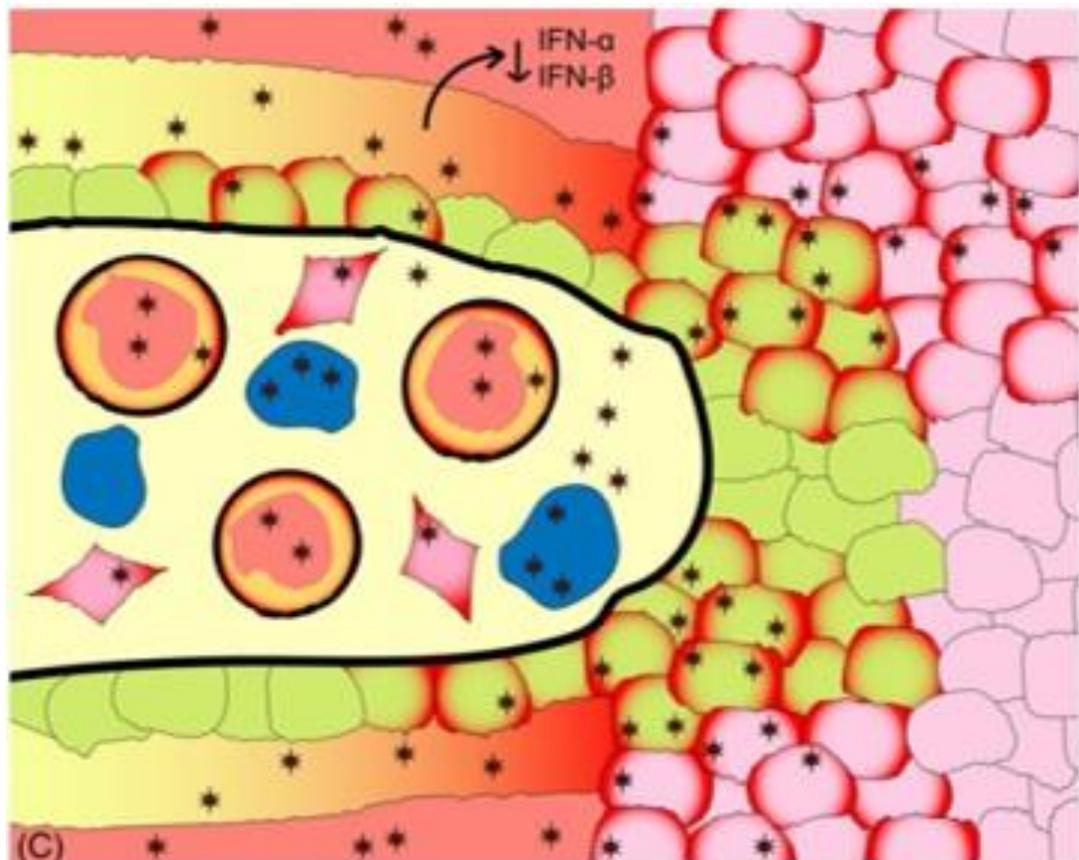


Figura 16: O Zika Virus inibe a secreção trofoblástica de interferon tipo I através do fosforilação de STAT2. Na ausência de secreção de interferon constitutivo do tipo I, inflamação substancial se desenvolve como resposta à infecção pelo Zika Virus. Nestes casos, a ruptura da barreira placentária muitas vezes leva à perda fetal. Os defeitos congênitos são sistêmicos e secundários à hipóxia fetal.

Fonte: Adaptado de (ROBISON et al., 2018)

Além disso, alguns autores descreveram uma suposição de como o vírus pode infectar e induzir o dano neurológico no feto, denominada hipótese de transferência direta. Antes do estabelecimento do sistema de circulação uteroplacentária, que ocorre em torno da 10 à 12 semana de gestação, o Zika vírus poderia ter acesso à placenta através das glândulas uterinas, ultrapassar os tampões trofoblásticos ou por meio da difusão do vírus pré-existente para o líquido amniótico. Então, o vírus teria que passar por camadas de células e fluidos para chegar ao feto. Outra possibilidade é promover modificações na interface placentária, levando a uma entrada facilitada (ADIBI et al., 2016, COYNE, LAZEAR, 2016).

Outra pesquisa que avaliou placenta mostrou que os fibroblastos e células Hofbauer (HBCs) são permeáveis ao Zika Virus *in vitro* e *in vivo*, respectivamente (JURADO et al., 2016). As HBCs têm habilidade migratória no estroma e podem mover-se entre a superfície do epitélio trofoblástico e vasos fetais. Portanto, uma hipótese poderia ser que o Zika Virus no sangue materno poderia estar usando essa característica para alcançar os vasos do feto dentro do estroma viloso quando os HBCs se ligam na superfície do epitélio trofoblástico (BAURAKIADES et al., 2011).

Alguns flavivírus, como o vírus da dengue, entram nas células através de uma família de receptores de tirosina quinase chamada família TAM. Este grupo inclui particularmente uma proteína chamada AXL. (TABATA et al., 2016). Pesquisas mostram que esta molécula é responsável pelo acesso do Zika Virus ao interior da célula, tendo em vista a expressão dessa proteína no trofoblasto (CHECK HAYDEN, 2016). Como postulado por alguns autores, as coinfeções poderiam facilitar a permissividade das células trofoblásticas ao Zika Virus, como a expressão aumentada de receptores TAM pelo vírus herpes simples tipo 2 (HSV-2) (ALDO et al., 2016). A ligação com proteínas de membrana imunoglobina e mucina (TIM1) também desempenha um papel importante na infecção pelo Zika Virus (TABATA et al., 2016).

Além disso, modelos animais foram desenvolvidos para testar não apenas a entrada do vírus, mas também as manifestações anatomopatológicas na placenta. Em um estudo realizado por Miner et al., (2016b), camundongos fêmeas homocigotas para o gene IFNAR-1 (receptor interferon alfa e beta subunidade 1) foram cruzados com machos selvagens, para criar fetos heterocigotos. Posteriormente foi descrito que a inoculação do vírus na fase inicial da gestação, pode acarretar morte, dano cerebral e presença do Zika Virus no interior das células trofoblásticas.

Em relação aos achados anatomopatológicos placentários humanos, alguns autores descreveram positividade para o Zika Virus no primeiro trimestre, com amostras evidenciando placentite crônica (como a TORCH - que inclui toxoplasmose, infecções por rubéola, CMV e HSV) com inflamação vilosa crônica (vilite predominante histiocitária), edema e lesão de epitélio trofoblástico (MARTINES et al., 2016).

Os achados da placenta exibiram imaturidade das vilosidades ou maturação tardia das vilosidades (hiperplasia vilosa distal), persistência da camada citotrofoblástica e espessamento da membrana basal trofoblástica, hipervascularização vilosa e fibrose estromal. Outro achado interessante foi vilosidades edematosas com número reduzido de nós sinciciais, células linfoplasmocitárias ligeiramente superiores ao normal, esclerose das vilosidades, foco de

calcificação, e aumento moderado nos níveis intraviloso e pervaloso de depósitos fibrinoides. Alterações vasculares nas vilosidades da haste como hiperplasia da camada muscular associada a fibrose estromal também foi detectado (MARTINES et al., 2016).

2.4 Microcefalia

As anomalias identificadas no nascimento compõem um grupo diversificado de distúrbios de origem pré-natal que podem ser causados por defeitos de um único gene, transtornos cromossômicos, herança multifatorial, teratógenos ambientais e deficiências de micronutrientes, afetando a forma, a estrutura e/ou função de órgãos, células ou componentes celulares. Podem surgir em qualquer fase do desenvolvimento fetal, independentemente de terem sido ou não detectados durante a gestação (WRIGHT, 1966; WHO, 2014; GILI et al., 2016; BRASIL, 2017)

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. No entanto, algumas dessas crianças terão o desenvolvimento neurológico normal. Embora haja consenso mundial em definir como microcefalia a circunferência cefálica menor que dois desvios-padrão abaixo da média para a idade e sexo do indivíduo, de acordo com padrões de referência, o defeito básico pode ocorrer porque o cérebro da criança não se desenvolveu adequadamente durante a gestação ou parou de crescer após o parto, o que resulta na menor circunferência cefálica. A microcefalia pode ser uma condição isolada ou ocorrer em combinação com outros defeitos congênitos (LOPEZ-CAMELO; ORIOLI; CASTILLA, 2015; BUTLER, 2016; GILI et al., 2016).

No Brasil, desde o início da Emergência de Saúde Pública de Importância Nacional (Espin), declarada em 11 de novembro de 2015, o Ministério da Saúde adotou definições operacionais com base na medida do perímetro cefálico (PC), visando identificar o maior número de RNs para investigação (BRASIL, 2016).

Inicialmente, em 17 de novembro de 2015, foi adotada a medida mais sensível de 33 cm para ambos os sexos, considerando como referência as crianças a termo (37 ou mais semanas de gestação). Posteriormente, reduziu-se a medida de referência do perímetro cefálico para 32 cm para crianças a termo de ambos os sexos, após surgirem novas evidências dos estudos de campo. Finalmente, em março de 2016, uma definição padrão internacional para microcefalia foi adotada, alinhada às orientações da OMS, sendo adotadas para crianças a termo as medidas de 31,5 cm para meninas e 31,9 cm para meninos.¹³ 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. (INTERGROWTH, 2016; WHO, 2016; BRASIL, 2017)

Entre as semanas epidemiológicas (SEs) 45/2015 e 40/2018 (08/11/2015 a 06/10/2018), o Ministério da Saúde (MS) foi notificado sobre 16.735 casos suspeitos de alterações no crescimento e desenvolvimento possivelmente relacionadas à infecção pelo Zika vírus e outras etiologias infecciosas, dos quais 2.101 (12,6%) foram excluídos, após criteriosa investigação, por não atenderem às definições de caso vigentes. Do total de casos notificados, 2.769 (16,5%) permaneciam em investigação na SE 40/2018. Quanto aos casos com investigação concluída, 7.617 (45,5%) foram descartados, 3.267 (19,5%) foram confirmados, 569 (3,4%) foram classificados como prováveis para relação com infecção congênita durante a gestação e 412 (2,5%) como inconclusivos. Entre os casos de RN e crianças confirmados, exceto os óbitos, 1.702 (60,5%) estavam recebendo cuidados em puericultura, 983 (35,0%) em estimulação precoce e 1.773 (63,1%) no serviço de atenção especializada (Figura 17). A maioria dos casos notificados concentra-se na região Nordeste do país (58,9%) (BRASIL, 2018)

Foram notificados 4.121 casos em 2015, 8.609 em 2016, 2.651 em 2017 e 1.354 em 2018. Dos casos notificados no ano de 2015, 4,9% (203 casos) permaneciam em investigação na SE 40/2018. Esse percentual foi de 10,9%, 30,3% e 60,8% para os anos de 2016, 2017 e 2018, respectivamente. Entre as SEs 45/2015 e 40/2018, observou-se que o maior número de notificações é de recém-nascidos e crianças (93,0% do total) (Figura 18) (BRASIL, 2018).

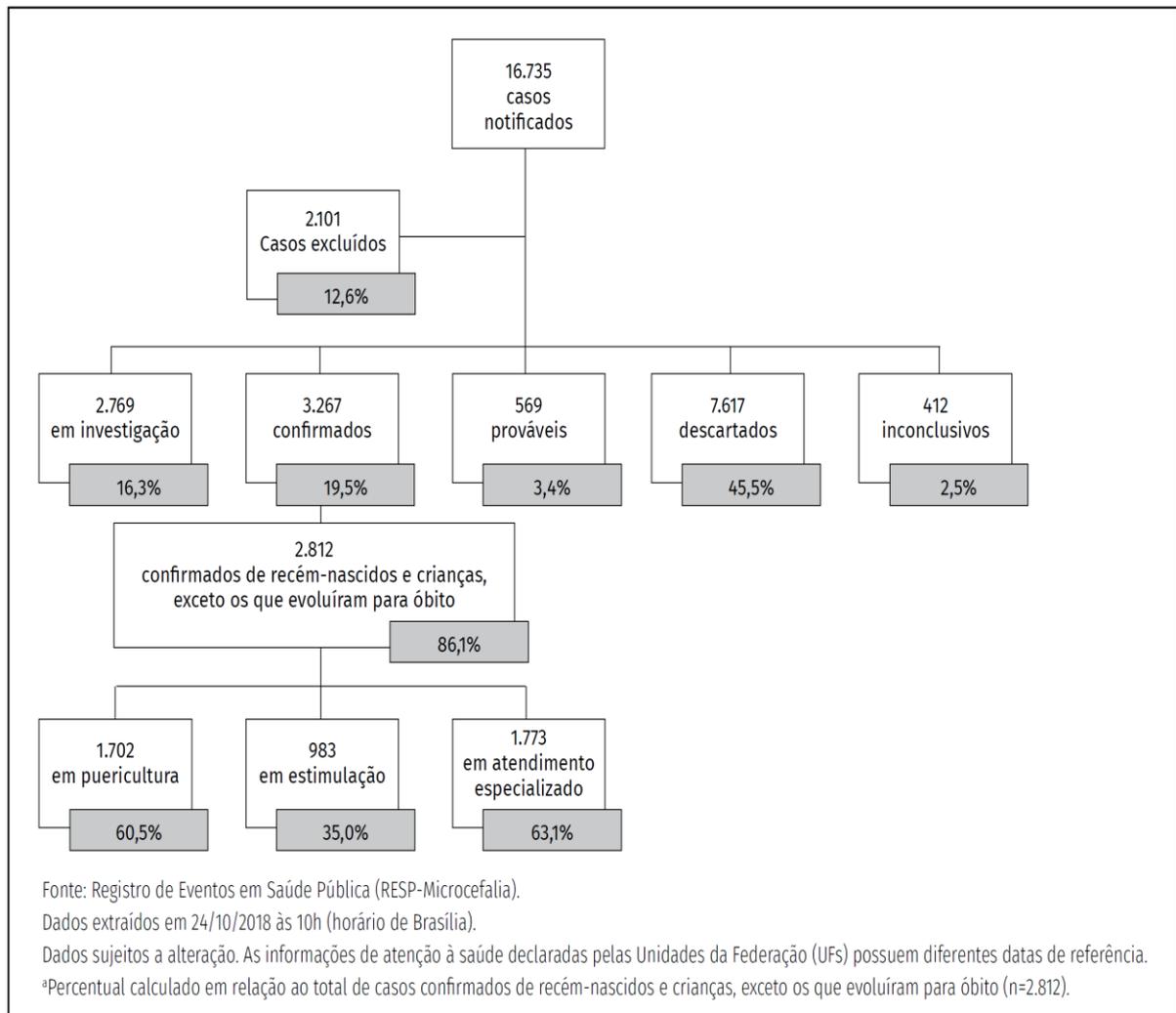


Figura 17: Distribuição do total de notificações de casos suspeitos com alterações no crescimento e desenvolvimento possivelmente relacionadas à infecção pelo Zika vírus e outras etiologias infecciosas, segundo classificação final e atenção à saúde, da Semana Epidemiológica 45/2015 até a Semana Epidemiológica 40/2018, Brasil, 2015-2018.

Fonte: (BRASIL, 2018).

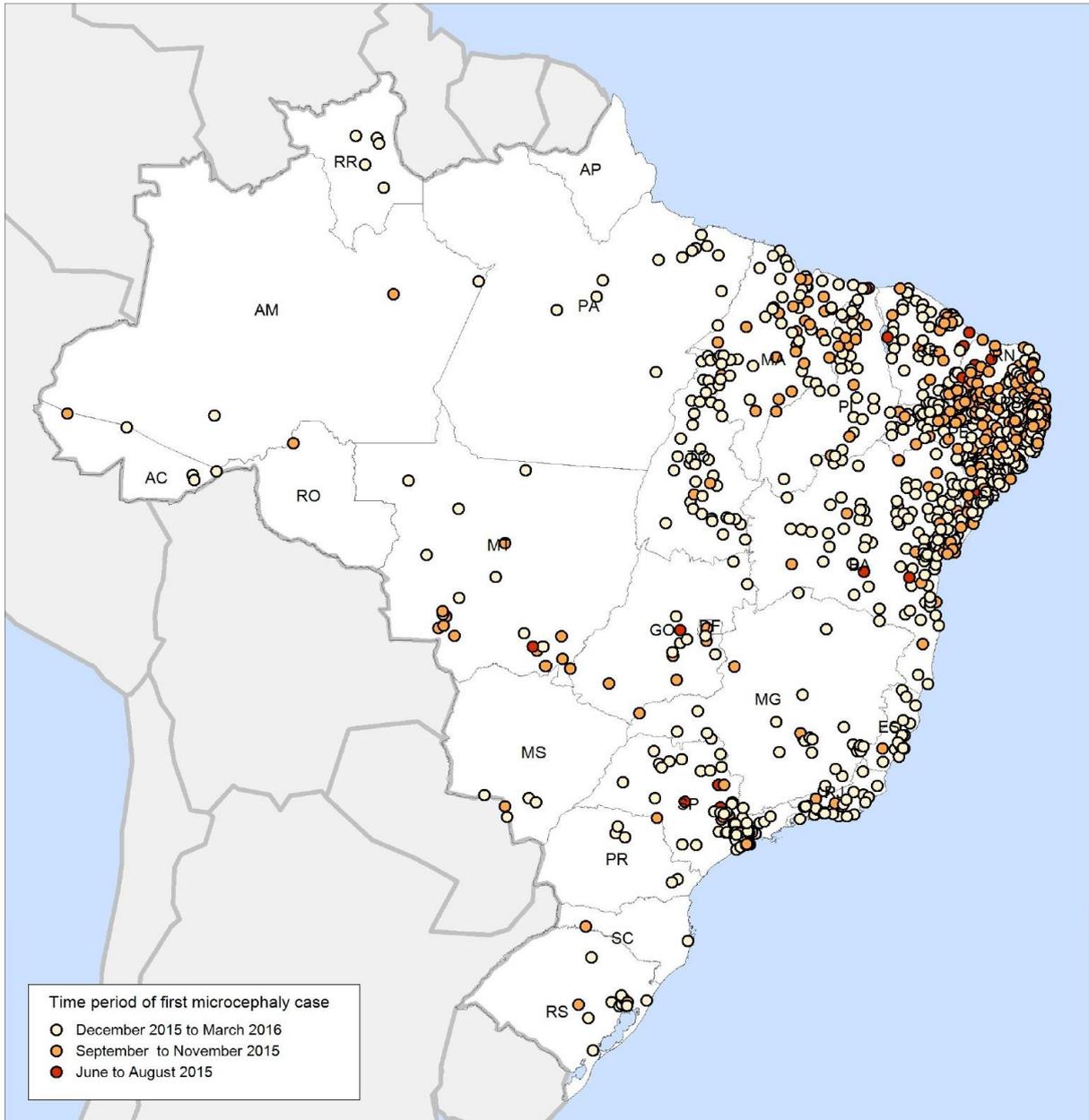


Figura 18: Difusão espacial de casos de microcefalia no Brasil entre junho de 2015 e março de 2016. Dados obtidos a partir do RESP, disponibilizados pelo Ministério da Saúde.
Fonte: (LOWE et al., 2018).

Em relação à notificação de óbitos relacionados à infecção pelo Zika vírus, ao todo, foram notificados 1.124 óbitos suspeitos, dos quais 158 (14,1%) permaneciam em investigação, 422 (37,5%) foram descartados, 345 (30,7%) foram confirmados, 61 (5,4%) foram classificados como prováveis para relação com infecção congênita durante a gestação e 66 (5,9%) como inconclusivos. Após criteriosa investigação, 72 óbitos notificados (6,4% do total) foram excluídos por não atenderem às definições de caso vigentes (BRASIL, 2018).

A maioria dos óbitos notificados concentra-se na região Nordeste do país (53,6%), seguida das regiões Sudeste (24,9%) e Centro-Oeste (9,3%) (BRASIL, 2018).

No Maranhão, foram notificados 500 casos. 7 estão em investigação, 187 foram confirmados, 44 foram classificados como prováveis, 193 foram descartados, 7 foram considerados inconclusivos e 62 foram excluídos, entre as SE 45/2015 e 40/2018 (BRASIL, 2018).

Em relação aos óbitos fetais relacionados à infecção pelo Zika vírus e outras etiologias infecciosas, 50 casos foram notificados, sendo confirmados apenas 6 entre as SE 45/2015 e 40/2018 (BRASIL, 2018).

A evidência de uma ligação causal entre o ZIKV e a microcefalia é agora muito forte e amplamente aceita (Tabela 2) (BOUEF et al, 2016).

Tabela 2: Evidências da relação causal entre ZIKV e microcefalia

Evidências	Características
Clínicas e epidemiológicas	<p>Aumento nos casos de microcefalia coincide com o aumento da transmissão do ZIKV (com um atraso de 6 meses)</p> <p>A modelagem de dados mostra que o principal período em risco é o primeiro trimestre da gravidez</p> <p>Dos casos de microcefalia investigados no Brasil, 32% estavam ligados ao ZIKV</p> <p>Estudo de caso: O aborto espontâneo de um bebê com microcefalia foi positivo para ZIKV (inclusive em seu cérebro), mas negativo para outras causas infecciosas conhecidas de microcefalia</p>
Estudos laboratoriais	<p>O ZIKV pode infectar células progenitoras neurais humanas e atenuar crescimento <i>in vitro</i></p> <p>Os macrófagos e trofoblastos placentários humanos primários são permissivos à infecção por ZIKV <i>in vitro</i></p>
Modelo animal	Modelo animal em ratos evidencia sinais de microcefalia

Fonte: Adaptado de (BOUEF et al., 2016)

Apesar da falta de dados de estudos longitudinais prospectivos adequadamente desenvolvidos, a ligação entre ZIKV e microcefalia é apoiada pela aplicação dos Critérios de Prova de Teratogenicidade em Humanos (RASMUSSEN et al., 2016) de Shepard e os critérios de causalidade de Bradford-Hill (FRANK; FABER; STARK, 2016), especialmente para os aspectos de temporalidade, plausibilidade biológica e analogia.

Além disso, o ZIKV pode infectar células progenitoras neurais humanas e atenuar seu crescimento (TANG et al., 2016). Essas descobertas foram replicadas num modelo animal em que o ZIKV visa células progenitoras neurais, causando sua parada no ciclo celular, apoptose

e inibição da diferenciação, resultando em atrofia cortical e microcefalia (LI et al. 2016). Este e outros modelos animais forneceram recentemente provas de que a infecção por ZIKV pode levar à microcefalia (DA SILVA; GAO, 2016), indicando que umnexo causal entre a gravidez precoce e infecção por ZIKV e microcefalia é plausível em humanos

Existe um conjunto de alterações funcionais e estruturais no feto relacionadas à exposição do ZIKV durante a gravidez e o grau de severidade depende do momento em que ocorreu a infecção. Dentre as alterações estruturais mais observadas estão anomalias cerebrais (microcefalia, ventriculomegalia, assimetria cerebral e calcificações intracranianas), contraturas congênitas (como a artrogripose) e alterações oculares (microftalmia, pigmentação retiniana, alterações no nervo óptico e atrofia macular). Entre as anormalidades neurológicas observadas destacam-se a hipertonia global grave com hiper-reflexia, irritabilidade, hiperexcitabilidade, choro excessivo, distúrbios de deglutição, além de crises convulsivas (BRASIL, 2016).

No caso de o exame físico e os exames de imagem não evidenciarem nenhuma anormalidade craniana em bebês nascidos de mães infectadas, eles precisam ser acompanhados regularmente durante o primeiro ano de vida por ultrassonografia craniana periódica, exames de rotina e testes auditivos para diagnosticar casos subclínicos (STAPLES et al., 2016).

2.5 Síndrome congênita associada ao Zika vírus

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 Zika vírus durante a gestação (NHAN; CAO-LORMEAU; MUSSO, 2014; CALVET et al., 2016; FALUYI et al., 2016; FLORES; BURGESS; RAJNIK, 2016; MO; ALFEREZ SALADA; TAMBYAH, 2016; WIWANITKIT e WIWANITKIT, 2016).

Os achados de neuroimagem incluem calcificações corticais, subcorticais, malformações corticais, padrão simplificado de giro, alterações migratórias, hipoplasia do tronco cerebral, cerebelo e ventriculomegalia. Embora a microcefalia congênita seja o achado inicial para o reconhecimento da síndrome, algumas dessas manifestações neurológicas ocorreram sem a microcefalia associada e só se tornaram evidentes após o nascimento (CALVET et al., 2016; FALUYI et al., 2016; FLORES; BURGESS; RAJNIK, 2016; MO;

ALFEREZ SALADA; TAMBYAH, 2016; NHAN; CAO-LORMEAU; MUSSO, 2014; WIWANITKIT; WIWANITKIT, 2016). Esse achado foi percebido no início das epidemias em decorrência da adoção da definição de caso operacional de 33 cm pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2015) (Figura 19).

As anormalidades relatadas de forma consistente nestes lactentes, incluindo achados anormais de neuroimagem, sugerem que uma síndrome congênita, semelhante à da rubéola congênita ou infecção por citomegalovírus (CMV), é atribuível à infecção pelo Zika vírus durante a gestação. Com base numa revisão de estudos observacionais, de coorte e de caso-controle, há atualmente um forte consenso científico de que o Zika vírus é uma causa de microcefalia e outras complicações neurológicas que, em conjunto, constituem a Síndrome Congênita do Zika vírus (SCZ) (MARTINES et al., 2016; ABBASI, 2016; MIRANDA-FILHO et al., 2016; RUSSELL et al., 2016, OPAS, 2016).

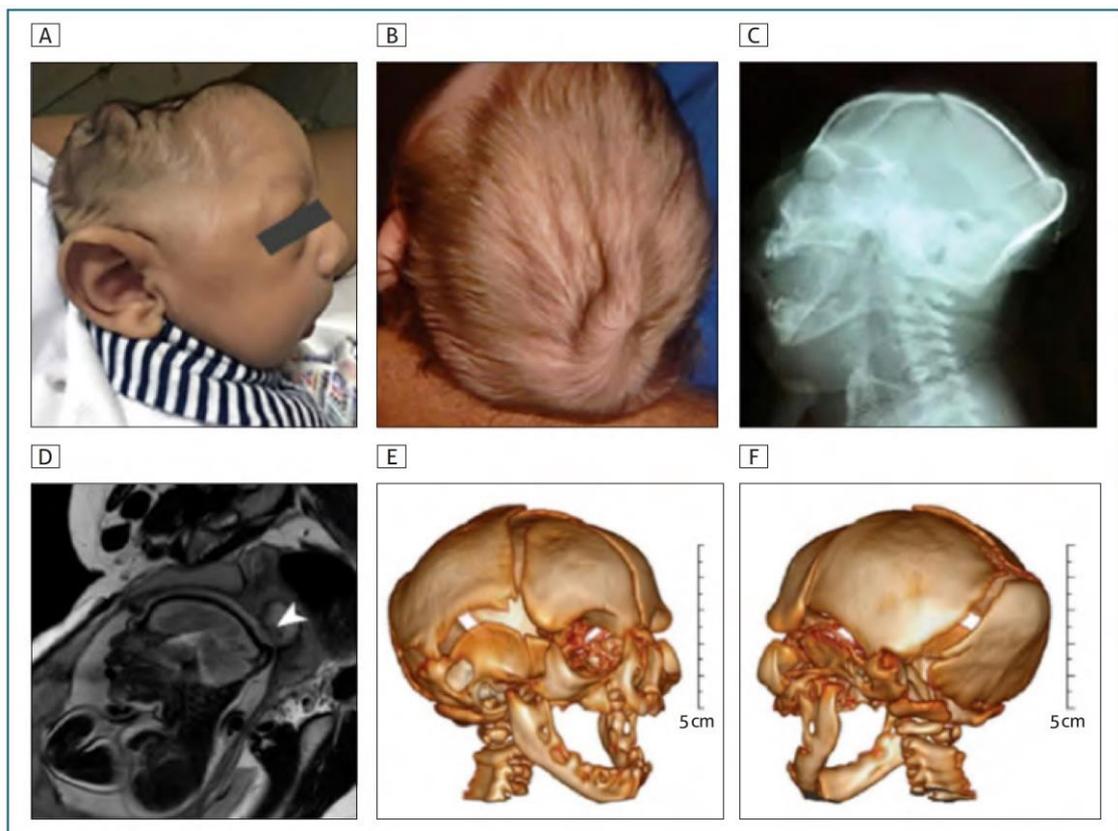


Figura 19: Infecção congênita pelo Zika vírus. (A) Vista lateral de um RN com infecção congênita pelo vírus de Zika. Observe a grave diminuição da abóbada craniana, irregularidade do crânio e rugas do couro cabeludo. (B) Excesso de pele formando dobra ou rugosidade no couro cabelo de um RN de 3 meses de idade com presumida infecção congênita pelo Zika vírus. (C) Radiografia lateral do crânio de recém-nascido mostrando colapso parcial dos ossos cranianos com occipital proeminente. (D) Imagem de ressonância magnética fetal (RMF) mostrando o mesmo fenótipo com 29 semanas de gestação. A ponta de flecha branca indica área occipital. (E) e (F) Reconstrução tridimensional do crânio em uma criança de 3 meses mostrando deslocamento descendente dos ossos frontal e parietal, enquanto o osso occipital parece estável.

Fonte: (MOORE et al., 2016).

Na Figura 20 a tomografia computadorizada de um RN e a ressonância magnética de outra criança com exposição pré-natal ao Zika vírus (MOORE et al., 2016)

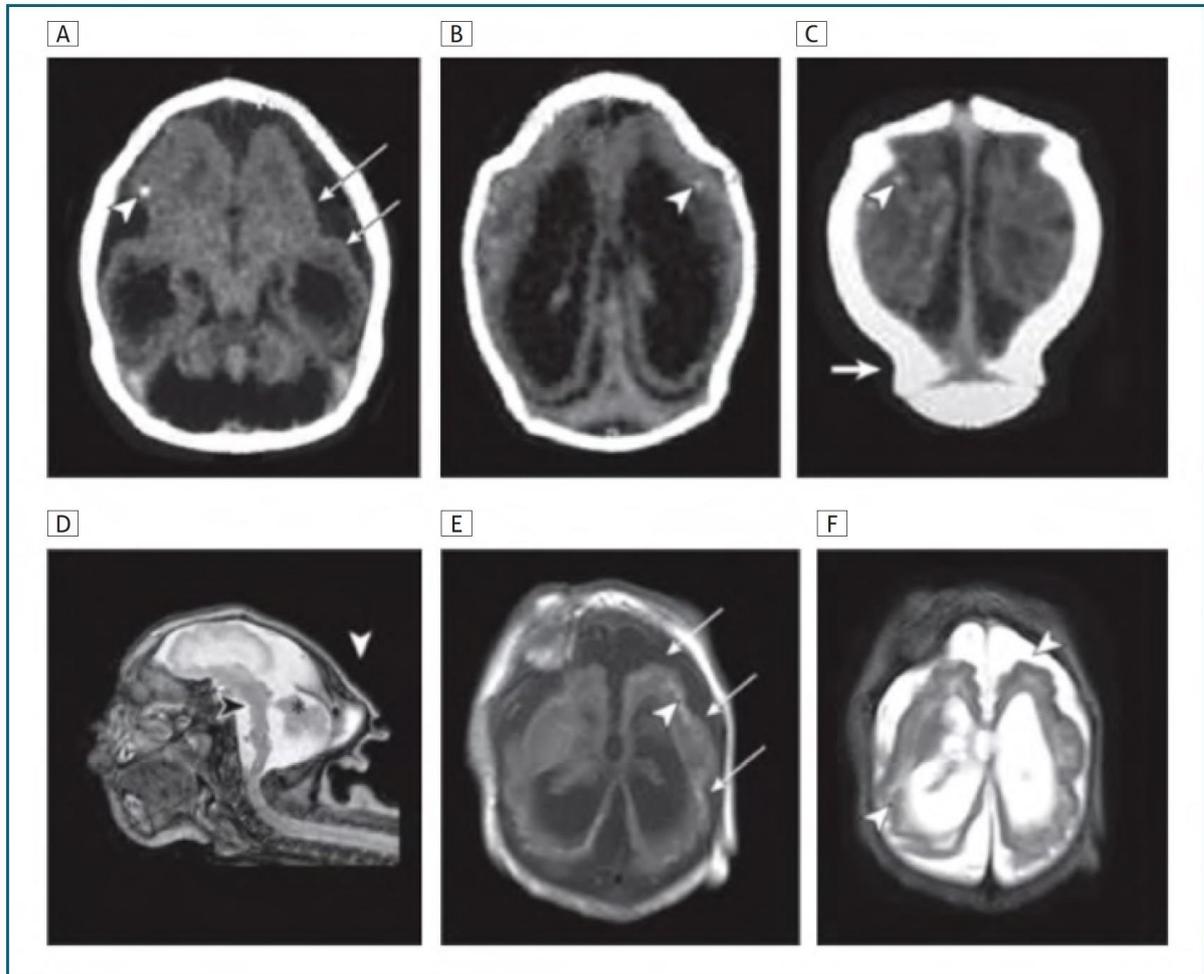


Figura 20: Alterações em exames de imagem (tomografia e ressonância) do sistema nervoso central em infecção congênita pelo ZIKV. Calcificações pontuais dispersas (observe a ponta das flechas brancas nas imagens com as letras A, B, C e E), a testa muito baixa e pequena abóbada craniana (imagem D). Por aumento do espaço extra-axial e pela ventriculomegalia (imagens A, B, C, D, E e F), observa-se desenvolvimento giroscópico pobre com poucos sulcos (flechas da imagens A e E), desenvolvimento giral pobre com córtex irregular mais consistente com polimicrogiria (pontas na imagem F), achatado e cerebelo pequeno (pontas e asterisco na imagem D). A “prateleira” occipital causada pelo colapso do crânio é observada em ambos os bebês (imagem C e D)

Fonte: Adaptado de (MOORE et al., 2016).

Na Figura 21 são apresentadas imagens de fundo de olho com grande angular (RetCam) de um menino com infecção congênita pelo Zika vírus e na figura 22 alterações anatômicas na infecção congênita pelo Zika vírus.



Figura 21: Alterações no fundo de olho na infecção congênita pelo ZIKV.
Fonte: (MOORE et al., 2016).



Figura 22: Alterações antômicas na infecção congênita pelo Zika vírus. A) Contratura na flexão do joelho. (B) Hiperextensão do joelho (luxação do joelho). (C) Pé torto congênito. (D) Deformidades em 2º, 3º e 4º dedos. (E) Contraturas articulares nas pernas e nos braços, sem envolvimento do tronco.
Fonte: (MOORE et al., 2016).

2.6 Outras infecções congênicas (TORCH)

Outras infecções congênicas podem ser responsáveis por danos ao RN. Essas infecções são transmitidas pela via hematogênica em qualquer período gestacional e as principais são toxoplasmose, rubéola, citomegalovírus e herpes vírus, conhecidas pela sigla TORCH (Quadro 3) (BRASIL, 2017)

Em geral, as infecções adquiridas no 1º trimestre de gestação apresentam maiores repercussões para o feto, sendo causa de anomalias fetais, abortamento, retardo de crescimento intrauterino, baixo peso ao nascer. Já as infecções adquiridas no 3º trimestre apresentam maior potencial e transmissão devido às características de vascularização placentária (BRASIL, 2017)

A patogênese da lesão no sistema nervoso central causada pelas infecções virais congênicas ainda é desconhecida e complexa. Múltiplos mecanismos isolados e em conjunto têm sido propostos, tais como: ação de produtos de genes virais agindo como agentes “teratogênicos”, interferindo na morfogênese e na diferenciação celular normal atuando e modificando o ciclo celular, os mecanismos de apoptose; indução da fragmentação cromossômica em sítios específicos; a resposta inflamatória do hospedeiro potencializando a injúria causada diretamente pelo vírus no SNC; resposta imune materna não eficaz em controlar a infecção; o impacto direto da infecção nas funções placentárias e o tropismo vascular característico dos vírus causando lesões vasculares difusas (CHEERAN; LOKENSGARD; SCHLEISS, 2009; SCHLEISS, 2011).

Achados	Possíveis infecções congênicas
Atraso no crescimento uterino	Rubéola, Citomegalovírus (CMV) e Toxoplasmose
Anemia com hidropsia fetal	Parvovírus B19, Sífilis, CMV, Toxoplasmose
Lesões nos ossos	Sífilis, Rubéola
Contratura congênita (artrogripose)	Rubéola, Varicela, Coxsackie B, vírus Zika ²⁴
Alterações na morfologia do crânio	CMV, vírus Zika ²⁴
Calcificações cerebrais	Toxoplasmose, CMV e Herpes simplex (HSV) (usualmente periventriculares), Parvovírus B19, Rubéola, HIV, Vírus da Coriomeningite Linfocitária (CML); vírus Zika ²⁴ (cortical e subcortical, sendo este último o achado único entre as infecções congênicas)
Sequela neurológica	Vírus Zika (sintomas piramidais e extrapiramidais precoces, são incomuns em outras infecções congênicas), CMV e outras infecções congênicas
Doença cardíaca congênita	Rubéola
Perda auditiva (comumente progressiva)	Rubéola, CMV, Toxoplasmose, Sífilis
Hepatoesplenomegalia	CMV, Rubéola, Toxoplasmose, HSV, Sífilis, Enterovírus, Parvovírus B19
Hidrocefalia	Toxoplasmose, CMV, Sífilis, possivelmente enterovírus
Hidropsia, ascite, efusão pleural	Parvovírus B19, CMV, Toxoplasmose, Sífilis
Paralisia de membros com atrofia e cicatrizes	Varicela
Exantema maculopapular	Sífilis, Sarampo, Rubéola, Enterovírus, vírus Zika ²⁴

continua

Quadro 3: Principais achados em crianças com infecções congênicas de diferentes etiologias.

Fonte: (BRASIL, 2017).

conclusão

Achados	Possíveis infecções congênicas
Microcefalia	CMV, Toxoplasmose, Rubéola, Varicela, HSV, Vírus Zika ²⁴
Miocardite/ encefalomiocardite	ECHOvirus, Coxsackie B, outros enterovírus
Lesões oculares	CMV, Toxoplasmose, Rubéola, VHS, Sífilis, Enterovírus, Parvovírus B19, vírus Zika ²⁴ (Atrofia coriorretiniana e marcação pigmentar focal, ambas afetando a mácula, sendo achado único comparado com outras infecções congênicas)
Insuficiência hepática progressiva e anormalidades da coagulação	ECHOvirus, Coxsackie B, outros enterovírus, HSV, Toxoplasmose
Pseudoparalisia, dor	Sífilis
Púrpura (normalmente aparece nos primeiros dias)	CMV, Toxoplasmose, Sífilis, Rubéola, HSV, Enterovírus, Parvovírus B19
Vesículas	VHS, Sífilis, Varicela, Enterovírus

Quadro 3: Principais achados em crianças com infecções congênicas de diferentes etiologias.

Fonte: (BRASIL, 2017).

Sempre que houver recomendação clínica e epidemiológica da continuidade da investigação, deve-se realizar o diagnóstico diferencial da infecção TORCH+ZIKA, incluindo as arboviroses dengue e chikungunya e outros agentes infecciosos, de acordo com a capacidade operacional local. Caso a criança apresente anomalia(s) congênita(s), e a investigação dos agentes infecciosos se esgotar, outros exames complementares para diagnóstico diferencial poderão ser realizados de acordo com a capacidade operacional do SUS (BRASIL, 2018).

2.7 Assistência ao Pré-Natal

Entre os programas ou ações programáticas em saúde, a assistencial pré-natal tem ocupado, historicamente, um espaço relevante na atenção à saúde da população. No Brasil, no final dos anos noventa, após duas décadas da instituição do (PAISM), a assistência à saúde da

mulher permanece com muitas questões a serem enfrentadas. Entendendo que a não-percepção da mulher como sujeito — este, um sintoma de um mal muito mais profundo, manifesto em toda e qualquer forma de discriminação — e o desconhecimento e desrespeito ao seu direito à saúde constituem o pano de fundo da má assistência. O Ministério da Saúde (MS) instituiu, em 2000, o Programa de Humanização no Pré-Natal e Nascimento (PHPN), no qual o respeito a seus direitos e a perspectiva da humanização aparecem como elementos estruturadores (SERRUYA; CECATTI; LAGO, 2004).

Apesar da redução importante da mortalidade infantil no Brasil nas últimas décadas, os indicadores de óbitos neonatais apresentaram uma velocidade de queda aquém do desejado. Um número expressivo de mortes ainda faz parte da realidade social e sanitária de nosso País. Tais mortes ainda ocorrem por causas evitáveis, principalmente no que diz respeito às ações dos serviços de saúde e, entre elas, a atenção pré-natal, ao parto e ao recém-nascido (BRASIL, 2012).

Embora tenhamos observado uma ampliação na cobertura do acompanhamento pré-natal, contraditoriamente mantém-se elevada a incidência de sífilis congênita, assim como da hipertensão arterial sistêmica, que é a causa mais frequente de morbimortalidade materna e perinatal no Brasil. Tais dados demonstram comprometimento da qualidade dos cuidados pré-natais (BRASIL, 2012).

No contexto atual, frente aos desafios citados, o Ministério da Saúde, com os objetivos de qualificar as Redes de Atenção Materno-Infantil em todo o País e reduzir a taxa, ainda elevada, de morbimortalidade materno-infantil no Brasil, institui a Rede Cegonha (BRASIL, 2012).

A Rede Cegonha representa um conjunto de iniciativas que envolvem mudanças: (i) no processo de cuidado à gravidez, ao parto e ao nascimento; (ii) na articulação dos pontos de atenção em rede e regulação obstétrica no momento do parto; (iii) na qualificação técnica das equipes de atenção primária e no âmbito das maternidades; (iv) na melhoria da ambiência dos serviços de saúde (UBS e maternidades); (v) na ampliação de serviços e profissionais, para estimular a prática do parto fisiológico; e (vi) na humanização do parto e do nascimento (Casa de Parto Normal, enfermeira obstétrica, parteiras, Casa da Mãe e do Bebê) (BRASIL, 2012).

A Estratégia Rede Cegonha tem a finalidade de estruturar e organizar a atenção à saúde materno-infantil no País e será implantada, gradativamente, em todo o território nacional. O início de sua implantação conta com a observação do critério epidemiológico, da taxa de mortalidade infantil, da razão da mortalidade materna e da densidade populacional. Desta forma, a Rede Cegonha conta com a parceria de estados, do Distrito Federal e de

municípios para a qualificação dos seus componentes: pré-natal, parto e nascimento, puerpério e atenção integral à saúde da criança e sistema logístico (transporte sanitário e regulação) (BRASIL, 2012).

Os princípios da Rede Cegonha são:

- Humanização do parto e do nascimento, com ampliação das ppler baseadas em evidência;
- Organização dos serviços de saúde enquanto uma rede de atenção à saúde (RAS);
- Acolhimento da gestante e do bebê, com classificação de risco em todos os pontos de atenção;
- Vinculação da gestante à maternidade;
- Gestante não peregrina;
- Realização de exames de rotina com resultados em tempo oportuno.

A assistência pré-natal adequada (componente pré-natal), com a detecção e a intervenção precoce das situações de risco, bem como um sistema ágil de referência hospitalar (sistema de regulação – “Vaga sempre para gestantes e bebês”, regulação dos leitos obstétricos, plano de vinculação da gestante à maternidade), além da qualificação da assistência ao parto (componente de parto e nascimento – humanização, direito à acompanhante de livre escolha da gestante, ambiência, boas práticas, acolhimento com classificação de risco – ACCR), são os grandes determinantes dos indicadores de saúde relacionados à mãe e ao bebê que têm o potencial de diminuir as principais causas de mortalidade materna e neonatal (BRASIL, 2012).

O objetivo do acompanhamento pré-natal é assegurar o desenvolvimento da gestação, permitindo o parto de um recém-nascido saudável, sem impacto para a saúde materna, inclusive abordando aspectos psicossociais e as atividades educativas e preventivas (BRASIL, 2012).

Talvez o principal indicador do prognóstico ao nascimento seja o acesso à assistência pré-natal (grau de recomendação B). Os cuidados assistenciais no primeiro trimestre são utilizados como um indicador maior da qualidade dos cuidados maternos (grau de recomendação B) (BRASIL, 2012).

Se o início precoce do pré-natal é essencial para a adequada assistência, o número ideal de consultas permanece controverso. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o número adequado seria igual ou superior a 6 (seis). Pode ser que, mesmo com um número mais reduzido de consultas (porém, com maior ênfase para o conteúdo de cada uma delas) em

casos de pacientes de baixo risco, não haja aumento de resultados perinatais adversos (grau de recomendação A). Atenção especial deverá ser dispensada às grávidas com maiores riscos (grau de recomendação A). As consultas deverão ser mensais até a 28ª semana, quinzenais entre 28 e 36 semanas e semanais no termo (grau de recomendação D). Não existe alta do pré-natal (BRASIL, 2012).

Quando o parto não ocorre até a 41ª semana, é necessário encaminhar a gestante para a avaliação do bem-estar fetal, incluindo avaliação do índice do líquido amniótico e monitoramento cardíaco fetal. Estudos clínicos randomizados demonstram que a conduta de induzir o trabalho de parto em todas as gestantes com 41 semanas de gravidez é preferível à avaliação seriada do bem-estar fetal, pois se observou menor risco de morte neonatal e perinatal e menor chance de cesariana no grupo submetido à indução do parto com 41 semanas (BRASIL, 2012).

2.8. Impacto da infecção pelo zika vírus na gestação

A infecção pelo ZIKV durante a gestação acarreta impacto biopsicossocial na gestante e na família. No caso do diagnóstico de microcefalia, as mudanças em relação ao cuidado com o bebê também impactam a dinâmica familiar, necessitando de integração dos serviços de saúde e apoio psicológico para garantir o melhor cuidado para esse bebê (BRASIL, 2017).

A prática do cuidado é a prática sabidamente mais antiga do mundo, pois sempre houve a necessidade de cuidar da vida de um outrem, assim como da própria (COLLIÈRE, 2003).

Para Boff (2012) cuidar é “... mais que um ato é uma atitude portanto abrange mais que um momento de atenção e zelo: representa uma atitude de ocupação, responsabilização e de envolvimento afetivo com o outro”.

O acesso ao cuidado pré-natal na Atenção Básica é essencial para a qualidade de vida tanto da mãe quanto do bebê. Iniciar o pré-natal no primeiro trimestre da gravidez (preferencialmente até a 12ª semana) é fundamental para identificar os fatores de risco e para o acompanhamento durante a gestação, favorecendo ações e intervenções adequadas que evitam complicações e protegem a saúde da mulher, do homem e da criança (BRASIL, 2017).

Desde março de 2016, com a publicação da Portaria nº 405, de 15 de março de 2016, bem como a IOC nº 2, de 31 de março de 2016, foram estimulados e estabelecidos fluxos para

integração dos serviços do SUS e do Sistema Único de Assistência Social (SUAS), buscando um cuidado e assistência ampliada as diversas necessidades das crianças e suas famílias afetadas desde a declaração de emergência em saúde pública (BRASIL, 2017)

Estes documentos definem que se deve organizar o fluxo de encaminhamento das crianças e suas famílias, seja por profissional da Atenção Básica, seja da Atenção Especializada, para o Centro de Referência de Assistência Social (CRAS) mais próximo de sua residência, para acolhida e acesso a serviços e benefícios de proteção social, inclusive quanto à concessão do Benefício de Prestação Continuada (BPC). O BPC é um benefício assistencial instituído pela Constituição Federal de 1988. Ele é pago às pessoas idosas e às pessoas com deficiência cuja renda familiar mensal por pessoa seja inferior a $\frac{1}{4}$ (um quarto) do salário mínimo (BRASIL, 2017).

Todos os bebês com anomalias congênitas e/ou alterações do SNC devem manter as consultas de puericultura na Atenção Básica. O acompanhamento adicional deve ser fornecido dependendo das condições e das necessidades da criança, a partir de um Plano Terapêutico Singular (PTS) (BRASIL, 2017).

Os recém-nascidos de mães infectadas pelo Zika vírus durante a gestação, mesmo sem microcefalia ou a apresentação de artrogripose ou malformações craniofaciais, devem ser acompanhados para detectar/investigar sinais de anormalidades do desenvolvimento neuropsicomotor, incluindo dificuldades de alimentação, audição ou problema de visão, crescimento da cabeça não compatível com a idade e, caso sejam detectadas alterações, deve ser encaminhada para o acompanhamento adequado (BRASIL, 2017).

As crianças que apresentem alterações no desenvolvimento devem continuar sendo acompanhadas por meio da puericultura e encaminhadas para serviços especializados (neurológicas, motoras, auditivas, visuais, respiratórias ou metabólicas, entre outras), mantendo-se a estimulação precoce. Em caso de maiores necessidades de cuidado, o Serviço de Atenção Domiciliar poderá ser acionado para atender as crianças com síndrome congênita associada à infecção pelo Zika vírus (BRASIL, 2017).

A atenção psicossocial para gestantes, puérperas e famílias que vivenciam problemas associados ao Zika vírus constitui um aspecto essencial do cuidado integral nesse contexto. Caso a chegada de um bebê normalmente interfira na dinâmica, na estrutura e no cotidiano familiar, provocando ansiedade, angústia, insegurança e medo, esses sentimentos podem se intensificar quando essa criança tem alguma deficiência ou problema de saúde. Diante disso, o apoio psicossocial constitui peça chave no cuidado a essas famílias (BRASIL, 2017).

3 JUSTIFICATIVA

Para que as doenças possam ser devidamente controladas e monitoradas, é essencial que se disponha de pesquisas e métodos que possam elucidar a relação entre as doenças infectocontagiosas com patologias secundárias. Dentre tantas, a infecção pelo zika vírus tem sido uma doença, cujos esforços para combatê-la têm sido intensificados, principalmente, por conta dos agravos relacionados a microcefalia durante a gravidez.

Considera-se que este tipo de trabalho se mostra valioso para aquilatar a infecção pelo zika vírus durante o período gravídico e a presença de microcefalia ao nascimento. Em adição, os resultados poderão verter também informações para os próprios pacientes, os quais não dispõem usualmente de informações que evidenciem com clareza a relação entre o zika vírus e microcefalia.

Para o controle da microcefalia é necessário a atuação em diversos setores de uma comunidade, melhorando as condições socioeconômicas e a organização dos serviços de saúde. A atual pesquisa pretende contribuir com a análise das características dos casos notificados no Maranhão, desde a qualidade das informações disponíveis, fundamentais para a gestão da pesquisa, como os aspectos epidemiológicos relacionados à assistência dos pacientes diagnosticados com microcefalia, identificando fatores que possam ser priorizados para alocação de recursos do gestor de saúde e contribuir para resolução dos problemas prioritários de saúde da população brasileira fortalecendo a gestão do SUS. Nosso projeto contribui para o aprimoramento e consolidação do SUS com a finalidade de integrar alunos da graduação desenvolvendo atividades de iniciação científica, mestrado *Stricto sensu*, doutorado e pós-doutorado visando o fortalecimento da pesquisa no âmbito do estado do Maranhão.

A busca do conhecimento acerca da magnitude da relação do zika vírus com a microcefalia, enquanto problema de saúde pública, torna-se, portanto, um importante instrumento para o planejamento de ações de atenção à saúde das populações de risco.

Estas ações visam elucidar as complicações ocasionadas por esta doença, caso seja evidenciado a presença do zika vírus nos materiais biológicos estudados, proporcionando também a possibilidade de estudos futuros com o intuito de impedir, ou combater a infecção pelo zika vírus nos materiais biológicos do presente estudo.

4 OBJETIVOS

4.1 Geral

Analisar os cuidados para gestantes expostas ao Zika vírus na Rede de Atenção ao Sistema Único de Saúde com atenção ao pré-natal e diagnóstico na gravidez.

4.2 Específicos

- Descrever os achados sociodemográficos das mães e repercussões relacionadas ao Zika vírus;
- Correlacionar os achados sociodemográficos e as manifestações clínicas relacionados aos testes de diagnóstico de biologia molecular da placenta e cordão umbilical;
- Identificar os cuidados prestados no SUS às pacientes que tiveram manifestações clínicas e testes positivos para adequada compreensão dos resultados dos exames e suas implicações;
- Identificar os cuidados prestados no SUS aos recém nascidos das pacientes com qRT-PCR positivo em placenta e/ou cordão umbilical para o Zika vírus;
- Observar se a assistência pré-natal estava ajustada com os critérios de qualidade preconizados pelo Ministério da Saúde;
- Verificar se as gestantes com qRT-PCR positivo em placenta e/ou cordão umbilical para o Zika vírus, foram excluídas concomitância de infecções por TORCH.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Tipo e área de estudo

Trata-se de um estudo analítico, descritivo, observacional e transversal de prevalência de infecção pelo zika vírus (ZIKV) em amostra contingenciada de gestantes atendidas no Hospital Universitário Unidade Materno Infantil da Universidade Federal do Maranhão (HU-UFMA) e Maternidade Estadual Benedito Leite no período de abril de 2017 a junho de 2018.

5.2 População do estudo

A população do estudo foi constituída de gestantes, entre 15 e 40 anos de idade, submetidas à parto vaginal e cesariana atendidas no Hospital Universitário Unidade Materno Infantil, unidade de alta complexidade e Maternidade Estadual Benedito Leite, unidade de baixa complexidade do estado do Maranhão.

A amostra foi contingenciada a partir das mulheres que procuraram o serviço de pronto-atendimento das respectivas maternidades no período da coleta.

5.3 Critérios de inclusão e exclusão

Os critérios de inclusão foram: Mulheres gestantes, em trabalho de parto ativo, que procuraram espontaneamente o pronto-socorro das maternidades incluídas na pesquisa e que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Os critérios de exclusão: Mulheres gestantes, com falso trabalho de parto ou em trabalho de parto ativo, que procuraram espontaneamente o pronto-socorro das maternidades incluídas na pesquisa e que não assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Foram excluídas também caso não fosse possível realizar a coleta dos exames por dificuldades

técnicas. Além disso, foram excluídas as gestantes que apresentassem alguma sorologia para Sífilis, Toxoplasmose, Rubéola ou Citomegalovírus positiva.

5.4 Cálculo amostral e amostra final

Por se tratar de uma amostra finita, visto que o número de casos é pequeno em relação a população total, utilizamos a fórmula de cálculo para uma população finita que corresponde a:

$$n = \frac{n_0}{1 + \frac{n_0 - 1}{N}}$$

n_0 = intensidade da amostragem;

N = tamanho da amostra na população.

Onde n_0 é igual a:

$$n_0 = \frac{z(k)^2}{4d^2}$$

Legenda:

$z(K)^2$ = valor na tabela do teste t-student com (n-1) graus de liberdade para o intervalo de confiança;

d= erro

1º Caso: Utilizando os dados coletados sobre o número de diagnósticos feitos durante o pré-natal de doenças causadoras de microcefalia em determinado hospital de referência de São Luís-MA correspondeu a 400 com índice de confiança de margem de erro 5%, temos os seguintes valores:

Inicialmente determinou-se n_0 :

$$n_0 = \frac{1,96^2}{4(0,05)^2} = 384,16$$

Substituindo n_0 temos:

$$n = \frac{384,16}{1 + \frac{(384,16-1)}{400}} = 196,21$$

Sendo assim, teríamos uma amostra de 196 casos diagnosticados de doenças causadoras de microcefalia no pré-natal para considerar como número estatisticamente significativo.

A amostra contingenciada foi de 203 gestantes. Entretanto, 6 foram excluídas devido impossibilidade de coleta do sangue, sendo a amostra final de 197 gestantes alocadas nas duas maternidades da pesquisa.

5.5 Dados sócio-demográficos, história clínica e material biológico (sangue e placenta)

A coleta das amostras foi realizada entre janeiro e junho de 2018. Procedeu-se a entrevista no momento da coleta utilizando-se um questionário epidemiológico estruturado que incluía informações sobre características sociodemográficas, hábitos e história sexual e reprodutiva, história clínica e obstétrica (Apêndice A).

As mulheres foram submetidas a exame obstétrico cuidadoso pela equipe assistente. Realizou-se coleta de sangue venoso periférico na veia antecubital (2 a 5 ml de sangue, sem anticoagulante) no período de dequitação placentária, e após a mesma foram extraídos 3 pares de amostras de tecido placentário (face materna e fetal) retirados próximo a inserção do cordão umbilical e nos ápices.

Esse material foi devidamente acondicionado a 4°C e no dia seguinte, armazenados em freezer a -80°C. As amostras foram armazenadas em freezer até a extração de RNA, no Laboratório de Multiusuários do Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto que funciona nas dependências do Banco de Tumores e DNA do Maranhão.

5.6 Teste rápido

Para avaliar de forma rápida a possibilidade de infecção pelo ZIKV em gestantes, foi utilizado o teste rápido disponibilizado pela Fiocruz. Um total de 197 amostras foram submetidas ao teste rápido conforme recomendado pelo fabricante.

O Teste Rápido DPP® ZIKA IgM/IgG – Bio-Manguinhos utiliza uma combinação de antígenos de Zika vírus ligados a uma membrana (fase sólida), anticorpos específicos e conjugado de proteína A com partículas de ouro coloidal.

A amostra foi preparada e em seguida aplicada ao poço “Amostra + Tampão”. O tampão propicia o fluxo lateral na direção das duas janelas, promovendo a ligação dos anticorpos aos antígenos (IgM na janela superior e IgG na janela inferior). Após a migração da solução (tampão + amostra) ao longo do suporte de teste, adicionou-se o tampão de corrida ao poço 2. O conjugado liga-se ao complexo antígeno-anticorpo nas áreas TESTE (T) superior e inferior produzindo uma linha (roxa/rosa) nesta área. O conjugado se liga aos anticorpos específicos para o Zika vírus produzindo uma linha (roxa/rosa) na área do TESTE (T). Na ausência de anticorpos para Zika vírus a linha (roxa/rosa) não aparece na área do TESTE (T). Em ambos os casos, a amostra continua a migrar ao longo da membrana produzindo uma linha (roxa/rosa) na área do CONTROLE (C), o que demonstra o funcionamento adequado dos reagentes.

A Tabela 3 descreve a interpretação dos resultados do teste segundo o fabricante.

A sensibilidade do TR é de 94,7% para IgM e 91,7% para IgG quando comparada ao ELISA. Já a especificidade geral é de 95,1% para IgM e 98,3% para IgG segundo dados do fabricante.

Tabela 3. Resumo para interpretação dos valores numéricos

TABELA DE REFERÊNCIA		
RESULTADO	IGM	IGG
NEGATIVO	0-22	0-22
INDETERMINADO	23-27	23-27
POSITIVO	>=28	>=28

Eventuais reações cruzadas com antígenos de dengue, chikungunya e febre amarela podem ocorrer. Essas reações foram minimizadas com a posterior realização de ELISA e rT-PCR.

5.7. qRT-PCR

5.7.1 Amostras clínicas

Um total de 400 amostras (197 de sangue total do cordão umbilical e 203 fragmentos de placenta) foram estudadas.

5.7.2 Extração do RNA viral

O sangue total foi extraído pelo kit QIAamp Viral RNA Mini Kit (Cat# 52906 Qiagen), seguindo o protocolo descrito pelo fabricante. A técnica foi realizada da seguinte forma: 140µL de cada amostra foram incubados por 10 min à temperatura ambiente juntamente com 560µL do tampão de lise AVL e 5,6 µL do carreador de RNA. Ao término do tempo, 560µL de etanol absoluto foram adicionados. A solução obtida foi homogeneizada, aplicada à coluna de sílica fornecida pelo kit (em duas vezes de 630µL) e centrifugada. Posteriormente, as amostras foram lavadas com os tampões AW1 e AW2. O RNA retido na coluna foi eluído com 60µL de tampão AVE.

Os fragmentos de placenta foram macerados em 300 µl de RNAlater (Cat#AM7021 Invitrogen) com o auxílio de gral com pistilo de porcelana e posteriormente centrifugados por 15min a 6000 RPM. O sobrenadante foi retirado e utilizado para a extração do RNA viral, também pelo kit QIAamp Viral RNA Mini Kit (Cat# 52906 Qiagen). Os RNAs extraídos foram submetidos a qRT-PCR descrita a seguir.

5.7.3 Transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase em tempo real (qRT-PCR) para pesquisa do Zika vírus

A técnica de transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase em tempo real (qRT-PCR) (sistema TaqMan®) foi utilizada para a detecção do Zika vírus. Foi utilizado

o protocolo de qRT-PCR descrito por Faye et al. (2013) no qual utiliza dois iniciadores consensuais forward e reverse (Zika_qRT_F e Zika_qRT_R) a 200 nM, complementares as sequências dos genes que codificam a proteína NS5 que é a mais conservada do gênero *Flavivirus* e a sonda (Zika_qRT_P) a 125nM (Tabela 4).

Tabela 4: Relação dos oligonucleotídeos iniciadores utilizados na transcrição reversa seguida da reação em cadeia pela polimerase em tempo real (qRT-PCR) para detecção do Zika vírus (Y = T ou C, R = A ou G).

Tipo de oligonucleotídeo (sentido)	Sentido da sequência (5' – 3')	Posição no genoma
Primer Zika_qRT_F (+)	AARTACACATACCARAACAAAGTG GT	9271–9297
Primer Zika_qRT_R (-)	TCCRCTCCCYCTYTGGTCTTG	9352–9373
Sonda Zika_qRT_P	FAM-CTYAGACCAGCTGAAR-BBQ	9304–9320

Fonte: Faye et al. (2013).

A mistura de reagentes para a reação da qRT-PCR foi realizada para cada amostra estudada da seguinte forma: em uma placa de 96 poços (AppliedBiosystems®) foram adicionados 2,5µL do TaqMan FAST 1-Step Master Mix (2x) (AppliedBiosystems, Foster City, Usa), 0,2µL do primer Zika_qRT_F (Invitrogen, USA), 0,2µL do primer Zika_qRT_R (Invitrogen, USA), 0,2µL da sonda Zika_qRT_P (AppliedBiosystems®) e 1,9µL de água livre de nucleases (Promega, Madison, USA). Após a preparação desses 5 µL de mistura para a reação, foram alíquotados 5 µL do RNA previamente extraído. A Placa de 96 poços foi levada ao equipamento ABI Prism 7500 Fast (AppliedBiosystems®) e a reação ocorreu de acordo com os seguintes parâmetros de termociclagem: 1 ciclo para ativação enzimática da transcriptase reversa (50°C por 5 minutos), 1 ciclo para a inativação enzimática e desnaturação inicial (95°C por 20 segundos), 40 ciclos de desnaturação (95°C por 15 segundos), anelamento (60°C por 1 minuto), extensão (60°C por 1 minuto) e um período de extensão final (60°C por 1 minuto).

5.8 Análise Estatística

Foi construído um banco de dados informatizado a partir dos dados sociodemográficos, clínicos e resultado dos testes laboratoriais das gestantes e do sangue do

cordão umbilical dos recém-nascidos. O software utilizado foi SPSS versão 22.0. Os dados foram avaliados e foram transferidos para banco de dados, informatizado no *software* Epi-Info. Neste caso, utilizou-se nível de significância $p < 0,05$ com intervalos de confiança de 95%. A análise dos dados foi realizada pela aplicação de testes paramétricos para variáveis que possuam distribuição normal e, caso contrário, testes não-paramétricos.

Para as variáveis qualitativas entre os grupos utilizou-se Qui-quadrado e Exato de Fisher e OR (IC95%) e para análise multivariada foi realizada utilizando-se o modelo de Regressão Logística. Para as variáveis quantitativas de distribuição normal, foram calculadas; média, desvio padrão, valor mínima e máxima, ou mediana, e percentis 25 e 75 para as de distribuição assimétrica.

Para a avaliação da relação entre os dados epidemiológicos, clínicos, histopatológico e resultados laboratoriais do Zika Virus, serão utilizados o teste Qui-quadrado e o teste exato de Fisher, sendo os resultados considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$. Toda a análise estatística foi feita no programa GraphPad (GraphPad Software, CA, USA).

5.9 Aspectos Éticos

Este projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão sob o número 2.510.496. Para o desenvolvimento do projeto, as mulheres incluídas assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares) (APÊNDICE B).

6 ARTIGO: Cuidados com a gestante exposta ao zika vírus no Maranhão, Brasil

FOLHA DE ROSTO

Artigo Submetido na revista The American Journal of Obstetrics & Gynecology (Anexo 4)

CUIDADOS COM A GESTANTE EXPOSTA AO ZIKA VÍRUS NO MARANHÃO, BRASIL

AUTORES:

FINANCIAMENTO: EDITAL 008/2016 PPSUS (Programa de Pesquisa para o SUS)

AUTOR PARA CORRESPONDÊNCIA: Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento;
m.desterro.soares@gmail.com; (98) 981890191.

CONTAGEM DE PALAVRAS:

Condensation: Zika vírus identificado em gestantes assintomáticas

Short title: Zika vírus em gestantes do Maranhão, Brasil.

RESUMO

Introdução: O Zika vírus (ZIKV) pertence ao gênero *Flavivirus* e é transmitido por mosquitos do gênero *Aedes*, sendo identificado pela primeira vez em 1947 em macacos em Uganda. Durante a gravidez de mamíferos, a placenta atua como uma barreira entre o compartimento materno e fetal. A associação observada entre infecção pelo ZIKV durante a gravidez humana com microcefalia e outras anomalias fetais sugere que esse vírus pode causar danos à placenta e atingir o feto. **Objetivos:** Analisar os cuidados para gestantes expostas ao vírus Zika na rede de atenção ao Sistema Único de Saúde, com foco em diagnóstico clínico e molecular da infecção pelo ZIKV e atenção ao pré-natal. **Desenho do estudo:** Foram incluídas 197 mulheres, a partir de uma amostra de conveniência, assistidas em duas maternidades públicas do estado do Maranhão, região Nordeste do Brasil, entre abril de 2017 e junho de 2018. As pacientes foram submetidas a coleta de sangue venoso, sangue de cordão umbilical no período de dequitação placentária, além de coleta de fragmentos de tecido placentário (face materna e fetal) próximos à inserção do cordão umbilical e nos ápices. O perfil laboratorial específico (sorologia IgG e IgM e RTPCR) foi realizado a partir das amostras de sangue e placenta e o perfil laboratorial inespecífico (TORCHs) foi obtido do prontuário. Os dados foram avaliados e transferidos para um banco de dados, informatizado no software Epi-Info. **Resultados:** Os resultados do estudo apontam que: as gestantes eram predominantemente da área metropolitana de São Luís, capital do estado, com faixa etária entre 19-35 anos, com 10-15 anos de escolaridade, raça parda, casadas e católicas, sendo que as mães positivas para RT-PCR ZIKV compreenderam a faixa etária de maiores que 19 anos. Em relação ao teste rápido, 6 gestantes apresentaram IgM positivo para o ZIKV. Das 197 amostras de placenta, 9 foram positivas pela RT-PCR, e das 197 amostras de sangue do cordão umbilical, 3 foram positivas pela RT-PCR. Em relação ao pré-natal destas gestantes observou-se que o mesmo não preencheu os critérios de qualidade preconizados pelo Ministério da Saúde. Os cuidados foram oferecidos às gestantes desde as consultas de pré-natal, através de palestras, distribuição de folders, cartilhas, momentos de acolhimento e capacitação dos profissionais de saúde quanto ao tema, além de se estender para o momento do parto. **Conclusões:** Os cuidados às gestantes detectaram o ZIKV na placenta e cordão umbilical, em mulheres sem evidência de manifestações clínicas; Os cuidados aos recém nascidos foram ofertados através dos exames de RT-PCR realizados nas mães; A presença do ZIKV em sangue de cordão não foi relacionado com alterações morfológicas e/ou psicomotoras nos recém nascidos; A assistência pré-natal revelou que metade das gestantes realizou seis ou mais consultas, menos da metade iniciou o pré-natal no primeiro trimestre e o exame das sorologias para TORCH não foi realizado por todas às gestantes que apresentaram RT-PCR positivo em placenta para o ZIKV.

Palavras-chave: Infecção pelo Zika vírus. Cuidado pré-natal. Sistema Único de Saúde.

Introdução

O Zika Vírus (ZIKV) pertence à família *Flaviviridae*, gênero *Flavivirus*. Trata-se de um arbovírus, transmitido através da picada das fêmeas do mosquito *Aedes aegypti*. A primeira descrição desse vírus ocorreu em 1947 na África isolado de macaco *Rhesus*. Em humanos, o primeiro isolamento ocorreu em 1952 na Nigéria (DICK; KITCHEN; HADDOW, 1952). Nas Américas, o vírus passou a circular a partir de 2015, e no Brasil, em março do mesmo ano (AYLLÓN et al., 2017; FARIA et al, 2016). Em outubro de 2015, foi observado no Brasil um aumento inesperado do número de casos de nascidos vivos com microcefalia, inicialmente em Pernambuco e posteriormente em outros estados da região Nordeste. O crescimento inesperado de nascimentos com esse quadro ocorreu após registro da ocorrência da febre pelo vírus Zika na mesma região. Em menos de um ano após sua introdução, o

vírus Zika se espalhou por todas as regiões do Brasil. A doença passou a exibir transmissão continuada em grande parte do território brasileiro (BRASIL, 2018).

O termo Síndrome Congênita do Zika vírus (SCZ) descreve uma série de defeitos congênitos associados à infecção por ZIKV, incluindo microcefalia, malformações cerebrais complexas e lesões oculares. Embora a microcefalia seja reconhecida como um achado clássico para o diagnóstico, evidências estão demonstrando que lesões cerebrais e oculares sutis, mas destrutivas, também pode ocorrer em bebês com um tamanho normal da cabeça no nascimento. (WALKER et al., 2018).

Embora na maioria das infecções por vírus Zika em humanos haja predominância da transmissão vetorial, também foi documentada transmissão do vírus Zika por meio de contato sexual (BROOKS et al., 2016; MUSSO et al., 2017; D'ORTENZIO et al., 2016), transfusão de sangue (MUSSO et al., 2014; BARJAS-CASTRO et al., 2016) e exposição ocupacional em laboratório, além da transmissão intrauterina e intraparto (PETERSEN et al., 2016). Os métodos mais utilizados no diagnóstico da infecção por ZIKV incluem RT-PCR (Reverse transcription polymerase chain reaction quantitative real time) (HAUG; KIENY; MURGUE, 2016), teste rápido e sorologia por ELISA (STAPLES et al., 2016).

Mais recentemente Rodriguez-Barraquer et al., (2019) reportaram pesquisas em regiões endêmicas do Nordeste brasileiro que, altos títulos de anticorpos prévios ao vírus da dengue foram associados à redução do risco de infecção e sintomas do ZIKV. O panorama da imunidade do ZIKV que existe agora pode afetar o risco de transmissão futura.

De acordo com o Boletim Epidemiológico número 59 divulgado pelo Ministério da Saúde em dezembro de 2018 o número de casos prováveis de doença aguda pelo vírus Zika por estrato populacional, até a Semana Epidemiológica 46 no estado do Maranhão foi de 143, com uma incidência de 2,0/100000 habitantes. No ano anterior, o número de casos prováveis foi de 524, com uma incidência de 7,4/100000 habitantes. Em relação ao município de São Luís, o número de casos prováveis foi de 98, com uma incidência de 9,0/100000 habitantes (BRASIL, 2018).

Conforme os dados da Secretaria Estadual de Saúde do estado do Maranhão, o número de casos confirmados de microcefalia por Zika vírus até o momento foram de 3 casos. Um no ano de 2015, na capital, São Luís e dois no ano de 2016, nas cidades de Açailândia, sul do estado e Dom Pedro, oeste do estado. Nos anos de 2017 e 2018 não houveram casos de microcefalia por Zika vírus confirmados.

Considerando a importância epidemiológica da infecção pelo vírus Zika na gestação e os poucos estudos sobre suas repercussões no binômio materno-fetal, o presente trabalho objetivou correlacionar infecção pelo vírus Zika com achados placentários, sangue de cordão umbilical e teratogenia em mulheres atendidas pela rede SUS em São Luís – MA, bem como avaliar os cuidados prestados durante a assistência pré-natal.

Trata-se do primeiro trabalho de diagnóstico de infecção pelo vírus Zika em gestantes assintomáticas no Estado do Maranhão por diferentes métodos, o que contribuirá para melhor assistência em saúde e planejamento estratégico das políticas públicas em relação ao cuidado obstétrico e neonatal.

DESENHO DO ESTUDO

Tipo e área de estudo

Trata-se de um estudo analítico, descritivo, observacional e transversal de prevalência de infecção pelo ZIKV em amostra contingenciada de gestantes atendidas no Hospital Universitário Unidade Materno Infantil da Universidade Federal do Maranhão (HU-UFMA) e Maternidade Estadual Benedito Leite entre abril de 2017 a junho de 2018.

População do estudo

A população do estudo foi constituída de gestantes, entre 15 e 40 anos de idade, submetidas à parto

vaginal e cesariana atendidas no Hospital Universitário - Unidade Materno Infantil, hospital de alto risco e Maternidade Estadual Benedito Leite, de risco habitual, ambas em São Luís, Maranhão, Brasil. A amostra foi contingenciada a partir das mulheres que procuraram o serviço de pronto-atendimento para assistência ao parto das respectivas maternidades no período da coleta e aceitaram participar do estudo.

Crítérios de inclusão e exclusão

Os critérios de inclusão foram: Mulheres gestantes, em trabalho de parto ativo e cesarianas eletivas, que procuraram espontaneamente o pronto-socorro das maternidades incluídas na pesquisa e que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ou Termo de Assentimento, no caso de menores de 18 anos.

Critério de exclusão: Mulheres gestantes, com falso trabalho de parto e/ou que procuraram espontaneamente o pronto-socorro das maternidades incluídas na pesquisa e não assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ou termo de assentimento. Foram excluídas também caso não fosse possível realizar a coleta dos exames por dificuldades técnicas. Além disso, foram excluídas as gestantes que apresentassem alguma sorologia positiva para Sífilis, Toxoplasmose (IgM), Rubéola (IgM), HIV, Hepatite B, Citomegalovírus (IgM) e/ou que tenham comprometimento placentário (CIUR, polidrâmnio, oligodrâmnio, pré-eclâmpsia, SAAF, entre outros).

Cálculo amostral e amostra final

Por se tratar de uma amostra finita, visto que o número de casos é pequeno em relação a população total, utilizamos a fórmula de cálculo para uma população finita que corresponde a:

$$n = \frac{n_0}{1 + \frac{n_0 - 1}{N}}$$

n_0 = intensidade da amostragem;

N = tamanho da amostra na população.

Onde n_0 é igual a:

$$n_0 = \frac{z(k)^2}{4d^2}$$

Legenda:

$z(K)^2$ = valor na tabela do teste t-student com (n-1) graus de liberdade para o intervalo de confiança;

d = erro

1º Caso: Utilizando os dados coletados sobre o número de diagnósticos feitos durante o pré-natal de doenças causadoras de microcefalia em hospital de referência de São Luís-MA correspondeu a 400 com índice de confiança de margem de erro 5%, temos os seguintes valores:

Inicialmente determinou-se n_0 :

$$n_0 = \frac{1,96^2}{4(0,05)^2} = 384,16$$

Substituindo n_0 temos:

$$n = \frac{384,16}{1 + \frac{(384,16-1)}{400}} = 196,21$$

Sendo assim, teríamos uma amostra de 196 casos diagnosticados de doenças causadoras de microcefalia no pré-natal para considerar como número estatisticamente significativo.

A amostra contingenciada foi de 203 gestantes. Entretanto, 6 foram excluídas devido impossibilidade de coleta do sangue, sendo a amostra final de 197 gestantes alocadas nas duas maternidades da pesquisa.

Coleta de dados

A coleta das amostras foi realizada entre janeiro e junho de 2018, sendo que as gestantes já estavam sendo acompanhadas desde abril de 2017, para preenchimento do questionário e desenvolvimento de ações acerca de cuidados com a gestante. Procedeu-se a entrevista no momento da coleta utilizando-se um questionário epidemiológico estruturado que incluía informações sobre características sociodemográficas, hábitos e história sexual e reprodutiva, história clínica e obstétrica, além da obtenção de dados a partir do cartão de pré-natal.

As mulheres foram submetidas a exame obstétrico cuidadoso pela equipe assistente. Realizou-se coleta de sangue venoso periférico na veia antecubital (2 a 5 ml de sangue, sem anticoagulante) no período de dequitação placentária, e após a mesma foram extraídos 3 pares de amostras de tecido placentário (face materna e fetal) próximos à inserção do cordão umbilical e nos ápices.

Cada par de amostra de placenta foi acondicionado em frascos separados, um preparado com formol para avaliação histopatológica e outro para avaliação de RT-PCR, acondicionados posteriormente em RNAlater® Stabilization Solution.

Esse material foi devidamente acondicionado a 4°C e no dia seguinte, armazenados em freezer a -80°C até a extração de RNA, no Laboratório de Multiusuários do Programa de Pós-Graduação em Saúde do Adulto que funciona nas dependências do Banco de Tumores e DNA do Maranhão.

Teste rápido

Para avaliar de forma rápida a possibilidade de infecção pelo ZIKV em gestantes, foi utilizado o teste rápido disponibilizado pela Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz). Um total de 197 amostras foram submetidas ao teste rápido conforme recomendado pelo fabricante.

O Teste Rápido DPP® ZIKA IgM/IgG – Bio-Manguinhos utiliza uma combinação de antígenos de vírus Zika ligados a uma membrana (fase sólida), anticorpos específicos e conjugado de proteína A com partículas de ouro coloidal.

A amostra foi preparada e em seguida aplicada ao poço “Amostra + Tampão”. O tampão propicia o fluxo lateral na direção das duas janelas, promovendo a ligação dos anticorpos aos antígenos (IgM na janela superior e IgG na janela inferior). Após a migração da solução (tampão + amostra) ao longo do suporte de teste, adicionou-se o tampão de corrida ao poço 2. O conjugado liga-se ao complexo antígeno-anticorpo nas áreas TESTE (T) superior e inferior produzindo uma linha (roxa/rosa) nesta área. O conjugado se liga aos anticorpos específicos para o Zika vírus produzindo uma linha (roxa/rosa) na área do TESTE (T). Na ausência de anticorpos para Zika vírus a linha (roxa/rosa) não aparece na área do TESTE (T). Em ambos os casos, a amostra continua a migrar ao longo da membrana produzindo uma linha (roxa/rosa) na área do CONTROLE (C), o que demonstra o funcionamento adequado dos reagentes.

De acordo com o fabricante o teste apresenta resultado IgM e IgG negativo quando mostra valores entre 0-22, indeterminado entre 23-27 e positivo maior ou igual a 28.

Eventuais reações cruzadas com antígenos de dengue, chikungunya e febre amarela podem ocorrer. Essas reações foram minimizadas com a posterior realização de qRT-PCR.

Extração do RNA viral

O sangue total foi extraído pelo kit QIAamp Viral RNA Mini Kit (Cat# 52906 Qiagen), seguindo o protocolo descrito pelo fabricante. A técnica foi realizada da seguinte forma: 140µL de cada amostra foram incubados por 10 min à temperatura ambiente juntamente com 560µL do tampão de lise AVL e 5,6 µL do carreador de RNA. Ao término do tempo, 560µL de etanol absoluto foram adicionados. A solução obtida foi homogeneizada, aplicada à coluna de sílica fornecida pelo kit (em duas vezes de 630µL) e centrifugada. Posteriormente, as amostras foram lavadas com os tampões AW1 e AW2. O RNA retido na coluna foi eluído com 60µL de tampão AVE.

Os fragmentos de placenta foram macerados em 300 µl de RNAlater (Cat#AM7021 Invitrogen) com o auxílio de gral com pistilo de porcelana e posteriormente centrifugados por 15min a 6000 RPM. O sobrenadante foi retirado e utilizado para a extração do RNA viral, também pelo kit QIAamp Viral RNA Mini Kit (Cat# 52906 Qiagen). Os RNAs extraídos foram submetidos a qRT-PCR descrita a seguir.

Transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase em tempo real (qRT-PCR) para pesquisa do vírus Zika

A técnica de transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase em tempo real (qRT-PCR) (sistema TaqMan®) foi utilizada para a detecção do Zika vírus. Foi utilizado o protocolo de qRT-PCR descrito por Faye et al. (2013) no qual utiliza dois iniciadores consensuais forward e reverse (Zika_qRT_F e Zika_qRT_R) a 200 nM, complementares às sequências dos genes que codificam a proteína NS5 que é a mais conservada do gênero *Flavivirus* e a sonda (Zika_qRT_P) a 125nM (Quadro 2).

Tipo de oligonucleotídeo (sentido)	Sentido da sequência (5' – 3')	Posição no genoma
Primer Zika_qRT_F (+)	AARTACACATACCARAACAAAGTG GT	9271–9297
Primer Zika_qRT_R (-)	TCCRCTCCCYCTYTGGTCTTG	9352–9373
Sonda Zika_qRT_P	FAM-CTYAGACCAGCTGAAR-BBQ	9304–9320

Quadro 2. Relação dos oligonucleotídeos iniciadores utilizados na transcrição reversa seguida da reação em cadeia pela polimerase em tempo real (qRT-PCR) para detecção do Zika vírus (Y = T ou C, R = A ou G).

Fonte: (FAYE et al., 2013).

A mistura de reagentes para a reação da qRT-PCR foi realizada para cada amostra estudada da seguinte forma: em uma placa de 96 poços (AppliedBiosystems®) foram adicionados 2,5µL do TaqMan FAST 1-Step Master Mix (2x) (AppliedBiosystems, Foster City, Usa), 0,2µL (200nM) do primer Zika_qRT_F (Invitrogen, USA), 0,2µL (200nM) do primer Zika_qRT_R (Invitrogen, USA), 0,2µL (125nM) da sonda Zika_qRT_P (AppliedBiosystems®) e 1,9µL de água livre de nucleases (Promega, Madison, USA). Após a preparação desses 5 µL de mistura para a reação, foram alíquotados 5 µL do RNA previamente extraído. A Placa de 96 poços foi levada ao equipamento ABI Prism 7500 Fast (AppliedBiosystems®) e a reação ocorreu de acordo com os seguintes parâmetros de

termociclagem: 1 ciclo para ativação enzimática (50°C por 5 minutos), 1 ciclo para a inativação enzimática e desnaturação inicial (95°C por 20 segundos), 40 ciclos de desnaturação (95°C por 15 segundos), anelamento (60°C por 1 minuto), extensão (60°C por 1 minuto) e um período de extensão final (60°C por 1 minuto).

Análise Estatística

Foi construído um banco de dados informatizado a partir dos dados sociodemográficos, clínicos e resultado dos testes laboratoriais das gestantes e do sangue do cordão umbilical dos recém-nascidos. O software utilizado foi SPSS versão 22.0. Os dados foram avaliados e foram transferidos para banco de dados, informatizado no *software* Epi-Info. Neste caso, utilizou-se nível de significância $p < 0,05$ com intervalos de confiança de 95%. A análise dos dados foi realizada pela aplicação de testes paramétricos para variáveis que possuam distribuição normal e, caso contrário, testes não-paramétricos.

Para as variáveis qualitativas entre os grupos utilizou-se Qui-quadrado e Exato de Fisher e OR (IC95%) e para análise multivariada foi realizada utilizando-se o modelo de Regressão Logística. Para as variáveis quantitativas de distribuição normal, foram calculadas; média, desvio padrão, valor mínima e máxima, ou mediana, e percentis 25 e 75 para as de distribuição assimétrica.

Para a avaliação da relação entre os dados epidemiológicos, clínicos, histopatológico e resultados laboratoriais do vírus Zika, foram utilizados o teste Qui-quadrado e o teste exato de Fisher, sendo os resultados considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$. Toda a análise estatística foi feita no programa GraphPad (GraphPad Software, CA, USA).

Aspectos Éticos

Este projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão com o CAAE: 56480316.4.0000.5086 e sob o Número do Parecer: 2.510.496. Para o desenvolvimento do projeto, as mulheres incluídas assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido ou Termo de Assentimento (Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares).

RESULTADOS

A amostra final foi de 197 mulheres. A maioria das gestantes (69,2%) eram de São Luís, entre 19-35 anos de idade (84,8%), com 10-15 anos de escolaridade (67,0%), da raça parda (64,0%), casadas (69,5%) e católicas (60,9%) (Tabela 1).

Em relação aos resultados experimentais, 57,4% das mulheres possuíam IgM não reagente e IgG reagente em relação ao teste rápido. Das 197 amostras de sangue total do cordão umbilical, o Zika vírus foi identificado em 3 (1,5%). Dos 197 fragmentos de placenta estudados, o ZIKV foi identificado em 9 (4,6%) (Tabela 2).

A tabela 3 mostra os dados relacionados a qualidade do pré-natal tanto nas gestantes RT-PCR positiva para o vírus Zika, como nas que apresentaram resultado negativo.

A tabela 4 mostra as gestantes que realizaram as sorologias para TORCH (Toxoplasmose, Rubéola e Citomegalovírus) durante o pré-natal, comparando as gestantes RT-PCR positiva para o Zika Vírus na placenta e as que apresentaram resultado negativo.

DISCUSSÃO

Os resultados dessa pesquisa revelaram que houve predomínio de gestantes entre 19 e 35 anos, correspondendo a 84,8% das participantes, um dado relevante referente a esta variável foi o fato de

10,7% das participantes eram adolescentes, ou seja estavam na faixa etária entre menor ou igual a 18 anos e 4,6% na etária acima de 36 anos.

No estudo encontrou-se uma taxa maior de gravidez na adolescência maior do que taxa encontrada nacionalmente, que segundo a Organização Mundial de Saúde (2018) é de 6,84%. Segundo o Ministério da Saúde, grávidas com idade menor do que 15 anos e maior do que 35 anos, representa um fator de risco para gestação. E a gravidez na adolescência na faixa etária de 15 a 19 anos, não deve ser tratada pelos profissionais do mesmo modo que adultos, por ainda estarem em crescimento e desenvolvimento biopsicossocial (BRASIL, 2012).

Grande parte das gestantes da pesquisa se autodeclararam de etnia parda (64%). Os resultados desta pesquisa são parecidos ao do estudo realizado por Costa et al. (2013) para avaliar as características do atendimento pré-natal, visto que obteve como resultados, faixa etária entre 18 e 40 anos e predominância de gestantes que se autodeclararam parda (60,9%).

No que se refere a escolaridade grande parte das gestantes desta pesquisa, possuem 10 a 15 anos de estudo (67%). O fato de 67% das gestantes possuírem um bom nível escolaridade pode favorecer o início precoce do pré-natal.

Os dados desta pesquisa divergem dos resultados encontrados no estudo de Gonzaga et al., (2016), realizado para avaliar a atenção pré-natal e fatores de risco associados, onde 51% das participantes tinham até 8 anos de estudo. A baixa escolaridade coloca as gestantes em desvantagem de recursos materiais, apoio social e é um fator de risco obstétrico. Acredita-se que essa divergência possa ser explicada pelo fato da pesquisa ter sido realizada na capital do estado e a maioria das gestantes terem sua procedência do referido local.

Em relação ao estado civil 69,5% das gestantes da pesquisa vivem em união conjugal, sendo assim a maioria das gestantes possuem um parceiro. Durante o período gestacional a presença de um parceiro é extremamente importante, visto as mudanças fisiológicas, as angústias, os medos, a ansiedade e as dúvidas geradas durante este período. O parceiro, nesta fase, proporciona esse apoio psicológico, além disso a sua participação durante o pré-natal, parto e pós- parto, favorece o bem-estar materno e neonatal (SOUZA et al., 2013).

No que tange à variável religião, houve maior frequência de adeptas à religião católica, seguida por mulheres que informaram ser evangélicas. Esses resultados são semelhantes aos encontrados por pesquisadores de Juiz de Fora, onde também houve predominância de católicas entre as gestantes estudadas (SILVA et al., 2010).

Neste estudo, as gestantes encontravam-se assintomáticas e nenhum dos recém nascidos apresentou malformações do Sistema Nervoso Central (SNC) e/ou alterações psicomotoras ao nascimento. No entanto, encontramos a presença de sorologia IgG positiva para o Zika vírus em 59,4% das gestantes, o que se torna um dado relevante, pois em um estudo realizado pelo Centro de Controle de Doenças da União Europeia, relatou que a Polinésia Francesa notificou um aumento incomum de pelo menos 17 casos de malformações do Sistema Nervoso Central em fetos e recém-nascidos durante os anos de 2014-2015, coincidindo com o Surto de Zika vírus nas ilhas desse território. Nenhuma das gestantes relatava sinais de infecção pelo vírus, mas em quatro testadas foram encontrados anticorpos (IgG) para flavivírus em sorologia, sugerindo infecção prévia (ECDC, 2015).

Em relação ao resultado encontrado para RT-PCR para o vírus Zika encontrou-se resultado positivo em 9 das 197 gestantes que participaram da pesquisa, o que corresponde a 4,6%. Esse valor é divergente do encontrado por Brasil et al. (2016), que encontrou o vírus em 53% das gestantes do seu estudo. Esse fato pode ter ocorrido pelo fato da desta pesquisa ter coletado o material no ano de 2018 e com mulheres assintomáticas, enquanto a pesquisa desenvolvida pela mesma e seu grupo ter ocorrido entre 2015 e 2016 em gestantes com sintomas clínicos compatíveis com Zika.

O acesso à assistência pré-natal é considerado fundamental para que a gestação transcorra sem problemas tanto para a mãe quanto para o filho (BRASIL, 2012).

No estudo encontrou-se uma prevalência de 72,5% de gravidez não planejada e 96,4% de gravidez aceita. Esses dados são semelhantes aos encontrados por Coelho et al., (2012) que encontrou uma prevalência de 66,5% de gravidez referida como não planejada. Um dado relevante é que entre as mulheres que disseram não ter aceitado a gravidez uma delas apresentou o resultado da RT-PCR positiva para o ZIKV, o que reforça a importância de uma assistência pré-natal de qualidade.

Apesar da maioria das gestantes 54,8% terem realizado seis ou mais consultas e 48,7 % iniciarem o pré-natal ainda no primeiro trimestre, 45,2% das gestantes realizaram menos de seis consultas pré-natal, sendo observada a necessidade dos profissionais de saúde estimularem o início precoce desta assistência.

Uma assistência pré-natal de qualidade deve prever consultas regulares, com início precoce, visando oferecer oportunidade para assegurar a saúde da futura mãe e de seu bebê. Segundo os parâmetros do Programa de Humanização do Pré-Natal e Nascimento (PHPN) do Ministério da Saúde, uma assistência pré-natal de qualidade prevê que realização da primeira consulta de pré-natal deve ocorrer até 120 dias, sendo aconselhável a realização de seis consultas, no mínimo, preferencialmente, uma no primeiro trimestre, duas no segundo trimestre e três no terceiro trimestre da gestação. As consultas devem ser mensais até 28 semanas, quinzenais entre 28 e 36 semanas e semanal de 36 a 41 semanas (BRASIL, 2012).

A presente pesquisa apresenta valores inferior aos encontrados no estudo de Paris, Pelosso e Martins (2013), que avaliou a qualidade da assistência pré-natal, constatou adequação segundo os critérios mínimos do PHPN onde a maioria das gestantes (91,9%) realizaram seis ou mais consultas.

No estudo de Silva et. al. (2013), realizado para avaliar o pré-natal na atenção primária do município de João Pessoa. Os percentuais encontrados em relação ao início do pré-natal e a realização de no mínimo seis consultas pré-natal, também foram bastante significativos e divergentes aos desta pesquisa, onde grande parte das gestantes iniciou o pré-natal ainda no primeiro trimestre de gestação 83,6% e 89,9% destas gestantes realizaram pelo menos seis consultas de pré-natal.

De acordo com o Ministério da Saúde, a realização de Sorologia para Toxoplasmose IgG e IgM deve está incluída nos exames de rotina do pré-natal e sua realização será facilitada através da Rede Cegonha (BRASIL, 2012). No estudo encontrou-se que entre as gestantes, 34,5% realizaram a sorologia no 1º trimestre; 37% no 2º trimestre e 16,7% no 3º trimestre. Esse dado nos mostra que exista uma falha na assistência pré-natal, pois menos da metade das gestantes realizaram o exame, por um início tardio de pré-natal e/ou falha de seguimento. Além disso, sabe-se que a Toxoplasmose é uma das doenças que quando não diagnosticadas e se diagnosticada, mas não receber o tratamento adequado pode evoluir para microcefalia.

O trabalho apresentou algumas limitações quanto algumas dificuldades para coleta do material biológico e como ponto forte ressalta-se o fato de ser o primeiro trabalho envolvendo a pesquisa do ZIKV em gestantes assintomáticas no estado do Maranhão.

CONCLUSÕES

Os resultados do estudo apontam que os cuidados às gestantes detectaram o vírus Zika na placenta e cordão umbilical, em mulheres sem evidência de manifestações clínicas; Esses dados sugerem que a placenta pode ser um importante sítio de replicação e persistência do ZIKV; cuidados aos recém nascidos foram ofertados através dos exames de RT-PCR realizados nas mães; presença do ZIKV em sangue de cordão não foi relacionado com alterações morfológicas e/ou psicomotoras no recém nascido; a assistência pré-natal revelou que metade das gestantes realizou 6 ou mais consultas e menos da metade iniciou o pré-natal no primeiro trimestre e o exame das sorologias para TORCH não foi realizado por todas às gestantes que apresentaram RTPCR positivo em placenta para o ZIKV.

AGRADECIMENTOS

Esta pesquisa recebeu fomento pela Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA). PPSUS - PESQUISA PARA O SUS: GESTÃO COMPARTILHADA EM SAÚDE - Edital: 008/2016 PPSUS.

Referências

- AYLLÓN, T.; CAMPOS, R.M.; BRASIL, P.; MORONE, F.C.; CÂMARA, D.C.P.; MEIRA, G.L.S. et al. Early evidence for Zika virus circulation among *Aedes aegypti* mosquitoes, Rio de Janeiro, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2017 Aug;23(8):1411-1412.
- BARJAS-CASTRO, M.L.; ANGERAMI, R.N.; CUNHA, M.S.; SUZUKI, A.; NOGUEIRA, J.S.; ROCCO, I.M. et al. Probable transfusion-transmitted zika virus in Brazil: transfusion-transmitted zika virus. *Transfusion*, v. 56, n. 7, p. 1684-1688, 2016.
- BRASIL, P.; PEREIRA, J.P.JR.; MOREIRA, M.E.; RIBEIRO NOGUEIRA, R.M.; DAMASCENO, L.; WAKIMOTO, M. Zika Virus Infection in Pregnant Women in Rio de Janeiro. *N Engl J Med.* 2016 Dec 15;375(24):2321-2334.
- BRASIL. Ministério da Saúde (2018). *Boletim epidemiológico 59* (Secretaria de Vigilância em Saúde | Ministério da Saúde).
- BRASIL. Ministério da Saúde. *Atenção ao pré-natal de baixo risco*. Brasília: Ministério da Saúde, 2012. (Cadernos de Atenção Básica, 32)
- BROOKS, R.B.; CARLOS, M.P.; MYERS, R.A.; WHITE, M.G.; BOBO-LENOCI, T.; APLAN, D. et al. Likely sexual transmission of zika virus from a man with no symptoms of infection. *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)*, Maryland, v. 65, n. 34, p. 915-916, 2016.
- COELHO, E.A.C.; ANDRADE, M.L.S.; VITORIANO, L.V.T.; SOUZA, J.J.; SILVA, D.O.; GUSMÃO, M.E.N. et al. Association between unplanned pregnancy and the socioeconomic context of women in the area of family health. *Acta paul enferm.* 2012; 25(3): 415-22.
- COSTA, C.S.C.; VILA, V.S.C.; RODRIGUES, F.M.; MARTINS, C.A.; PINHO, L.M.O. Característica do atendimento pré-natal na rede básica de saúde. *Revista Eletrônica de Enfermagem Online*, abr.-jun. 2013, v. 15, n. 2, p. 516-522.
- DICK, G.W.; KITCHEN, S.F.; HADDOW, A.J. 1952. Zika virus. I. Isolations and serological specificity. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 46, 509–520.
- D'ORTENZIO, E.; MATHERON, S.; YAZDANPANAH, Y.; DE LAMBALLERIE, X.; HUBERT, B.; PIORKOWSKI, G. et al. Evidence of Sexual Transmission of Zika Virus. *New England Journal of Medicine*, v. 22, n. 374, p. 2195-2198, 2016.
- ECDC. RAPID RISK ASSESSMENT. Microcephaly in Brazil potentially linked to the Zika virus epidemic – 24, November 2015. Stockholm: Rapid Risk Assessment; 2015. Disponível em: <<http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/zika-virusamericas-association-with-microcephaly-rapid-risk-assessment.pdf>>. Acesso em: 16 de Fev. 2019.
- FARIA, N.R.; AZEVEDO RDO, S.; KRAEMER, M.U.; SOUZA, R.; CUNHA, M.S.; HILL, S.C. et al. 2016. Zika virus in the Americas: early epidemiological and genetic findings. *Science* 352, 345–349.
- FAYE, O et al. Quantitative realtime PCR detection of Zika virus and evaluation with field-caught mosquitoes. *Virology Journal*, [S.1.], v.10, n. 1, p. 311, 2013.

- GONZAGA, I. C. A.; SANTOS, S.L.D.; SILVA, A.R.V.; CAMPELO, V. Atenção pré-natal e fatores de risco associados à prematuridade e baixo peso ao nascer em capital do nordeste brasileiro. *Ciência & Saúde Coletiva*, 21(6):1965-1974, 2016.
- HAUG, C.J.; KIENY, M.P.; MURGUE, B. 2016. The Zika Challenge. *N Engl J Med*. 374:1801-1803.
- MUSSO, D.; NHAN, T.; ROBIN, E.; ROCHE, C.; BIERLAIRE, D.; ZISOU, K. et al. 2014. Potential for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during an outbreak in French Polynesia, November 2013 to February 2014. *Euro Surveill*. 19:20761. 2014.
- MUSSO, D.; RICHARD, V.; TEISSIER, A.; STONE, M.; LANTERI, M.C.; LATONI, G. et al. Detection of ZIKV RNA in semen of asymptomatic blood donors. *Clinical Microbiology and Infection*. 2017. 23(12):1001.e1-1001.e3. doi: 10.1016/j.cmi.2017.07.006.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Taxa de gravidez adolescente no Brasil está acima da média latino-americana e caribenha. Publicado em 28/02/2018. Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/taxa-de-gravidez-adolescente-no-brasil-esta-acima-da-media-latino-americana-e-caribenha/>> Acessado em: 16 fev 2019.
- PARIS, G. F.; PELOSSO, S. M.; MARTINS, P. M. Qualidade da assistência pré-natal nos serviços públicos e privados. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2013; 35(10):447-52.
- PETERSEN, L.R.; JAMIESON, D.J.; POWERS, A.M.; HONEIN, M.A. Zika virus. *New England Journal of Medicine*, v. 374, n. 16, p. 1552-1563, 2016.
- RODRIGUEZ-BARRAQUER, I.; COSTA, F.; NASCIMENTO, E.J.M.; NERY JÚNIOR, N.; CASTANHA, P.M.S.; SACRAMENTO, G.A. et al. Impact of preexisting dengue immunity on Zika virus emergence in a dengue endemic region. *Science*. 363, 607–610, 2019.
- SILVA, C.S.; RONZANI, T.M.; FURTADO, E.F.; ALIANE, P.P.; ALMEIDA, A.M. Relação entre prática religiosa, uso de álcool e transtornos psiquiátricos em gestantes. *Rev Psiq Clín*. 2010;37(4):152-6.
- SILVA, E.P.; LIMA, R.T.; FERREIRA, N.L.S.; CARVALHO E COSTA, M.J. Pré-natal na atenção primária do município de João Pessoa-PB: caracterização de serviços e usuárias. *Rev. Bras. Saúde Matern. Infant.*, Recife, 13 (1): 29-30 37 jan. / mar., 2013.
- SOUZA, N.A.; QUEIROZ, L.L.C.; QUEIROZ, R.C.C.S.; RIBEIRO, T.S.F.; FONSECA, M.S.S. Perfil epidemiológico das gestantes atendidas na consulta de pré-natal de uma Unidade Básica de Saúde em São Luís-Ma. *Rev. Ciênc. Saúde*, v.15, n. 1, p. 28-38, jan-jun, 2013
- STAPLES, J.E.; DZIUBAN, E.J.; FISCHER, M.; CRAGAN, J.D.; RASMUSSEN, S.A.; CANNON, M.J. et al. 2016. Interim guidelines for the evaluation and testing of infants with possible congenital Zika virus infection—United States, *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 65:63–67. 2016.
- WALKER, C.L.; LITTLE, M.E.; ROBY, J.A.; ARMISTEAD, B.; GALE, M.JR.; RAJAGOPAL, L. et al. 2018. Zika virus and the nonmicrocephalic fetus: why we should still worry. *American Journal of Obstetrics & Gynecology*, Volume 220, Issue 1, 45 – 56.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características sociodemográficas das gestantes expostas ao Zika Vírus no período de abril de 2017 a junho de 2018, São Luís-Maranhão.

Variáveis	N	%
Pocedência		
São Luís	124	62,9
Outros municípios	63	37,1
Total	197	100
Escolaridade (anos)		
0-4	1	0,5
5-9	64	32,5
10-15	132	67,0
Total	197	100
Idade		
≤18	21	10,7
19-35	167	84,8
≥36	9	4,6
Total	197	100
Estado Civil		
Solteira	60	30,5
União conjugal	137	69,5
Total	197	100
Raça		
Branca	23	11,7
Negra	48	24,4
Parda	126	64,0
Total	197	100
Número de filhos		
0	120	10,2
1-2	150	76,1
3-4	17	8,6
5	10	5,1
Total	197	100
Local de moradia		
Zona Rural	16	8,1
Zona Urbana	181	91,9
Total	197	100
Religião atual		
Católica	120	60,9
Evangélica	45	22,8
Nenhuma	22	11,2
Outras	10	5,1
Total	197	100

Tabela 2. Resultado dos testes de biologia molecular realizados nas gestantes expostas ao Zika Vírus no período de abril de 2017 a junho de 2018, São Luís-Maranhão.

Variáveis	N	%
Teste Rápido		
IgM negativo – IgG positivo	113	57,4
IgM negativo – IgG negativo	78	39,6
IgM positivo – IgG positivo	4	2,0
IgM positivo – IgG negativo	2	1,0
Total	197	100
RT-PCR do cordão umbilical		
Positiva	3	1,5
Negativa	194	98,5
Total	197	100
RT-PCR da placenta		
Positiva	9	4,6
Negativa	188	95,6
Total	197	100

Tabela 3: RT-PCR - placenta com cruzamentos para avaliação da qualidade do pré-natal e Valor-P do Teste Qui-Quadrado.

		Positiva	Negativa	Total	Positiva	Negativa	Total	Valor-P
		9	188	197	4,6	95,4	100,0	
Gravidez planejada	não	6	137	143	3,0	69,5	72,5	0,7077
	sim	3	51	54	1,5	25,9	27,4	
Gravidez aceita	não	1	6	7	0,5	3,0	3,6	0,2829
	sim	8	182	190	4,1	92,4	96,4	
Cartão	não	2	9	11	1,0	4,6	5,6	0,0824
	sim	7	179	186	3,6	90,9	94,4	
Cartão preenchido	não	6	98	104	3,0	49,7	52,8	0,5040
	sim	3	90	93	1,5	45,7	47,2	
Número de consultas	>= 6	5	103	108	2,5	52,3	54,8	1,0000
	< 6	4	85	89	2,0	43,1	45,2	
Idade gestacional da 1ª consulta	1º trim	4	92	96	2,0	46,7	48,7	1,0000
	2º trim	1	43	44	0,5	21,8	22,3	
	3º trim	1	7	8	0,5	3,6	4,1	
	S/ dados	3	46	49	1,5	23,4	24,9	
Suplementação sulfato ferroso 1º trimestre	não	6	75	81	3,0	38,1	41,1	0,1647
	sim	3	113	116	1,5	57,4	58,9	
Suplementação sulfato ferroso 2º trimestre	não	5	63	68	2,5	32,0	34,5	0,2797
	sim	4	125	129	2,0	63,5	65,5	
Suplementação	não	5	64	69	2,5	32,5	35,0	0,2819

		Positiva	Negativa	Total	Positiva	Negativa	Total	Valor-P
sulfato ferroso 3º trimestre	sim	4	124	128	2,0	62,9	65,0	
Suplementação ac. Fólico 1º trimestre	não	6	76	82	3,0	38,6	41,6	0,1674
	sim	3	112	115	1,5	56,9	58,4	
Suplementação ac. Fólico 2º trimestre	não	7	93	100	3,6	47,2	50,8	0,1700
	sim	2	95	97	1,0	48,2	49,2	
Suplementação ac. Fólico 3º trimestre	não	7	115	122	3,6	58,4	61,9	0,4869
	sim	2	73	75	1,0	37,1	38,1	
Status vacinal tétano 1º dose	não	4	55	59	2,0	27,9	29,9	0,4560
	sim	5	133	138	2,5	67,5	70,1	
Status vacinal tétano 2º dose	não	4	69	73	2,0	35,0	37,1	0,7293
	sim	5	118	123	2,5	59,9	62,4	
Status vacinal tétano 3º dose	não	4	86	90	2,0	43,7	45,7	1,0000
	sim	5	102	107	2,5	51,8	54,3	
Status vacinal tétano reforço	não	7	149	156	3,6	75,6	79,2	1,0000
	sim	2	39	41	1,0	19,8	20,8	
Status vacinal hepatite 1º dose	não	3	52	55	1,5	26,4	27,9	0,7115
	sim	6	136	142	3,0	69,0	72,1	
Status vacinal hepatite 2º dose	não	3	58	61	1,5	29,4	31,0	1,0000
	sim	6	130	136	3,0	66,0	69,0	
Status vacinal hepatite 3º dose	não	3	81	84	1,5	41,1	42,6	0,7353
	sim	6	107	113	3,0	54,3	57,4	
Status vacinal influenza	não	3	65	68	1,5	33,0	34,5	1,0000
	sim	6	123	129	3,0	62,4	65,5	

Tabela 4: RTPCR - placenta com cruzamentos para avaliação da realização de sorologias durante o pré-natal e Valor-P do Teste Qui-Quadrado.

Sorologias		RT-PCR Placenta						
		Positiva	Negativa	Total (N)	Positiva	Negativa	Total (%)	Valor-P
Toxo IgG 1º	Sim	2	65	67	1,0	33,5	34,5	0,427
	Não	7	123	130	3,5	62,0	65,5	
Toxo IgM 1º	Sim	2	65	67	1,0	33,5	34,5	0,427
	Não	7	123	130	3,0	62,5	65,5	
CMV IgG	Sim	0	17	17	0,0	8,6	8,6	0,345
	Não	9	171	180	4,5	86,9	91,4	

Sorologias		RT-PCR Placenta						
		Positiva	Negativa	Total (N)	Positiva	Negativa	Total (%)	Valor- P
CMV IgM	Sim	0	17	17	0,0	8,6	8,6	0,345
	Não	9	171	180	4,5	86,9	91,4	
RUB IgG	Sim	0	20	20	0,0	10,2	10,2	0,302
	Não	9	168	177	4,5	85,3	89,8	
RUB IgM	Sim	0	20	20	0,0	10,2	10,2	0,302
	Não	9	168	177	4,5	85,3	89,8	
Toxo IgG 2°	Sim	3	70	73	1,5	35,5	37,0	0,813
	Não	6	118	124	3,0	60,0	63,0	
Toxo IgM 2°	Sim	3	70	73	1,5	35,5	37,0	0,813
	Não	6	118	124	3,0	60,0	63,0	
Toxo IgG 3°	Sim	1	32	33	0,5	16,2	16,7	0,643
	Não	8	156	164	4,1	79,2	83,3	
Toxo IgM 3°	Sim	1	33	33	0,5	16,2	16,7	0,643
	Não	8	155	164	4,1	79,2	83,3	

Legenda: SIM = Realizou exame laboratorial
 NÃO = Não realizou exame laboratorial
 TOXO: Toxoplasmose
 CMV: Citomegalovírus
 RUB: Rubéola

7 CONCLUSÕES

Os resultados do estudo apontam que os cuidados às gestantes detectaram o vírus Zika na placenta e cordão umbilical, em mulheres sem evidência de manifestações clínicas.

Esses dados sugerem que a placenta pode ser um importante sítio de replicação e persistência do ZIKV.

Cuidados aos recém nascidos foram ofertados através dos exames de RT-PCR realizados nas mães.

Presença do ZIKV em sangue de cordão não foi relacionado com alterações morfológicas e/ou psicomotoras no recém nascido.

A assistência pré-natal revelou que metade das gestantes realizou 6 ou mais consultas e menos da metade iniciou o pré-natal no primeiro trimestre.

O exame das sorologias para TORCH não foi realizado por todas às gestantes que apresentaram RTPCR positivo em placenta para o ZIKV.

REFERÊNCIAS

- ABBASI, A. N. Zika virus infection; vertical transmission and foetal congenital anomalies. **Journal of Ayub Medical College Abbottabad**, [S.l.], v. 28, n. 1, p. 1-2, 2016.
- ADIBI, J.J.; MARQUES, E.T.JR.; CARTUS, A.; BEIGI, R.H. Teratogenic effects of the Zika virus and the role of the placenta. **Lancet**, v. 387, n. 10027, p. 158790, Apr 2016. ISSN 1474547X. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26952548> >.
- ADIGA, R. Phylogenetic analysis of the NS5 gene of Zika virus. **J. Med. Virol.** 88, 1821–1826. 2016.
- AKOUA-KOFFI, C.; DIARRASSOUBA, S.; BENIE, V.B.; NGBICHI, J.M.; BOZOUA, T.; BOSSON, A. et al. Investigation surrounding a fatal case of yellow fever in Cote d'Ivoire in 1999. **Bull. Soc. Pathol. Exot.** 94, 227–230. 2001.
- ALDO, P.; YOU, Y.; SZIGETI, K.; HORVATH, T.L.; LINDENBACH, B.; MOR, G. "HSV-2 enhances ZIKV infection of the placenta and induces apoptosis in first-trimester trophoblast cells." **Am J Reprod Immunol** 76(5): 348-357. 2016.
- ALERA, M.T.; HERMANN, L.; TAC-AN, I.A.; KLUNGTHONG, C.; RUTVISUTTINUNT, W.; MANASATIENKIJ, W. et al. Zika virus infection, Philippines, 2012. **Emerg Infect Dis** 21:722–724. 2015. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2104.141707>.
- ALIOTA, M.; BASSIT, L.; BRADRICK, S.; COX, B.; GARCIA-BLANCO, M.; GAVEGNANO, C. et al. Zika in the Americas, year 2: What have we learned? What gaps remain? A report from the Global Virus Network. **Antivir. Res.** 144, 223–246, 2017.
- ALTSHULER, G.; RUSSELL, P. The human placental villitides: a review of chronic intrauterine infection. **Curr Top Pathol**, v. 60, p. 64112, 1975. ISSN 00702188. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/172296> >.
- ATKINSO, N.B.; HEARN, P.; AFROUGH, B.; LUMLEY, S.; CARTER, D.; AARONS, E.J. et al. Detection of Zika virus in semen. **Emerg Infect Dis.** 2016. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2205.160107>.
- AYLLÓN, T.; CAMPOS, R.M.; BRASIL, P.; MORONE, F.C.; CÂMARA, D.C.P.; MEIRA, G.L.S. et al. Early evidence for Zika virus circulation among *Aedes aegypti* mosquitoes, Rio de Janeiro, Brazil. **Emerg Infect Dis.** Aug;23(8):1411-1412. 2017.
- BALM, M.N.; LEE, C.K.; LEE, H.K.; CHIU, L.; KOAY, E.S.; TANG, J.W. A diagnostic polymerase chain reaction assay for Zika virus. **J Med Virol.** 84:15011505. 2012.
- BARCELLOS, C.; LOWE, R. Expansion of the dengue transmission area in Brazil: The role of climate and cities. **Trop. Med. Int. Health**, 19, 159–168. 2014.

BARJAS-CASTRO, M.L.; ANGERAMI, R.N.; CUNHA, M.S.; SUZUKI, A.; NOGUEIRA, J.S.; ROCCO, I.M. et al. Probable transfusion-transmitted zika virus in Brazil: transfusion-transmitted zika virus. **Transfusion**, v. 56, n. 7, p. 1684-1688, 2016.

BARRERA-CRUZ, A.; DÍAZ-RAMOS, R.D.; LOPEZ-MORALES, A.B.; GRAJALES-MUÑIZ, C.; VINIEGRA-OSORIO, A.; ZALDÍVAR-CERVERA, J.A. et al. Technical guidelines for the prevention, diagnosis and treatment of Zika virus infection. **Rev Med Inst Mex Seguro Soc.** 54:211-224. 2016.

BASARAB, M.; BOWMAN, C.; AARONS, E.J.; CROPLEY, I. Zika virus. **BMJ.** 352:17. 2016.

BAURAKIADES, E.; MARTINS, A.P.; VICTOR MORESCHI, N.; SOUZA, C.D.; ABUJAMRA, K.; SAITO, A.O. et al. "Histomorphometric and immunohistochemical analysis of infectious agents, T-cell subpopulations and inflammatory adhesion molecules in placentas from HIV-seropositive pregnant women." **Diagn Pathol.** 6: 101. 2011.

BAYER, A.; LENNEMANN, N.J.; OUYANG, Y.; BRAMLEY, J.C.; MOROSKY, S.; MARQUES, E.T.JR. et al. Type III Interferons Produced by Human Placental Trophoblasts Confer Protection against Zika Virus Infection. **Cell Host Microbe**, 2016.

BERTHET, N.; NAKOUNE, E.; KAMGANG, B.; SELEKON, B.; DESCORPS-DECLERE, S.; GESSAIN, A. et al. Molecular characterization of three Zika flaviviruses obtained from sylvatic mosquitoes in the Central African Republic. **Vector Borne Zoonotic Dis.** 14, 862–865. 2014.

BOFF, L. **Saber cuidar: ética do humano – compaixão pela terra.** 18 ed. Petrópolis, RJ: Vozes, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Atenção ao pré-natal de baixo risco.** Brasília: Ministério da Saúde, 2012. (Cadernos de Atenção Básica, 32)

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Nota Informativa no 01/2015 – COE S Microcefalias, de 17 de novembro de 2015. Procedimentos preliminares a serem adotados para a vigilância dos casos de microcefalia no Brasil. Brasília, 2015.

BRASIL. **PROTOCOLO DE VIGILÂNCIA E RESPOSTA À OCORRÊNCIA DE MICROCEFALIA E / OU ALTERAÇÕES DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL (SNC):** Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional ESPI. SAÚDE, M. D. <http://combateaedes.saude.gov.br/images/saladesituacao/MicrocefaliaProtocolodevigilanciaeresposta10mar201618h.pdf>: Secretária de Vigilância em Saúde. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Monitoramento dos casos de dengue, febre Chikungunya e febre aguda pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 15, 2017.** Boletim Epidemiológico. Brasília, 2017. Volume 48, nº 14 – 2017. ISSN 2358-9450.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Dengue, Chikungunya e Zika.** Available online: <http://combateaedes.saude.gov.br/en/epidemiological-situation>. 2017.

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. **Boletim epidemiológico 56** (Secretaria de Vigilância em Saúde | Ministério da Saúde). 2018.

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde. **Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e doença aguda pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 49 de 2018**. Volume 49, 2018.

Brinton, M.A., 2013. Replication cycle and molecular biology of the West Nile virus. **Viruses**. 6, 13–53.

BROOKS, R.B.; CARLOS, M.P.; MYERS, R.A.; WHITE, M.G.; BOBO-LENOCI, T.; APLAN, D. et al. Likely sexual transmission of zika virus from a man with no symptoms of infection. *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)*, **Maryland**, v. 65, n. 34, p. 915-916, 2016.

BRUST, K.B.; PRINCE, W.S.; FADER, R.C. Trouble in paradise. **IDCases** 1:95–96. 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.idcr.2014.10.009>.

BUATHONG, R.; HERMANN, L.; THAISOMBOONSUK, B.; RUTVISUTTINUNT, W.; KLUNGTHONG, C.; CHINNAWIROTPISAN, P. et al. Detection of Zika virus infection in Thailand, 2012–2014. **Am J Trop Med Hyg** 93:380–383. 2015. <http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.15-0022>.

BURKE, R.M.; PANDYA, P.; NASTOULI, E.; GOTHARD, P. Zika virus infection during pregnancy: what, where, and why? **Br J Gen Pract**. 66:122123. 2016.

BUTLER, D. Microcephaly surge in doubt. **Nature**, [S.l.], v. 530, p. 13-15, Feb. 2016.

CALVET, G.; AGUIAR, R.S.; MELO, A.S.O.; SAMPAIO, S.A.; DE FILIPPIS, I.; FABRI, A. et al. Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study. **The Lancet Infectious Diseases**, 16(6):653-660. 2016. doi: 10.1016/S1473-3099(16)00095-5.

CALVET, G.A.; FILIPPIS, A.M.B.; MENDONÇA, M.C.L.; SEQUEIRA, P.C.; SIQUEIRA, A.M.; VELOSO, V.G. et al. First detection of autochthonous Zika virus transmission in a HIV-infected patient in Rio de Janeiro, Brazil. **J Clin Virol** 74:1–3. 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcv.2015.11.014>.

CAMACHO, E.; PATERNINA-GOMEZ, M.; BLANCO, P.J.; OSORIO, P.E.; ALIOTA, M.T. 2016. Detection of autochthonous Zika virus transmission in Sincelejo, Colombia. **Emerg Infect Dis**. 22(5):927-9. 2016. doi: 10.3201/eid2205.160023..

- CAMPOS, G.S.; BANDEIRA, A.C.; SARDI, S.I. Zika virus outbreak, Bahia, Brazil. **Emerg Infect Dis** 21:1885–1886. 2015. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2110.150847>.
- CAMPOS, R.M.; CIRNE-SANTOS, C.; MEIRA, G.L.; SANTOS, L.L.; DE MENESES, M.D.; FRIEDRICH, J. et al. Prolonged detection of Zika virus RNA in urine samples during the ongoing Zika virus epidemic in Brazil. **J Clin Virol**. 77:69-70. 2016.
- CAO-LORMEAU, V.M.; ROCHE, C.; TEISSIER, A.; ROBIN, E.; BERRY, A.L.; MALLET, H.P. et al. Zika virus, French Polynesia, South Pacific, **Emerg Infect Dis** 20:1085–1086. 2013. 2014.
- CHECK HAYDEN, E. Zika highlights role of controversial fetal-tissue research. **Nature**. 532(7597): 16. 2016.
- CHEERAN, M.C.; LOKENSGARD, J.R.; SCHLEISS, M.R. Neuropathogenesis of congenital cytomegalovirus infection: disease mechanisms and prospects for intervention. **Clin Microbiol Rev**. Jan;22(1):99-126, Table of Contents. 2009. doi: 10.1128/CMR.00023-08
- COLLIÈRE, M. F. **Cuidar... a primeira arte da vida** (2º ed.). Loures: Lusociência. 2003
- COLOMA, J.; JAIN, R.; RAJASHANKAR, K.R.; GARCIA-SASTRE, A.; AGGARWAL, A.K. Structures of NS5 methyltransferase from Zika virus. **Cell Rep**. 16, 3097–3102. 2016.
- CORNET, M.; ROBIN, Y.; CHATEAU, R.; HEME, G.; ADAM, C. Isolement d'arbovirus au Senegal oriental a partir de moustiques (1972–1977) et note sur l'epidemiologie des virus transmis par les Aedes, en particulier du virus amaril. **ORSTOM Entomol. Med. Parasitol**. 17, 149–163. 1979.
- COX, B.D.; STANTON, R.A.; SCHINAZI, R.F. Predicting Zika virus structural biology: challenges and opportunities for intervention. **Antivir. Chem. Chemother**. 24, 118–126. 2015.
- COYNE, C. B.; H. M. LAZEAR. Zika virus - reigniting the TORCH. **Nat Rev Microbiol** 14(11): 707-715. 2016. doi: 10.1038/nrmicro.2016.125.
- DA SILVA, S.R.; GAO, S.J. Zika virus update II: recent development of animal models - proofs of association with human pathogenesis. **J Med Virol**. 88(10):1657-8. 2016.
- DE OLIVEIRA, W.K.; DE FRANÇA, G.V.A.; CARMO, E.H.; DUNCAN, B.B.; DE SOUZA KUCHENBECKER, R. et al. Infection-related microcephaly after the 2015 and 2016 zika virus outbreaks in Brazil: a surveillance-based analysis. **The Lancet**. 2017.
- DELANEY, A.; MAI, C.; SMOOTS, A.; CRAGAN, J.; ELLINGTON, S.; LANGLOIS, P. et al. Population-based surveillance of birth defects potentially related to Zika virus infection - 15 states and U.S. territories, 2016. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**. 26;67(3):91-96. 2018.
- DIALLO, D.; SALL, A.A.; DIAGNE, C.T.; FAYE, O.; FAYE, O.; BA, Y. et al. Zika virus emergence in mosquitoes in southeastern Senegal, **PLoS One**. 9, e109442. 2014. 2011.
- DICK, G.W.; KITCHEN, S.F.; HADDOW, A.J. Zika virus. I. Isolations and serological specificity. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg**. 46, 509–520. 1952.

D'ORTENZIO, E.; MATHERON, S.; YAZDANPANA, Y.; DE LAMBALLERIE, X.; HUBERT, B.; PIORKOWSKI, G. et al. Evidence of Sexual Transmission of Zika Virus. **New England Journal of Medicine**, v. 22, n. 374, p. 2195-2198, 2016.

DUPONT-ROUZEYROL, M.; BIRON, A.; O'CONNOR, O.; HUGUON, E.; DESCLOUX, E. Infectious Zika viral particles in breastmilk. **The Lancet**, v. 387, n. 10023, p. 1051, 2016.

DUPONT-ROUZEYROL, M.; O'CONNOR, O.; CALVEZ, E.; DAURES, M.; JOHN, M.; GRANGEON, J.P. et al. Co-infection with Zika and dengue viruses in 2 patients, New Caledonia, 2014. **Emerg. Infect. Dis.** 21, 381–382. 2015.

ECDC. European Center for Disease Prevention and Control. **Rapid risk assessment: Zika virus infection outbreak, Brazil and the Pacific region.** European Centre for Disease Prevention and Control, Stockholm, Sweden. 2015.
<http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/rapid-risk-assessment-Zika%20virus-south-america-Brazil-2015.pdf>.

ECDC. European Center for Disease Prevention and Control. **Zika virus disease epidemic: potential association with microcephaly and Guillain- Barré syndrome (first update).** European Centre for Disease Prevention and Control, Stockholm, Sweden. 2016.
<http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/rapid-risk-assessment-zika-virus-first-update-jan-2016.pdf>.

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

FALUYI, U.; OBADAREB, O.; ANEELA, S.; ONUGBUD, A.C.; MEDAVARAPU, S. 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.

FARIA, N.R.; AZEVEDO RDO, S.; KRAEMER, M.U.; SOUZA, R.; CUNHA, M.S.; HILL, S.C. et al. Zika virus in the Americas: early epidemiological and genetic findings. **Science** 352, 345–349. 2016.

FAUCI, A.S.; MORENS, D.M. Zika virus in the Americas - yet another Arbovirus threat. **N Engl J Med.** 374:601-604. 2016.

FAYE, O.; FAYE, O.; DIALLO, D.; DIALLO, M.; WEIDMANN, M.; SALL, A.A. Quantitative realtime PCR detection of Zika virus and evaluation with field-caught mosquitoes. **Virology** 10, 311. 2013.

FILIPPE, A.R.; MARTINS, C.M.; ROCHA, H. Laboratory infection with Zika virus after vaccination against yellow fever. **Arch Gesamte Virusforsch** 43:315–319. 1973. (In German.)

FLORES, M.S.; BURGESS, T.H.; RAJNIK, M. Zika virus: A primer for clinicians. **Cleveland Clinic Journal of Medicine**, [S.l.], v. 83, p. 261-270, 2016.

FONSECA, K.; MEATHERALL, B.; ZARRA, D.; DREBOT, M.; MACDONALD, J.;

PABBARAJU, K. et al. First case of Zika virus infection in a returning Canadian traveler. **Am J Trop Med Hyg.** 91:1035-1038. 2014.

FOY, B.D.; KOBYLINSKI, K.C.; CHILSON FOY, J.L.; BLITVICH, B.J.; TRAVASSOS, D.A.; ROSA, A.; HADDOW, A.D. et al. Probable nonvector-borne transmission of Zika virus, Colorado, USA. **Emerg Infect Dis** 17:880–882. 2011. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1705.101939>.

FRANK, C.; FABER, M.; STARK, K. Causal or not: applying the Bradford Hill aspects of evidence to the association between Zika virus and microcephaly. **EMBO Mol Med.** 8(4):305–7. 2016.

GATHERER, D.; KOHL, A. Zika virus: a previously slow pandemic spreads rapidly through the Americas. **J Gen Virol.** 97, 269273. 2016.

GAVEGNANO, C.; BASSIT, L.; COX, B.; HSIAO, H.M.; JOHNSON, E.; SUTHAR, M.; et al. Jak Inhibitors Modulate Production of Replication–Competent Zika virus in Human Hofbauer, Trophoblasts and Neuroblastoma cells. **Pathog Immun.** 2017, 2, 199–218.

GILI, J.A.; POLETTA, F.A.; GIMÉNEZ, L.G.; PAWLUK, M.S.; CAMPAÑA, H.; CASTILLA, E.E. et al. Descriptive analysis of high birth prevalence rate geographical clusters of congenital anomalies in South America. **Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.** v. 106, p. 257-266, 2016.

GOEIJENBIER, M.; SLOBBE, L.; VAN DER EIJK, A.; DE MENDONÇA MELO, M.; KOOPMANS, M.P.; REUSKEN, C.B. Zika virus and the current outbreak: an overview. **Netherlands J Med.** 74:104109. 2016.

GOO, L.; DEMASO, C.; PELC, R.; LEDGERWOOD, J.; GRAHAM, B.; KUHN, R. et al. The Zika virus envelope protein glycan loop regulates virion antigenicity. **Virology.** 515, 191–202. 2018.

GOURINAT, A.C.; O’CONNOR, O.; CALVEZ, E.; GOARANT, C.; DUPONT-ROUZEYROL, M. Detection of Zika virus in urine. **Emerg Infect Dis** 21:84–86. 2015. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2101.140894>.

GOVERO, J.; ESAKKY, P.; SCHEAFFER, S.; FERNANDEZ, E.; DRURY, A.; PLATT, D. et al. Zika virus infection damages the testes in mice. **Nature.** 540, 438–442. 2016.

GRARD, G.; CARON, M.; MOMBO, I.M.; NKOGHE, D.; ONDO, S.M. et al. Zika virus in Gabon (Central Africa)—2007: a new threat from *Aedes albopictus*? **PLoS Negl Trop Dis** 8:e2681. 2014. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0002681>.

HADDOW, A.D.; SCHUH, A.J.; YASUDA, C.Y.; KASPER, M.R.; HEANG, V.; HUY, R. et al. Genetic characterization of Zika virus strains: geographic expansion of the Asian lineage. **PLoS Negl Trop Dis.** 6:e1477. 2012.

HADDOW, A.J.; WILLIAMS, M.C.; WOODALL, J.P.; SIMPSON, D.I.; GOMA, L.K. Twelve isolations of Zika virus from *Aedes (Stegomyia) Africanus* (Theobald) taken in and above a Uganda forest. **Bull. World Health Organ.** 31, 57–69. 1964.

HAMEL, R.; DEJARNAC, O.; WICHIT, S.; EKCHARIYAWAT, P.; NEYRET, A.; LUPLERTLOP, N. et al. Biology of Zika Virus Infection in Human Skin Cells. **J. Virol.** 8880–8896. 2015.

HASTINGS, A.K.; YOCKEY, L.J.; JAGGER, B.W.; HWANG, J.; URAKI, R.; GAITSCH, H.F.; PARNELL, L.A. et al. TAM receptors are not required for Zika virus infection in mice. **Cell Rep.** 19, 558–568. 2017.

HAUG, C.J.; KIENY, M.P.; MURGUE, B. The Zika Challenge. **N Engl J Med.** 374:18011803. 2016.

HEANG, V.; YASUDA, C.Y.; SOVANN, L.; HADDOW, A.D.; TRAVASSOS, D.A.; ROSA, A.P.; TESH, R.B. et al. Zika virus infection, Cambodia, 2010. **Emerg Infect Dis** 18:349–351. 2010. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1802.111224>.

HEANG, V.; YASUDA, C.Y.; SOVANN, L.; HADDOW, A.D.; TRAVASSOS DA ROSA, A.P.; TESH, R.B. et al. Zika virus infection, Cambodia, 2010. **Emerg Infect Dis.** 18:349-351. 2012.

HENNESSEY, M.; FISCHER, M.; STAPLES, J.E. Zika virus spreads to new areas—region of the Americas, May 2015–January 2016. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep.** 65:55–58. 2016. <http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.mm6503e1>.

HUPPERTZ, B. The anatomy of the normal placenta. **J Clin Pathol.** v. 61, n. 12, p. 1296302, Dec 2008.

INTERGROWTH-21ST. **Sobre INTERGROWTH-21st.** c2009-2016. 2016. Disponível em: <<https://intergrowth21.tghn.org/about/sobre-intergrowth-21st-portuguese/>>.

IOOS, S.; MALLET, H.P.; LEPARC GOFFART, I.; GAUTHIER, V.; CARDOSO, T.; HERIDA, M. Current Zika virus epidemiology and recent epidemics. **Med Mal Infect.** 44:302–307. 2014.

JACOB, J.A. Researchers focus on solving the Zika riddles. **JAMA.** 315:1097-1099. 2016.

JAIN, R.; COLOMA, J.; GARCIA-SASTRE, A.; AGGARWAL, A.K. Structure of the NS3 helicase from Zika virus. **Nat. Struct. Mol. Biol.** 23, 752–754. 2016.

JURADO, K.A.; SIMONI, M.K.; TANG, Z.; URAKI, R.; HWANG, J.; HOUSEHOLDER, S. et al. Zika virus productively infects primary human placenta-specific macrophages. **JCI Insight.** Aug 18;1(13). pii: e88461. 2016.

KEIGHLEY, C.L.; SAUNDERSON, R.B.; KOK, J.; DWYER, D.E. Viral exanthems. **Curr Opin Infect Dis.** 28:139–150. 2015.

KIM, J.K.; KIM, J.M.; SONG, B.H.; YUN, S.I.; YUN, G.N.; BYUN, S.J. et al. Profiling of viral proteins expressed from the genomic RNA of Japanese encephalitis virus using a panel of 15 region-specific polyclonal rabbit antisera: implications for viral gene expression. **PLoS One.** 10, e0124318. 2015.

KORHONEN, E.M.; HUHTAMO, E.; SMURA, T.; KALLIO-KOKKO, H.; RAASSINA, M.; VAPALAHTI, O. Zika virus infection in a traveller returning from the Maldives, June 2015. **Euro Surveill**. 21. 2016. doi:10.2807/1560-7917.ES.2016.21.2.30107

KOSTYUCHENKO, V.A.; LIM, E.X.; ZHANG, S.; FIBRIANSAH, G.; NG, T.S.; OOI, J.S.; et al. Structure of the thermally stable Zika virus. **Nature** 533, 425–428. 2016.

KUMAR, A.; JOVEL, J.; LOPEZ-OROZCO, J.; LIMONTA, D.; AIRO, A.; HOU, S.; et al. Human Sertoli cells support high levels of Zika virus replication and persistence. **Sci. Rep.** 8, 5477. 2018.

KUTSUNA, S.; KATO, Y.; TAKASAKI, T.; MOI, M.L.; KOTAKI, A.; UEMERU, H. et al. Two cases of Zika fever imported from French Polynesia to Japan, December 2013 to January 2014. [corrected]. **Euro Surveill** 19:20683. 2014.
http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId_20683.

KWONG, J.C.; DRUCE, J.D.; LEDER, K. Zika virus infection acquired during brief travel to Indonesia. **Am J Trop Med Hyg** 89:516–517. 2013. <http://dx.doi.org/10.4269/ajtmh.13-0029>.

LANCIOTTI, R.S.; KOSOY, O.L.; LAVEN, J.J.; VELEZ, J.O.; LAMBERT, A.J.; JOHNSON, A.J. et al. Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. **Emerg Infect Dis** 14:1232–1239. 2008.
<http://dx.doi.org/10.3201/eid1408.080287>.

LANCIOTTI, R.S.; LAMBERT, A.J.; HOLODNIY, M.; SAAVEDRA, S.; SIGNOR LDEL, C. Phylogeny of Zika virus in Western Hemisphere, 2015. **Emerg Infect Dis**. 22(5):933-5. 2016. doi: 10.3201/eid2205.160065.

LEI, J.; HANSEN, G.; NITSCHKE, C.; KLEIN, C.D.; ZHANG, L.; HILGENFELD, R. Crystal structure of Zika virus NS2B-NS3 protease in complex with a boronate inhibitor. **Science** 353, 503–505. 2016.

LEUNG, G.H.; BAIRD, R.W.; DRUCE, J.; ANSTEY, N.M. Zika virus infection in Australia following a monkey bite in Indonesia. **Southeast Asian J Trop Med Public Health**. 46:460-464. 2015.

LI, C.; XU, D.; YE, Q.; HONG, S.; JIANG, Y.; LIU, X. et al. Zika virus disrupts neural progenitor development and leads to microcephaly in mice. **Cell Stem Cell**. 2016;19(1):120–6.

LIU, S.; DELALIO, L.; ISAKSON, B.; WANG, T. AXL-Mediated Productive Infection of Human Endothelial Cells by Zika Virus. **Circ. Res.** 119, 1183–1189. 2016.

LOPEZ-CAMELO, J. S.; ORIOLI, I. M.; CASTILLA, E. Documento ECLAMC Final: resumo e conclusões dos Documentos 1-5. Buenos Aires: **ECLAMC**. v. 3. 2015. Disponível em: <http://www.eclamc.org/descargas/6.DocumentoECLAMCFinalV3.docx>

LOWE, R.; BARCELLOS, C.; BRASIL, P.; CRUZ, O.G.; HONÓRIO, N.A.; KUPER, H. et al. The Zika Virus Epidemic in Brazil: From Discovery to Future Implications. **Int J Environ Res Public Health**. Jan 9;15(1). pii: E96. 2018. doi: 10.3390/ijerph15010096.

MACNAMARA, F.N. Zika virus: a report on three cases of human infection during an epidemic of jaundice in Nigeria. **Trans R Soc Trop Med Hyg.** 48:139–145. 1954. [http://dx.doi.org/10.1016/0035-9203\(54\)90006-1](http://dx.doi.org/10.1016/0035-9203(54)90006-1).

MARCHETTE, N.J.; GARCIA, R.; RUDNICK, A. Isolation of Zika virus from *Aedes aegypti* mosquitoes in Malaysia. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 18, 411–415. 1969.

MARTINES, R. B., J. BHATNAGAR, M. K. KEATING, L. SILVA-FLANNERY, A. MUEHLENBACHS, J. GARY, C. et al. "Notes from the Field: Evidence of Zika Virus Infection in Brain and Placental Tissues from Two Congenitally Infected Newborns and Two Fetal Losses--Brazil, 2015." **MMWR Morb Mortal Wkly Rep.** 19;65(6):159-60. 2016. doi: 10.15585/mmwr.mm6506e1.

MARTINES, R.B.; BHATNAGAR, J.; DE OLIVEIRA RAMOS, A.M.; DAVI, H.P.; IGLEZIAS, S.D.; KANAMURA, C.T. et al. Pathology of congenital Zika syndrome in Brazil: a case series. **Lancet.** 27;388(10047):898-904. 2016. doi: 10.1016/S0140-6736(16)30883-2.

MCCARTHY, M. Severe eye damage in infants with microcephaly is presumed to be due to Zika virus. **BMJ.** 352:i855, 2016.

MCCONKEY, C.A.; DELORME-AXFORD, E.; NICKERSON, C.A.; KIM, K.S.; SADOVSKY, Y.; BOYLE, J.P. et al. A threedimensional culture system recapitulates placental syncytiotrophoblast development and microbial resistance. **Sci Adv**, v. 2, n. 3, p. e1501462, Mar 2016. ISSN 23752548. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26973875> >.

MCCRAE, A.W.; KIRYA, B.G.,. Yellow fever and Zika virus epizootics and enzootics in Uganda. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** 76, 552–562. 1982

MEERTENS, L.; LABEAU, A.; DEJARNAC, O.; CIPRIANI, S.; SINIGAGLIA, L.; BONNET-MADIN, L. et al. Axl Mediates ZIKA Virus Entry in Human Glial Cells and Modulates Innate Immune Responses. **Cell Rep.** 2017, 18, 324–333.

MINER, J.J.; B. CAO, J.; GOVERO, A.; M. SMITH, E.; FERNANDEZ, O.H.; CABRERA, C. et al. "Zika Virus Infection during Pregnancy in Mice Causes Placental Damage and Fetal Demise." **Cell.** 165(5): 1081-1091. 2016b.

MINER, J.J.; SENE, A.; RICHNER, J.M.; SMITH, A.M.; SANTEFORD, A.; BAN, N. et al. Zika virus infection in mice causes panuveitis with shedding of virus in tears. **Cell Rep.** 16, 3208–3218. 2016a.

MIRANDA-FILHO, D.B.; MARTELLI, C.M.; XIMENES, R.A.; ARAÚJO, T.V.; ROCHA, M.A.; RAMOS, R.C. et al. Initial description of the presumed congenital Zika syndrome. **American Journal of Public Health**, v. 106, p. 598-600, 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.

MOORE, C.A.; STAPLES, J.E.; DOBYNS, W.B.; PESSOA, A.; VENTURA, C.V.; FONSECA, E.B. et al. Characterizing the Pattern of Anomalies in Congenital Zika Syndrome for Pediatric Clinicians. **JAMA Pediatrics**, [S.l.], v. 74, p. 1552-1563, 3 Nov. 2016.

- MOULIN, E.; SELBY, K.; CHERPILLOD, P.; KAISER, L.; BOILLAT-BLANCO, N. Simultaneous outbreaks of dengue, chikungunya and Zika virus infections: diagnosis challenge in a returning traveller with nonspecific febrile illness. **New Microbes New Infect.** 11:6-7. 2016.
- MUSSO, D. Zika virus transmission from French Polynesia to Brazil. **Emerg Infect Dis** 21:1887. 2015. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2110.151125>.
- MUSSO, D.; GUBLER, D. J. Zika Virus. 2016. **Clin Microb Rev**, 29, V.3., PP487-524.
- MUSSO, D.; NHAN, T.; ROBIN, E.; ROCHE, C.; BIERLAIRE, D.; ZISOU, K. et al. Potential for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during an outbreak in French Polynesia, November 2013 to February 2014. **Euro Surveill** 19:20761. 2014.
- MUSSO, D.; NILLES, E.J.; CAO-LORMEAU, V.M. Rapid spread of emerging Zika virus in the Pacific area. **Clin Microbiol Infect** 20:O595–O596. 2014. <http://dx.doi.org/10.1111/1469-0691.12707>.
- MUSSO, D.; RICHARD, V.; TEISSIER, A.; STONE, M.; LANTERI, M.C.; LATONI, G. et al. Detection of ZIKV RNA in semen of asymptomatic blood donors. **Clinical Microbiology and Infection**. 23(12):1001.e1-1001.e3. 2017. doi: 10.1016/j.cmi.2017.07.006.
- MUSSO, D.; ROCHE, C.; ROBIN, E.; NHAN, T.; TEISSIER, A.; CAO-LORMEAU, V.M. Potential sexual transmission of Zika virus. **Emerg Infect Dis**. 21:359-61. 2015.
- NHAN, T-X.; CAO-LORMEAU, V-M.; MUSSO, D. Les infections à virus Zika. Revue Francophone des Laboratoires, [S.l.], 2014, issue 461, p. 45-52, 2014.
- OEHLER, E.; WATRIN, L.; LARRE, P.; LEPARC-GOFFART, I.; LASTERE, S.; VALOUR, F. et al. Zika virus infection complicated by Guillain-Barre syndrome — case report, French Polynesia, December 2013. **Euro Surveill**. 19, 20720. 2014.
- OLIVEIRA MELO, A.S.; MALINGER, G.; XIMENES, R.; SZEJNFELD, P.O.; ALVES SAMPAIO, S.; BISPO DE FILIPPIS, A.M. Zika virus intrauterine infection causes fetal brain abnormality and microcephaly: tip of the iceberg? **Ultrasound Obstet Gynecol** 47:6–7. 2016. <http://dx.doi.org/10.1002/uog.15831>.
- OLSON, J.G.; KSIAZEK, T.G.; SUHANDIMAN, TRIWIBOWO. Zika virus, a cause of fever in central Java, Indonesia. **Trans R Soc Trop Med Hyg** 75:389–393. 1981. [http://dx.doi.org/10.1016/0035-9203\(81\)90100-0](http://dx.doi.org/10.1016/0035-9203(81)90100-0).
- OPAS. PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. 2015a. Epidemiological alert. Neurological syndrome, congenital malformations, and Zika virus infections Implications for public health in the Americas. Pan American Health Organization, Washington, DC.
- OPAS. PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. 2015b. Epidemiological update. Zika virus infection. Pan American Health Organization, Washington, DC. <http://www.paho.org/hq/index.php?option>

OPAS. PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for surveillance of Zika virus disease and its complications**. Washington, D.C, 2016. Disponível em: <http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/28405/9789275118948_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

ORDI, J.; ISMAIL, M.R.; VENTURA, P.J.; KAHIGWA, E.; HIRT, R.; CARDESA, A.; ALONSO, P.L. et al. Massive chronic intervillitis of the placenta associated with malaria infection. **Am J Surg Pathol**, v. 22, n. 8, p. 100611, Aug, 1998.

PAZ-BAILEY, G.; ROSENBERG, E.S.; DOYLE, K.; MUNOZ-JORDAN, J.; SANTIAGO, G.A.; KLEIN, L. et al. Persistence of Zika Virus in Body Fluids - Final Report. **N Engl J Med**. Feb 14;379(13):1234-1243. 2017.

PERSAUD, M.; MARTINEZ-LOPEZ, A.; BUFFONE, C.; PORCELLI, S.A.; DIAZ-GRIFFERO, F. Infection by Zika viruses requires the transmembrane protein AXL, endocytosis and low pH. **Virology**. 518, 301–312. 2018.

PETERSEN, L.R.; JAMIESON, D.J.; POWERS, A.M.; HONEIN, M.A. Zika virus. **New England Journal of Medicine**, v. 374, n. 16, p. 1552-1563, 2016.

PHOO, W.W.; LI, Y.; ZHANG, Z.; LEE, M.Y.; LOH, Y.R.; TAN, Y.B. et al. Structure of the NS2B-NS3 protease from Zika virus after self-cleavage. **Nat. Commun.** 7, 13410. 2016.

PINTO JUNIOR, V.L.; LUZ, K.; PARREIRA, R.; FERRINHO, P. Zika virus: a review to clinicians. **Acta Med Port**. 28:760-765. 2015.

PRISANT, N.; BUJAN, L.; BENICHO, H.; HAYOT, PIERRE-HUMBERT.; PAVILI, L.; LUREL, S. et al. Zika virus in the female genital tract. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 16, n. 9, p. 1000-1001, 2016. DOI:[https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)30193-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)30193-1)

ProMED-mail. 29 May 2013. **Zika virus-Canada ex Thailand**. ProMED-mail archive no. 20130529.1744108. <http://www.promedmail.org>. Accessed 12 September 2015.

ProMED-mail. 12 June 2015a. **Zika virus-Brazil (05)**. ProMED-mail archive no. 20150612.3431148. <http://www.promedmail.org>. Accessed 12 September 2015a.

ProMED-mail. 3 September 2015b. **Zika virus—Brazil (11)** (Alagoas). ProMED-mail archive no. 20150903.3621836. <http://www.promedmail.org>. Accessed 12 September 2015b.

ProMED-mail. 14 October 2015c. **Zika virus—Brazil (13)** (Mato Grosso, Alagoas). ProMED-mail archive no. 20151014.3714950. <http://www.promedmail.org>. Accessed 24 October 2015c.

ProMED-mail. 15 May 2015d. **Undiagnosed illness—Brazil (02)**: Zika virus confirmed. ProMED-mail archive no. 20150515.3364149. <http://www.promedmail.org>. Accessed 10 November 2015.

ProMED-mail. 19 June 2015e. **Zika virus—Brazil (06) (Bahia)**. ProMEDmail archive no. 20150619.3449500. <http://www.promedmail.org>. Accessed 1 February 2016.

ProMED-mail. 30 June 2015f. **Zika virus—Brazil (07)**. ProMED-mail archive no. 20150630.3473420. <http://www.promedmail.org>. Accessed 12 September 2015.

ProMED-mail. 21 September 2015g. **Zika virus Brazil (12)** (Mato Grosso). ProMED-mail archive no. 20150921.3660532. <http://www.promedmail.org>. Accessed 24 October 2015.

ProMED-mail. 12 June 2015h. **Zika virus—Brazil (05)**. ProMED-mail archive no. 20150612.3431148. <http://www.promedmail.org>. Accessed 12 September 2015.

ProMED-mail. 16 July 2015i. **Zika virus—Brazil (08)**. ProMED-mail archive no. 20150716.3513770. <http://www.promedmail.org>. Accessed 24 October 2015.

ProMED-mail. 30 August 2015j. **Zika virus—Brazil (10)** (Parana). ProMED-mail archive no. 20150830.3611318. <http://www.promedmail.org>. Accessed 12 September 2015.

ProMED-mail. 23 July 2015l. **Zika virus—Brazil (09)**: confirmed, Guatemala suspected. ProMED-mail archive no. 20150723.3531482. <http://www.promedmail.org>. Accessed 12 September 2015.

ProMED-mail. 8 June 2015m. **Zika virus—Brazil (04)** (Rio de Janeiro). ProMED-mail archive no. 20150608.3420363. <http://www.promedmail.org>. Accessed 12 September 2015.

ProMED-mail. 4 June 2015n. **Zika virus—Brazil (03)** (Roraima). ProMED-mail archive no. 20150604.3408349. <http://www.promedmail.org>. Accessed 12 September 2015.

ProMED-mail. 24 May 2015o. **Zika virus—Brazil (02)** (Sao Paulo). ProMED-mail archive no. 20150524.3382529. <http://www.promedmail.org>. Accessed 12 September 2015.

ProMED-mail. 8 January 2016. **Zika virus—Americas**. ProMED-mail archive no. 20160108.3921447. <http://www.promedmail.org>. Accessed 1 February 2016.

PYKE, A.T.; DALY, M.T.; CAMERON, J.N.; MOORE, P.R.; TAYLOR, C.T.; HEWITSON, G.R. et al. Imported Zika virus infection from the Cook Islands into Australia, 2014. **PLoS Curr** 6:ecurrents.outbreaks.4635a54dbffba2156fb2fd76dc49f65e. 2014. <http://dx.doi.org/10.1371/currents.outbreaks.4635a54dbffba2156fb2fd76dc49f65e>.

RABE, I.B.; STAPLES, J.E.; VILLANUEVA, J.; HUMMEL, K.B.; JOHNSON, J.A.; ROSE, L. et al. Interim Guidance for Interpretation of Zika Virus Antibody Test Results. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep** 65(21): 543-546. 2016.

RASMUSSEN, S.A.; JAMIESON, D.J.; HONEIN, M.A.; PETERSEN, L.R. Zika virus and birth defects - reviewing the evidence for causality. **New Engl J Med**. 374(20):1981–7. 2016.

RETALLACK, H.; DI LULLO, E.; ARIAS, C.; KNOPP, K.A.; LAURIE, M.T.; SANDOVAL-ESPINOSA, C.; . et al. Zika virus cell tropism in the developing human brain and inhibition by azithromycin. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 113, 14408–14413. 2016.

REYNOLDS, M.R.; JONES, A.M.; PETERSEN, E.E.; LEE, E.H.; RICE, M.E.; BINGHAM, A. et al. US Zika Pregnancy Registry Collaboration. Vital signs: update on Zika virus-associated

birth defects and evaluation of all US infants with congenital Zika virus exposure - US Zika Pregnancy Registry, 2016. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep.** Apr 7;66(13):366-373. 2017.

RICHARD, A.S.; SHIM, B.S.; KWON, Y.C.; ZHANG, R.; OTSUKA, Y.; SCHMITT, K. et al. AXL-dependent infection of human fetal endothelial cells distinguishes Zika virus from other pathogenic flaviviruses. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, 114, 2024–2029. 2017.

ROBINSON, N.; MAYORQUIN GALVAN, E.E.; ZAVALA TRUJILLO, I.G.; ZAVALA-CERNA, M.G. Congenital Zika syndrome: Pitfalls in the placental barrier. **Rev Med Virol**: e1985. 2018.

ROZÉ, B.; NAJIOULLAH, F.; FERGÉ, J.L.; APETSE, K.; BROUSTE, Y.; CESAIRE, R. et al. Zika virus detection in urine from patients with Guillain-Barré syndrome on Martinique, January 2016. **Euro Surveill.** 21(9):30154. 2016a. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.9.30154.,

ROZÉ, B.; NAJIOULLAH, F.; SIGNATE, A.; APETSE, K.; BROUSTE, Y.; GOURGOUDOU, S. et al. Zika virus detection in cerebrospinal fluid from two patients with encephalopathy, Martinique, February 2016. **Euro Surveill.** Apr 21;21(16). 2016b. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.16.30205.

RUSSELL, K.; OLIVER, S.E.; LEWIS, L.; BARFIELD, W.D.; CRAGAN, J.; MEANEY-DELMAN, D. et al. Update: Interim Guidance for the Evaluation and Management of Infants with Possible Congenital Zika Virus Infection - United States, August **Morbidity and Mortality Weekly Report**, [S.l.], v. 65, p. 870-878, 2016. 2016.

SAITOU, N.; NEI, M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. **Mol. Biol. Evol.** 4, 406–425. 1987.

SAIZ, J.-C.; VÁZQUEZ-CALVO, Á.; BLÁZQUEZ, A.B.; MERINO-RAMOS, T.; ESCRIBANO-ROMERO, E.; MARTÍN-ACEBES, M.A. Zika Virus: the Latest Newcomer. **Frontiers in Microbiology**, 7. 2016. doi: 10.3389/fmicb.2016.00496.

SAKKAS, H.; BOZIDIS, P.; GIANNAKOPOULOS, X.; SOFIKITIS, N.; PAPADOPOULOU, C. An Update on Sexual Transmission of Zika Virus. **Pathogens.** Aug 3;7(3). pii: E66. 2018.

SALVADOR, F.S.; FUJITA, D.M. Entry routes for Zika virus in Brazil after 2014 World Cup: new possibilities. **Travel Med Infect Dis** 14:49–51. 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tmaid.2015.10.004>.

SARNO, M.; SACRAMENTO, G.A.; KHOURI, R.; DO ROSÁRIO, M.S.; COSTA F, ARCHANJO G, et al. Zika virus infection and stillbirths: a case of hydrops fetalis, hydranencephaly and fetal demise. **PLOS Negl Trop Dis.** 10: e0004517. 2016.

SCHLEISS, M.R. Congenital cytomegalovirus infection: molecular mechanisms mediating viral pathogenesis. **Infect Disord Drug Targets** [Internet].11(5):449–65. 2011.

SERRUYA, S.J.; CECATTI, J.G.; LAGO, T.G. O Programa de Humanização no Pré- Natal e Nascimento do Ministério da Saúde no Brasil: resultados iniciais. **Cad Saude Publica**. 20(5):1281-1289. 2004.

SHAPIRO-MENDOZA, C.K.; RICE, M.E.; GALANG, R.R.; FULTON, A.C.; VANMALDEGHEM, K.; PRADO, M.V. et al. Pregnancy outcomes after maternal Zika virus infection during pregnancy - US territories, January 1, 2016-April 25, 2017. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**. Jun 16;66(23):615-621. 2017.

SHELBY, T.; BANERJEE, T.; ZEGAR, I.; SANTRA, S. Highly Sensitive, Engineered Magnetic Nanosensors to Investigate the Ambiguous Activity of Zika Virus and Binding Receptors. **Sci. Rep.** 7, 7377. 2017.

SHINOHARA, K.; KUTSUNA, S.; TAKASAKI, T.; MOI, M.L.; IKEDA, M.; KOTAKI, A. et al. 2016. Zika fever imported from Thailand to Japan, and diagnosed by PCR in the urines. **J Travel Med**. 23. pii:tav011.

SHIU, C.; STARKER, R.; KWAL, J.; BARTLETT, M.; CRANE, A.; GREISSMAN, S. et al. Zika Virus Testing and Outcomes during Pregnancy, Florida, USA, 2016. **Emerg Infect Dis**. Jan;24(1):1-8. 2018. doi: 10.3201/eid2401.170979.

SIROHI, D.; CHEN, Z.; SUN, L.; KLOSE, T.; PIERSON, T.C.; ROSSMANN, M.G. et al. The 3.8 Å resolution cryo-EM structure of Zika virus. **Science** 352, 467–470. 2016.

STAPLES, J.E.; DZIUBAN, E.J.; FISCHER, M.; CRAGAN, J.D.; RASMUSSEN, S.A.; CANNON, M.J. et al. Interim guidelines for the evaluation and testing of infants with possible congenital Zika virus infection—United States, 2016. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**. 65:63–67. 2016.

SUMMERS, D.J.; ACOSTA, R.W; ACOSTA, A.M. Zika virus in an American recreational traveler. **J Travel Med**. 5:338–340. 2015. <http://dx.doi.org/10.1111/jtm.12208>.

TABATA, T.; PETITT, M.; PUERTA-GUARDO, H.; MICHLMAYR, D.; WANG, C.; FANG-HOOVER, J.; et al. Zika Virus Targets Different Primary Human Placental Cells, Suggesting Two Routes for Vertical Transmission. **Cell Host Microb**. 2016, 10, 155–166.

TANG, H.; HAMMACK, C.; OGDEN, S.C.; WEN, Z.; QIAN, X.; LI, Y. et al. Zika virus infects human cortical neural progenitors and attenuates their growth. **Cell Stem Cell**. 2016;18(5):587–90.

TAPPE, D.; RISSLAND, J; GABRIEL, M.; EMMERICH, P.; GÜNTHER, S.; HELD, G. et al. First case of laboratory-confirmed Zika virus infection imported into Europe. **Euro Surveill**. 19:20685. 2014. http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId_20685.

TAPPE, D.; NACHTIGALL, S.; KAPAUN, A; SCHNITZLER, P.; GÜNTHER, S.; SCHMIDT-CHANASI, J. Acute Zika virus infection after travel to Malaysian Borneo, September 2014. **Emerg Infect Dis** 21:911–913. 2015. <http://dx.doi.org/10.3201/eid2105.141960>.

THOMPSON, J.D.; GIBSON, T.J.; PLEWNIAK, F.; JEANMOUGIN, F.; HIGGINS, D.G. 1997. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. **Nucleic Acids Res.** 25, 4876–4882.

TOGNARELLI, J.; ULLOA, S.; VILLAGRA, E.; LAGOS, J.; AGUAYO, C.; FASCE, R. et al. A report on the outbreak of Zika virus on Easter Island, South Pacific, 2014. **Arch Virol** 161:665–668. 2016. <http://dx.doi.org/10.1007/s00705-015-2695-5>.

VILLORDO, S.M., GAMARNIK, A.V., Genome cyclization as strategy for flavivirus RNA replication. **Virus Res.** 139, 230–239. 2009.

WALKER, C.L.; LITTLE, M.E.; ROBY, J.A.; ARMISTEAD, B.; GALE, M.JR.; RAJAGOPAL, L. et al. Zika virus and the nonmicrocephalic fetus: why we should still worry. **American Journal of Obstetrics & Gynecology** , Volume 220 , Issue 1 , 45 – 56. 2018.

WEAVER, S.C.; COSTA, F.; GARCIA-BLANCO, M.A.; KO, A.I.; RIBEIRO, G.S.; SAADE, G. et al. Zika virus: history, emergence, biology, and prospects for control. **Antiviral Res.** 130, 69–80. 2016.

WEILG, C., TROYES, L.; VILLEGAS, Z.; SILVA- CASO, W.; MAZULIS, F.; FEBRES, A. et al. Detection of Zika virus infection among asymptomatic pregnant women in the North of Peru. **BMC Res Notes** (2018) 11:311. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3400-z>

WEINBREN, M.P.; WILLIAMS, M.C. Zika virus: further isolations in the Zika area, and some studies on the strains isolated. **Trans R Soc Trop Med Hyg.** May;52(3):263-8. 1958.

WEISBLUM, Y.; OIKNINE-DJIAN, E.; VORONTSOV, O.M.; HAIMOV-KOCHMAN, R.; ZAKAY-RONES, Z.; MEIR, K. et al. Zika Virus Infects Early- and Midgestation Human Maternal Decidual Tissues, Inducing Distinct Innate Tissue Responses in the Maternal-Fetal Interface. **Journal of Virology** Jan, 91 (4) e01905-16. 2017.

WELLS, M.F.; SALICK, M.R.; WISKOW, O.; HO, D.J.; WORRINGER, K.A.; IHRY, R.J. et al. Genetic Ablation of AXL Does Not Protect Human Neural Progenitor Cells and Cerebral Organoids from Zika Virus Infection. **Cell Stem Cell.** 2016, 19, 703–708.

WESTAWAY, E.G.; MACKENZIE, J.M.; KHROMYKH, A.A. Replication and gene function in Kunjin virus. **Curr. Top. Microbiol. Immunol.** 267, 323–351. 2002.

WIWANITKIT, S.; WIWANITKIT, V. Afebrile, asymptomatic and non-thrombocytopenic Zika virus infection: Don't miss it!. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, [S.l.], v. 9, p. 513, 2016.

WOOD, A.M.; HUGHES, B.L. Detection and Prevention of Perinatal Infection: Cytomegalovirus and Zika Virus. **Clin Perinatol** 45(2): 307-323. 2018.

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.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Birth defects surveillance: a manual for programme managers**. Geneva, 2014.

WRIGHT, H. T. Congenital anomalies and viral infections in infants: the etiologic role of maternal viral infections. **California Medicine**, [S.l.], v. 105, p. 345-351, 1966.

YUN, S.I., LEE, Y.M., 2014. Japanese encephalitis: the virus and vaccines. **Hum. Vaccin. Immunother.** 10, 263–279.

YUN, S.I.; LEE, Y.M. . In: Kalitzky, M., Borowski, P. (Eds.), **Molecular Biology of the Flavivirus**. Horizon Scientific Press, Norwich, pp. 225–271. 2006.

YUN, S.I.; SONG, B.H.; FRANK, J.C.; JULANDER, J.G.; POLEJAEVA, I.A.; DAVIES, C.J. et al. Complete genome sequences of three historically important, spatiotemporally distinct, and genetically divergent strains of Zika virus: MR-766, P6-740, and PRVABC-59. **Genome Announc.** 4, e00800–16. 2016.

ZAMMARCHI, L.; STELLA, G; MANTELLA, A.; BARTOLOZZI, D.; TAPPE, D.; GÜNTHER, S. et al. Zika virus infections imported to Italy: clinical, immunological and virological findings, and public health implications. **J Clin Virol** 63:32–35. 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcv.2014.12.005>.

ZAMMARCHI, L.; TAPPE, D.; FORTUNA, C.; REMOLI, M.E.; GÜNTHER, S.; VENTURI, G. et al. Zika virus infection in a traveller returning to Europe from Brazil, March 2015. **Euro Surveill.** 20. pii: 21153. 2015.

ZANLUCA, C.; MELO, V.C.; MOSIMANN, A.L.; SANTOS, G.I.; SANTOS, C.N.; LUZ, K. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. **Mem Inst Oswaldo Cruz** 110:569–572. 2015. <http://dx.doi.org/10.1590/0074-02760150192>.

http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId_21153.

ZHANG, C., FENG, T., CHENG, J., LI, Y., YIN, X., ZENG, W. et al. 2016a. Structure of the NS5 methyltransferase from Zika virus and implications in inhibitor design. **Biochem. Biophys. Res. Commun.** <http://dx.doi.org/10.31016/j.bbrc.32016.31911.31098> (pii: S0006-0291X(0016)31963-31965

ZHAO, Z.; YANG, M.; AZAR, S.R.; SOONG, L.; WEAVER, S.C.; SUN, J. et al. Viral Retinopathy in Experimental Models of Zika Infection. **Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.** 58, 4355–4365. 2017.

APÊNDICES

APÊNDICE 1: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está convidado (a) a participar, como voluntária, em uma pesquisa: “CUIDADOS COM A GESTANTE EXPOSTA AO ZIKA VÍRUS: Análise da Placenta e Cordão Umbilical e a Aplicabilidade para SUS”. Com o objetivo de correlacionar infecção pelo Zika vírus com achados placentários, sangue de cordão umbilical e teratogenia. No caso de você concordar em participar, favor assinar ao final deste documento. Você receberá uma cópia deste termo assinada em duas vias por você e pelo pesquisador responsável onde há o telefone e endereço do pesquisador (a) principal, podendo tirar dúvidas do projeto e de sua participação antes e durante a pesquisa. Sua participação não é obrigatória, e, a qualquer momento, você poderá desistir de participar e retirar seu consentimento sem nenhuma penalização e interrupção do seu acompanhamento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador (a) ou com a Instituição. Local de Execução: Unidade – Maternidade Benedito Leite da Secretaria de Estado da Saúde do Maranhão-SES-MA e Universidade Federal do Maranhão – UFMA, Unidade Materno Infantil do Hospital e Banco de Tumores e DNA do Maranhão (BTMA) do Hospital Universitário. Tel 2109-1273. São Luís –MA. Critério de Inclusão dos Indivíduos: Eu poderei ser incluída nesta pesquisa se atender aos seguintes critérios: caso confirmado como sugestivo de infecção congênita pelo Zika vírus. Critério de Exclusão: Eu não poderei ser incluída nesta pesquisa se não atender aos critérios de inclusão. Critérios de Acompanhamento e Assistência como responsáveis: As mulheres selecionadas serão acompanhadas por médica obstetra, bem como pelos demais investigadores, citados no item Equipe Técnica, sendo estes responsáveis pela tomada de decisões pertinentes, durante toda a fase de execução do projeto. Descrição do Estudo: Realizar-se-á um estudo caso controle onde serão incluídas gestantes como caso confirmado de infecção pelo Zika vírus por exames realizados pelo fluxo do Ministério da Saúde assistidas na Unidade –Maternidade Benedito Leite da Secretaria de Estado da Saúde do Maranhão-SES-MA e Unidade Materno Infantil do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), e o controle serão os casos descartados. Para avaliação do perfil laboratorial específico (RTPCR e sorologia IgG e IgM) e inespecífico (ZTORCH) serão obtidos do prontuário das pacientes. O caso confirmado como sugestivo de infecção congênita pelo Zika vírus serão todos os casos notificados que apresentarem resultado laboratorial específico para Zika vírus a partir de amostras de sangue da gestante ou de tecido do aborto, quando disponível. ou inconclusivo para ZTORCH E Zika vírus ou outra causa infecciosa; As pacientes incluídas no estudo serão submetidas a coleta de sangue, sangue de cordão (2 a 5 ml de sangue, sem de anticoagulante) no período de dequitação placentária, e após a mesma serão extraídas 3 pares de amostras de tecido placentário (face materna e fetal) retirados próximo a inserção do cordão umbilical e nos ápices. Cada par de amostra de placenta serão acondicionados em frascos separados, um preparado com formol para avaliação histopatológica e outro para avaliação de PCR serão acondicionados no RNeasy® Stabilization Solution e com extração de DNA e RNA a partir de partículas virais purificadas, e quantificadas em PCR real time seguida do sequenciamento do genoma viral. Após assinatura do TCLE, o estudo inicialmente constará da aplicação de questionário. O questionário abordará questões socioculturais, como profissão, estado civil, escolaridade, hábitos de vida, história familiar de doenças e dados sobre aspectos obstétricos. Benefícios para o Indivíduo: Eu poderei conhecer melhor meu perfil clínico e laboratorial, bem como o impacto da gravidez na minha qualidade de vida, podendo também ser orientada aos cuidados com a minha saúde. Riscos para o Indivíduo: O estudo não oferece riscos. Os desconfortos são aqueles associados à coleta de sangue para as determinações analíticas a fim de

determinar o perfil laboratorial da gravidez. Em raras ocasiões, a coleta de sangue pode provocar hematoma. Os materiais utilizados para esses procedimentos serão estéreis e/ou descartáveis.

Alternativa para o Estudo: não se aplica

Exclusão dos Indivíduos: Eu poderei ser excluída do projeto se não for caso confirmado ou sugestivo de infecção congênita pelo Zika vírus.

Direitos dos Indivíduos para recusar-se a participar ou retirar-se do estudo: Eu entendo que minha participação no projeto é voluntária e posso recusar-me a participar ou posso interromper minha participação em qualquer hora, sem penalização.

Direitos dos indivíduos quanto à privacidade: Eu concordo com a publicação dos dados obtidos, desde que preservado o meu nome. Estou ciente que haverá total proteção à minha participação. Concordo ainda que os resultados poderão estar disponíveis para a Agência Financiadora da Pesquisa, observando a privacidade do meu nome.

Publicação das Informações: As informações coletadas referentes ao projeto estarão disponíveis para a Equipe envolvida na pesquisa e para a Agência Financiadora. Poderão ser publicados de acordo com o item 14.

Informação Financeira: Minha participação neste estudo não implica em contrato de trabalho.

Eu não receberei nenhuma compensação financeira para participar do estudo.

Dano à Saúde: Fui comunicada que qualquer ocorrência que não seja decorrente do estudo e surja durante o estudo, deverá ser tratada por conta própria, ou seja, o estudo que participo não assume nenhum compromisso no tratamento de outras enfermidades. Nestes casos, deverei comunicar à equipe do projeto todas as informações referentes à enfermidade e o seu tratamento. Se existe alguma intercorrência decorrente da pesquisa comunicarei ao investigador principal no telefone: (98) 3272-8535 e (98) 3248-0174, em qualquer horário do dia ou da noite.

Assinaturas: O estudo foi discutido comigo e todas as questões forma respondidas. Eu entendo que perguntas adicionais relacionadas ao estudo devem ser dirigidas aos investigadores relacionados acima. Eu entendo que se tiver dúvidas sobre direitos dos voluntários, posso contatar o Comitê de Ética do Hospital Universitário da UFMA. Eu concordo com os termos acima e acuso o recebimento de uma cópia desse consentimento.

Pesquisador Responsável

Voluntária

ORIENTADORA / PESQUISADORA: Profa. Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento.

ENDEREÇO: Av. dos Portugueses, nº1966, Bacanga

Prédio do CCBS, bloco 3 , sala 3A.

Núcleo de Imunologia Básica e Aplicada - NIBA / DEPAT.

Tel. (98) 3272-8535

CEP 65080.040 - São Luís - MA.

Telefone Comercial: (098) 3272-8535

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Coord. Prof. Dr. Dorlene Maria Cardoso De Aquino

Rua Barão de Itapary, 227. Direção Adjunta de Ensino, Pesquisa e Extensão, 4º Andar, Hospital Universitário da UFMA, 65020-070.

TELEFONE: (98) 2109 -1250

APÊNDICE 2: Termo de assentimento



SECTI
SECRETARIA DA
CIÊNCIA, TECNOLOGIA
E INOVAÇÃO

FUNDAÇÃO DE APOIO À PESQUISA
E AO DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO
E TECNOLÓGICO DO MARANHÃO

GOVERNO DO
MARANHÃO
GOVERNO DE TODOS NÓS



CNPq SUS+
Conselho Nacional de Desenvolvimento
Científico e Tecnológico

Ministério da
Saúde

GOVERNO FEDERAL
BRASIL
PÁTRIA EDUCADORA

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA

TERMO DE ASSENTIMENTO

Você está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar da pesquisa “CUIDADOS COM A GESTANTE EXPOSTA AO ZIKA VÍRUS: Análise da Placenta e Cordão Umbilical e a Aplicabilidade para SUS”. Neste estudo pretendemos correlacionar a infecção pelo Zika vírus com achados placentários, sangue de cordão umbilical e teratogenia.

O motivo que nos leva a estudar esse assunto é que a atual pesquisa pretende contribuir com a análise das características dos casos de microcefalia notificados no Maranhão, desde a qualidade das informações disponíveis, fundamentais para a gestão da pesquisa, como os aspectos epidemiológicos relacionados à assistência dos pacientes diagnosticados com microcefalia, identificando fatores que possam ser priorizados para alocação de recursos do gestor de saúde e contribuir para resolução dos problemas prioritários de saúde da população brasileira fortalecendo a gestão do SUS. Nosso projeto contribui para o aprimoramento e consolidação do SUS com a finalidade de integrar alunos da graduação desenvolvendo atividades de iniciação científica, mestrado *Stricto sensu*, doutorado e pós-doutorado visando o fortalecimento da pesquisa no âmbito do estado do Maranhão.

Para este estudo adotaremos o(s) seguinte(s) procedimento(s): Realizar-se-á um estudo caso controle onde serão incluídas gestantes como caso confirmado de infecção pelo Zika vírus por exames realizados pelo fluxo do Ministério da Saúde assistidas na Unidade –Maternidade Benedito Leite da Secretaria de Estado da Saúde do Maranhão-SES-MA e Unidade Materno Infantil do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), e o controle serão os casos descartados. Para avaliação do perfil laboratorial específico (RT-PCR e sorologia IgG e IgM) e inespecífico (ZTORCH) serão obtidos do prontuário das pacientes. O caso confirmado como sugestivo de infecção congênita pelo Zika vírus serão todos os casos notificados que apresentarem resultado laboratorial específico para Zika vírus a partir de amostras de sangue da gestante ou de tecido do aborto, quando disponível. ou inconclusivo para ZTORCH E Zika vírus ou outra causa infecciosa; As pacientes incluídas no estudo serão submetidas a coleta de sangue, sangue de cordão (2 a 5 ml de sangue, sem de anticoagulante) no período de dequitação placentária, e após a mesma serão extraídas 3 pares de amostras de tecido placentário (face materna e fetal) retirados próximo a inserção do cordão umbilical e nos ápices. Cada par de amostra de placenta serão acondicionados em frascos separados, um preparado com formol para avaliação histopatológica e outro para avaliação de PCR serão acondicionados no RNAlater® Stabilization Solution e com extração de DNA e RNA a partir de partículas virais purificadas, e quantificadas em PCR real time seguida do sequenciamento do genoma viral. Após assinatura do termo de assentimento e do termo de consentimento, o estudo inicialmente constará da aplicação de questionário. O questionário abordará questões socioculturais, como profissão, estado civil, escolaridade, hábitos de vida, história familiar de doenças e dados sobre aspectos obstétricos.

Para participar deste estudo, o responsável por você deverá autorizar e assinar um termo de consentimento. Você não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Você será esclarecido(a) em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se. O responsável por você poderá retirar o consentimento ou interromper a sua participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido(a) pelo pesquisador que irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Você não será identificado em

nenhuma publicação. Este estudo apresenta risco mínimo, isto é, o mesmo risco existente em atividades rotineiras como conversar, tomar banho, ler etc. Apesar disso, você tem assegurado o direito a ressarcimento ou indenização no caso de quaisquer danos eventualmente produzidos pela pesquisa.

Os resultados estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a permissão do responsável por você. Os dados e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 anos, e após esse tempo serão destruídos. Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma cópia será arquivada pelo pesquisador responsável, e a outra será fornecida a você.

Eu, _____, portador(a) do documento de Identidade _____ (se já tiver documento), fui informado(a) dos objetivos do presente estudo de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações, e o meu responsável poderá modificar a decisão de participar se assim o desejar. Tendo o consentimento do meu responsável já assinado, declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo assentimento e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

São Luís, ____ de _____ de 20____ .

Assinatura do(a) menor

Assinatura do(a) pesquisador(a)

Em caso de dúvidas com respeito aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar:

ORIENTADORA / PESQUISADORA: Profa. Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento.

ENDEREÇO: Av. dos Portugueses, nº1966, Bacanga

Prédio do CCBS, bloco 3 , sala 3A.

Núcleo de Imunologia Básica e Aplicada - NIBA / DEPAT.

Tel. (98) 3272-8535

CEP 65080.040 - São Luís - MA.

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Coord. Prof. Dr. Dorlene Maria Cardoso De Aquino

Rua Barão de Itapary, 227. Direção Adjunta de Ensino, Pesquisa e Extensão, 4º Andar, Hospital Universitário da UFMA, 65020-070.

TELEFONE: (98) 2109 -1250

APÊNDICE 3: Questionário**QUESTIONÁRIO PRÉ-NATAL**

Ficha nº: _____ Data de Coleta: _____/_____/_____ Pesquisador: _____

Nome: _____ **Prontuário:**

Idade materna (anos): _____

Procedência:

Município: _____

Endereço: _____

Bairro: _____ CEP:

Telefone para contato: (____)- _____ - _____

Características Sociodemográficas**Idade**

() ≤18 anos () 19-35 anos () ≥36 anos

Escolaridade materna (anos)

0-4 () 5-9 () 10-15 ()

Cor da pele materna

Branca () Negra () Parda (amarela, indígena) ()

Estado civil materno

União conjugal () Solteira ()

Número de filhos

1-2 () 3-4 () ≥5 ()

Local de moradia

Zona urbana () Zona rural ()

Quando criança, até os 12 anos, você morou (a maior parte do tempo) numa capital, numa cidade grande, numa cidade pequena/vila ou zona rural?

Capital () Cidade grande () Cidade pequena / vila () Zona rural () Não sabe ()

Há quanto tempo mora neste município?

Se o tempo for menor que 1 ano, anote 00 anos.

_____anos Sempre viveu () Não sabe ()

Em que religião você foi criada?

Católica () Evangélica tradicional (protestantismo histórico) () Evangélica pentecostal () Espírita ()

Afro-brasileira (candomblé, umbanda) () Nenhuma () Outra() _____ Não sabe ()

Atualmente, qual é a sua religião?

Católica () Evangélica tradicional (protestantismo histórico) () Evangélica pentecostal () Espírita ()

Afro-brasileira (candomblé, umbanda) () Nenhuma () Outra() _____ Não sabe ()

Pré natal**Peso:** _____ **Estatura:** _____ **IMC:** _____**Gravidez Planejada** Sim () Não () **Usava MAC** Sim () _____ Não ()**Gravidez Aceita** Sim () Não ()**Possui cartão de pré-natal/ cartão da gestante?**

Sim () Não () Não sabe ()

Cartão de pré-natal/ cartão da gestante está preenchido adequadamente?

Sim () Não () Não sabe ()

Idade Gestacional da Primeira Consulta: _____ 1º Tri () 2º Tri () 3º Tri ()

Número de consultas no Pré-Natal

1º Trimestre: _____ 2º Trimestre: _____ 3º Trimestre: _____

Total: _____ 1-3 () 3-6 () ≥ 7 ()

Consultas

Médico: _____ Enfermeiro: _____

Exames de primeiro trimestre

GS/RH Sim () Não () _____ CI: Sim () Não () Não se aplica ()

Hemograma Sim () Não () Hb: _____ Ht: _____ Leuc: _____ Plaç: _____

Glicemia em Jejum Sim () Não ()

VDRL Sim () Não () Positivo () Negativo ()

Anti-HIV Sim () Não () Positivo () Negativo ()

HBSAg Sim () Não () Positivo () Negativo ()

Toxoplasmose IgG Sim () Positivo () Negativo () Não () **IgM** Sim () Positivo () Negativo () Não ()

CMV IgG Sim () Positivo () Negativo () Não () **IgM** Sim () Positivo () Negativo () Não ()

Rubeola IgG Sim () Positivo () Negativo () Não () **IgM** Sim () Positivo () Negativo () Não ()

Urina Rotina Sim () Não ()

Urocultura Sim () ()NHC HC () Bactéria: _____ Não ()

EPF: Sim () _____ Não ()

CTO Sim () _____ Não ()

Ultrassonografia: Biometria: ___sem___dias CCN: _____

Exames de segundo trimestre

CI: Sim () Não () Não se aplica ()

Hemograma: Sim () Hb: _____ Ht: _____ Leuc: _____ Plaç: _____ Não ()

VDRL: Sim () Não () Positivo () Negativo ()

Anti-HIV: Sim () Não () Positivo () Negativo ()

TOTG (75g) : Sim () Não () Jejum: _____ 2horas: _____

Toxoplasmose IgG Sim () Positivo () Negativo () Não () **IgM** Sim () Positivo () Negativo () () Não

HBSAg: Sim () Não () Positivo () Negativo ()

Urina Rotina: Sim () Não ()

Urocultura: Sim () () NHC HC () Bactéria: Não ()

Ultrassonografia:

Biometria: _____ sem _____ dias CC: _____ mm DBP: _____ mm CA: _____ mm

Femur: _____ mm

PFE: _____ gramas Adequado Sim () Não () percentil: _____

Placenta:

Localização - Corporal anterior () Corporal posterior () Corporal Lateral E () Corporal Lateral D ()
) Fúndica ()

Grau: I () II () III ()

ILA:

Normal () _____ (8,1-18cm)

Reduzido () _____ (5,1-8cm)

Oligoamnio _____ (≤ 5 cm)

Oligoamnio grave _____ (≤ 3 cm)

Aumentado _____ (>18 e <25 cm)

Polidramnio _____ (≥ 25 cm)

Exames de terceiro trimestre

CI: Sim () Não () Não se aplica ()

Hemograma: Sim () Hb: _____ Ht: _____ Leuc: _____ Plaq: _____ Não ()

Glicemia em Jejum: Sim () Não ()

VDRL: Sim () Não () Positivo () Negativo ()

Toxoplasmose IgG Sim () Positivo () Negativo () Não () **IgM** Sim () Positivo () Negativo () () Não

Anti-HIV: Sim () Não () Positivo () Negativo ()

Urina Rotina: Sim () Não ()

Urocultura: Sim () () NHC HC () Bactéria: Não ()

Ultrassonografia:

Biometria: ____ sem ____ dias CC: ____ mm DBP: ____ mm CA: ____ mm

Femur: ____ mm

PFE: _____ gramas Adequado Sim () Não () percentil: _____

Placenta:

Localização - Corporal anterior () Corporal posterior () Corporal Lateral E () Corporal Lateral D ()

Fúndica ()

Grau: I () II () III ()

ILA:

Normal () _____ (8,1-18cm)

Reduzido () _____ (5,1-8cm)

Oligoamnio _____ (≤ 5 cm)

Oligoamnio grave _____ (≤ 3 cm)

Aumentado _____ (>18 e <25 cm)

Polidramnio _____ (≥ 25 cm)

Intercorrecias no pré-natal

Exantema: Sim () Não ()

Sangramentos: Sim () 1ª metade () 2ª metade () Não ()

Corrimento vaginal: Sim () Tratamento: _____ Não ()

Sífilis Sim () Não () Tratamento: _____ não () Adequado:
Sim () Não ()

IVAS Sim () Não ()

Hipertensão Gestacional Sim () Não ()

Pré- Eclampsia: Sim () Não ()

Eclampsia: Sim () Não ()

Diabetes: Sim () Não ()

ITU: Sim () Tratamento: ATB: _____ N° dias: _____ Não ()

Pielonefrite: Sim () Não ()

Internação: Sim () Motivo: _____ Não ()

Outros: Sim () _____ Não ()

Status Vacinal

Tétano:

1ª dose: sim () não () 2ª dose: sim () não () 3ª dose: sim () não () Reforço: sim () não ()
não se aplica ()

Hepatite B:

1ª dose: sim () não () 2ª dose: sim () não () 3ª dose: sim () não ()

Influenza

sim () não () não se aplica ()

Antecedentes pré-gestacionais

Diabetes sim () não () HAS sim () não () Infertilidade sim () não () Cardiopatia sim () não ()
() Infertilidade sim () não () Cirurgia Pélvica Uterina sim () não () Outros

Suplementação

Sulfato Ferroso 1º Trim: sim () não () 2º Trim: sim () não () 3º Trim: sim ()

Ácido Fólico

1º Trim: sim () não () 2º Trim: sim () não () 3º Trim: sim ()

Tipo de parto

IG: _____ sem _____ dias Termo () Pré-Termo () Pós-data ()

() <37sem () 37sem-41sem e 6dias () >41 sem e 6 dias

Normal () Induzido sim () não ()

Ocitocina sim () não () Misoprostol sim () Não ()

Episiotomia sim () não () Laceração sim () 1º grau () 2º grau () 3º grau () não ()

Amniorrexe prematura: Sim () Não () LA: claro () meconial ()

Tempo de bolsa rota até o parto: _____ hs ATB: sim () _____ não ()

Complicações houve () _____ () não houve

Cesariana () eletiva sim () indicação: _____ não()
 indicação: _____ Complicações houve () _____ () não houve

Profissional que realizou o parto

Médico ()

Enfermeira ()

Parteira ()

Local do parto

Maternidade ()

Casa de Parto ()

Domiciliar ()

Outro ()

Sangramento Pós Parto Imediato

Sim () não ()

Características da Placenta

Peso: _____g Cordão: ____A____V

Completa: sim () não ()

Alterações macroscópicas do cordão umbilical de puérperas

Comprimento

Diâmetro

Inserção

() ≤35cm

() <1,5cm

() central

() 36-70cm

() 1,5-2cm

() paracentral

() >70cm

() >2cm

() marginal

() velamentosa

Características de neonatos

Sexo: () Masculino () Feminino

Reanimação: () Não () Sim

PC _____

PC (após 24 horas) _____

() < 32cm	() < 32cm
() 32-38cm	() 32-38cm
() > 38cm	() > 38cm

Peso _____ **Índice de Apgar:** _____(pontos)

() <2.500g	1º min	5º min
() 2500-3999g	() ≥8	() ≥8
() ≥4000g	() <8	() <8

Legendas

MAC-	Método Contraceptivo
GS/RH:	Grupo Sanguíneo e Grupo RH
CI:	Coombs Indireto
EPF:	Exame Parasitológico de Fezes
CMV-	Citomegalovírus
CTO-	Colpocitopatologia Oncótica
NHC:	Não Houve Crescimento
HC:	Houve crescimento
TOTG (75G)-	Teste de Tolerância Oral à Glicose (75 gramas)
CCN:	Comprimento Cabeça Nádega
ILA:	Índice de Líquido Amniótico
LA:	Líquido Amniótico
PFE:	Peso Fetal Estimado
DPB:	Diâmetro Biparietal
CC-	Circunferência Craniana
CA-	Circunferência Abdominal
IVAS-	Infecção de Vias Aéreas Superiores
ITU-	Infecção de Trato Urinário
IG-	Idade Gestacional

APÊNDICE 4: Cartilha - MANEJO, PREVENÇÃO E CONTROLE DA INFECÇÃO PELO ZIKA VÍRUS NA GESTANTE



**CHAMADA PPSUS – FAPEMA/MS-DECIT/CNPq/SES/Nº 008/2016
PROGRAMA PESQUISA PARA O SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE**



MANEJO, PREVENÇÃO E CONTROLE DA INFECÇÃO PELO ZIKA VÍRUS NA GESTANTE

São Luis - MA

2018



Coordenadora

Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento

Pesquisadores

Geusa Felipa de Barros Bezerra

Luciane Maria Oliveira Brito

Maria do Carmo Lacerda Barbosa

Valéria Maria Sousa Leitão

Zulmira da Silva Batista

Doutorandos e Mestrandos

Marcos Antonio Custodio Neto da Silva

Paulo Rogério Lobão de Araújo Costa

Rebeca Costa Castelo Branco

Walbert Edson Muniz Filho

Iniciação Científica

Lailson Oliveira de Castro

Camyla Oliveira Mesquita

Nascimento, Maria do Desterro Soares Brandão e colaboradores

Manejo, prevenção e controle da infecção pelo zika vírus na gestante / Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento e colaboradores. São Luís. 2018.

16.p : Il.

ISSN:

I. Gestante. Zika. Cuidado Pré-Natal. São Luís – I Título



Agradecimentos

**À Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento
Científico e Tecnológico do Maranhão—FAPEMA
À Universidade Federal do Maranhão—UFMA**



Apresentação

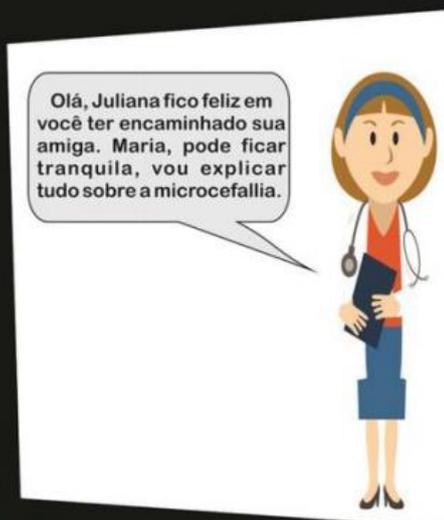
A pesquisa “Manejo, prevenção e controle da infecção pelo Zika vírus na gestante”, foi aprovada pela CHAMADA PPSUS-FAPEMA/MS-DECIT/CNPq/SES/Nº 008/2016, desenvolvido pela Profa. Dra. Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento, realizado junto ao Núcleo de Imunologia Básica e Aplicada - NIBA/Departamento de Patologia do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/UFMA em São Luís-MA.

Na perspectiva de desenvolver estratégias, como medidas educacionais preventivas de controle desta virose, surgiu esta cartilha que, com uma linguagem simples e acessível à comunidade, terá grande relevância na transmissão dos conhecimentos necessário ao controle e combate da enfermidade.



MICROCEFALIA





O QUE É A MICROCEFALIA?

É uma condição neurológica rara, caracterizada pela malformação do crânio do feto, que se desenvolve menos que o normal: a circunferência cefálica é sempre inferior a 32cm. Pode ser causada por problemas genéticos e ambientais como usos de substâncias químicas durante a gravidez, infecções (herpes simples, rubéola, sífilis, toxoplasmose, zika vírus) e até mesmo contaminação por radiação. O indivíduo com microcefalia apresenta algum grau de retardo mental, comprometimento motor e/ou psíquico. Déficit cognitivo, visual, ou auditivo, hiperatividade e epilepsia são problemas relacionados a crianças que nascem com essa condição.

Todas as pessoas com a infecção pelo vírus Zika apresentarão sintomas ou sinais da doença?

Não. De cada 10 pessoas infectadas pelo vírus Zika, espera-se que somente duas apresentem os sinais e os sintomas descritos no item anterior.

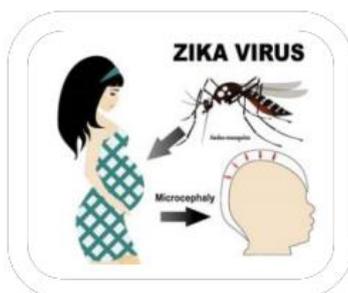
Portanto, um grande percentual de pessoas pode ter a doença e não saber que tem ou teve a doença.

Infecção pelo vírus da Zika



Pessoas com o quadro clínico completo da infecção pelo vírus Zika apresentam manchas pelo corpo, febre baixa, olhos vermelhos, dores musculares, e dor de cabeça. Estas manifestações podem durar até uma semana.

Transmissão do vírus da Zika



O vírus Zika é transmitido por meio da picada de mosquito *Aedes aegypti*, a fêmea do mosquito deposita seus ovos em recipientes com água. Ao saírem dos ovos, as larvas vivem na água por cerca de uma semana. Após este período, transformam-se em mosquitos adultos, prontos para picar as pessoas

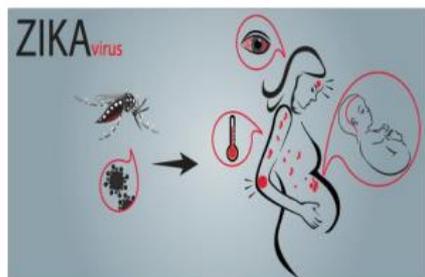
Tratamento contra a infecção pelo do vírus



O tratamento dos sintomas consiste no uso de medicamentos para a febre e dor, conforme orientação médica . Evitar a auto- medicação devido ao risco de aumentar as complicações.

WHO, 2016; WHO, 2017

Microcefalia



Conceitua-se microcefalia quando a cabeça do feto ou do recém-nascido é menor do que a medida que se espera para aquela idade gestacional. Esta medida pode ser feita no feto (ultrassonografia) ou após o nascimento medindo a circunferência (em volta da cabeça) do recém-nascido. Para fetos ou crianças acima de 37 semanas, sem nenhuma doença, espere-se que a circunferência craniana (perímetro cefálico) esteja acima de 32cm.

Quais são as causas da Microcefalia?



Sabe-se que as microcefalias apresentam várias causas, podendo decorrer de causas genéticas, radiações, uso de álcool, oxigenação cerebral fetal insuficiente e processos infecciosos durante a gravidez, entre outras. As evidências disponíveis até o momento indicam fortemente que o vírus Zika está relacionado à ocorrência de microcefalias.

Uso de repelentes



A grávida pode usar alguns repelentes não naturais. Os mais indicados são à base de “Icaridina”, o tempo de ação que pode durar até 10 horas. Cuidado para evitar o contato com olhos, boca e nariz. Os repelentes que funcionam quando são ligados na “tomada de luz elétrica” podem ser utilizados desde que estejam a mais de dois metros da gestante.

WHO, 2016; WHO, 2017

Como evitar ser infectada pelo vírus



A melhor forma de evitar a infecção é controlar a proliferação do mosquito, mas se elas falham, devemos evitar a picada. As formas de evitar a picada consistem na proteção da pele, deixando o mínimo de pele exposta. Na pele exposta, proteger com repelente.

Microcefalia e Aborto



O aborto só é permitido por lei em casos de malformação do feto, onde não há a formação do cérebro (anencefalia), o que é diferente da microcefalia.

WHO, 2016; WHO, 2017

INFORMAÇÕES ÀS GESTANTES

- Utilize telas em janelas e portas, use roupas compridas, - calças e blusas - e, se vestir roupas que deixem áreas do corpo expostas, aplique repelente nestas áreas.
- Fique, preferencialmente, em locais com telas de proteção, mosquiteiros ou outras barreiras disponíveis.
- Busque uma Unidade Básica de Saúde para iniciar o pré-natal assim que descobrir a gravidez e compareça às consultas regularmente.

- Vá às consultas uma vez por mês até a 28ª semana de gravidez; a cada quinze dias, entre a 28ª e a 36ª semana; e semanalmente do início da 36ª semana até o nascimento do bebê.
- Se tiver dúvida, fale com o seu médico ou com um profissional de saúde.
- Relate ao seu médico qualquer sintoma ou medicamento usado durante a gestação.
- Leve sempre consigo a Caderneta da Gestante, pois nela constata o seu histórico de gestação.

WHO, 2016; WHO, 2017

CUIDADOS COM O RÉCEM-NASCIDO COM MICROCEFALIA

- Proteger o ambiente com telas em janelas e portas, e procurar manter o bebê com uso contínuo de roupas compridas - calças e blusas.
- Manter o bebê em locais com telas de proteção, mosquiteiros ou outras barreiras disponíveis.
- A amamentação é indicada até o 2º ano de vida ou mais, sendo exclusiva nos primeiros 6 meses de vida.
- Caso se observem manchas vermelhas na pele, olhos avermelhados ou febre, procurar um serviço de saúde.
- Não dar ao bebê qualquer medicamento por conta própria.
- Leve seu bebê a uma Unidade Básica de Saúde para o acompanhamento do crescimento e desenvolvimento conforme o calendário de consulta de puericultura.

WHO, 2016; WHO, 2017



CUIDADOS COM O PÚBLICO EM GERAL

- Mantenha-se vigilante quanto à limpeza da sua casa, cuidando para que pratinhos com vasos de plantas, lixeira, baldes, ralos, calhas, garrafas, pneus e retirar, até brinquedos, não sirvam de criadouro para as larvas do mosquito.
- Mantenha-se vigilante quanto à limpeza do seu bairro. Denuncie o acúmulo de lixo e entulho, ou retirar qualquer recipiente que possa abrigar a larva do mosquito.
- Elimine água parada em torno da sua casa
- Se possuir reservatório de água, use tampas ou telas para cobrir
- Não tome qualquer medicamento por conta própria.
- Procure orientação sobre planejamento reprodutivo e os métodos contraceptivos nas Unidades Básicas de Saúde.



WHO, 2016; WHO, 2017

COMO PREVENIR?

Para prevenir a microcefalia é fundamental o combate ao mosquito *Aedes aegypti*, transmissor do zika vírus, que está relacionado à doença e à má-formação, mas também outras infecções também causam microcefalia, a exemplo da herpes simples, sífilis, toxoplasmose e zika vírus. Dessa forma, devemos:



Encha de areia a borda os pratinhos dos vasos de planta.



Mantenha a caixa d'água sempre fechada com tampa adequada.



Não deixe a água da chuva acumulada sobre a laje.



Lave semanalmente por dentro com escova e sabão os tanques utilizados para armazenar água e mantenha bem tampados toneis e barris d'água.



Remova as folhas, galhos e tudo que possa impedir a água de correr pelas calhas.



Não compartilhar agulhas ou seringas.



Jogue no lixo todo objeto que possa acumular água, como embalagens usadas, potes, latas, copos, garrafas vazias etc.



Se você não colocou areia e acumulou água no pratinho da planta, lave-o com escova, água e sabão. Faça isso uma vez por semana.



Sexo com camisinha.

O QUE AS GESTANTES DEVEM FAZER?

Realizar o acompanhamento pré-natal e todos os exames recomendados. E procurar um médico caso sinta febre e apareça manchas vermelhas pelo corpo.

O tempo passou e o bebê de Maria nasceu saudável, para alegria de toda a família.



REFERÊNCIAS

Ministério da Saúde, cartilha Zica – Informações ao público, Brasília-DF, 2016
D. Geraldo, infecção pelo vírus Zica para orientação das gestantes, São Paulo, 2016.

Vírus Zica – Informações sobre a doença e investigação de síndrome exantêmica no nordeste. Disponível em: http://www.saude.ba.gov.br/novoportal/images/stories/PDF/Zika-virus-Atualizacao-sobre-a-doenca-11mai.2015_0.pdf.

WHO. Disponível em <<http://who.int/emergencies/zika-virus/history/en/#> The History of Zika Virus> 2016. Acessado em 04 dezembro 2018.

WHO. Disponível em <<http://who.int/emergencies/zika-virus/history/en/#> The History of Zika Virus> 2017. Acessado em 06 dezembro 2018.



REALIZAÇÃO





APÊNDICE 5: CUIDADOS COM A GESTANTE EXPOSTA AO ZIKA VÍRUS: Análise da Placenta e Cordão Umbilical e a Aplicabilidade para SUS

Informações Adicionais

Se tiver dúvida, fale com seu médico ou com outro profissional de saúde a que tenha acesso.

Relate ao seu médico qualquer sintoma ou medicamento usado durante a gestação.

Leve sempre consigo a Caderneta da Gestante, pois nela consta todo seu histórico de gestação.



CUIDADOS COM A GESTANTE EXPOSTA AO ZIKA VÍRUS: Análise da Placenta e Cordão Umbilical e a Aplicabilidade para SUS

Chamada PPSUS – FAPEMA/MSDECIT/ CNPq/SES/Nº 008/2016



ZIKA VÍRUS

Informações ao público

A zika é uma doença causada pelo Zika vírus transmitido por mosquitos *Aedes*, incluindo o *Aedes aegypti*, o vírus é capaz de atingir a placenta, o líquido amniótico e o bebê, causando **malformações neurológicas** como a microcefalia (o bebê nascer com a cabeça menor que o padrão).

Todas as pessoas com a infecção pelo Zika vírus apresentarão sintomas ou sinais da doença?

Não. De cada 10 pessoas infectadas pelo Zika vírus, espera-se que somente duas apresentem os sinais e os sintomas descritos no item anterior. Portanto, um grande percentual de pessoas pode ter a doença e não saber que tem ou teve.



Quais as medidas preventivas que uma mulher deve ter durante a gestação para não contrair o Zika vírus?

Colocar telas em janelas e portas, fazer uso contínuo de roupas compridas – calças e blusas – e vestir roupas que não deixem áreas do corpo expostas.

Ficar, preferencialmente em locais com telas de proteção, mosquiteiros ou outras barreiras disponíveis.

Fazer uso de repelente.



Quais os cuidados que uma gestante deve ter durante a gestação para que seu bebê seja saudável ao nascimento?

Fazer o pré-natal na Unidade Básica de Saúde (UBS) e comparecer nas consultas periodicamente (início do acompanhamento no primeiro trimestre da gravidez).

Consultar mensalmente até a 28ª semana; quinzenalmente entre a 28ª e a 36ª semana; e semanalmente a partir da 36ª semana até o nascimento do bebê.

Cumprir todas as vacinações indicadas para gestantes.

Em caso de febre e dor, procure uma UBS, não tome medicamento sem prescrição médica.



ANEXOS

ANEXO 1 - Parecer Consubstanciado do CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: CUIDADOS COM A GESTANTE EXPOSTA AO ZIKA VÍRUS: Análise da Placenta e Cordão Umbilical e a Aplicabilidade para SUS

Pesquisador: Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento

Área Temática: Genética Humana:
(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP;);

Versão: 4

CAAE: 56480316.4.0000.5086

Instituição Proponente: Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão/HU/UFMA

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DO MARANHÃO - FAPEMA

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.510.496

Apresentação do Projeto:

Estudo caso controle onde serão incluídas gestantes como caso confirmado de infecção pelo Zika vírus por exames realizados pelo fluxo do Ministério da Saúde assistidas na Unidade Materno Infantil do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), e o controle serão os casos descartados. O perfil laboratorial específico (RTPCR e sorologia IgG e IgM) e inespecífico (ZTORCH) serão obtidos do prontuário das pacientes. O caso confirmado como sugestivo de infecção congênita pelo vírus Zika serão todos os casos notificados que apresentarem resultado laboratorial específico para vírus Zika a partir de amostras de sangue ou urina da gestante ou de tecido do aborto, quando disponível ou inconclusivo para ZTORCH E vírus Zika ou outra causa infecciosa Os casos descartados serão todos os casos notificados no RESP (Registro de Eventos de Saúde Pública) que: Apresentarem resultado negativo Não cumprirem a definição de caso para notificação Casos notificados em que não seja possível investigar laboratorialmente Registro duplicado. As pacientes incluídas no estudo serão submetidas a coleta de sangue de cordão (2 a 5 ml de sangue, sem de anticoagulante) no período de dequitação placentária, e após a mesma serão extraídas 3 pares de amostras de tecidoplacentário (face materna e fetal) retirados próximo a inserção do cordão umbilical e nos ápices. Cada par de amostra de placenta serão acondicionados em frascos separados, um preparado com formol para avaliação histopatológica e

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

CEP: 65.020-070

UF: MA **Município:** SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 2.510.496

outro para avaliação de PCR serão acondicionados no RNeasy Lysis Solution e com extração de DNA e RNA a partir de partículas virais purificadas, e quantificadas em PCR real time seguida do sequenciamento do genoma viral. A PCR em tempo real representa uma revolução no processo de quantificação de

fragmentos de DNA e RNA, uma vez, que essa técnica possibilita a quantificação desses ácidos nucleicos de maneira precisa e com maior reprodutibilidade, pois os valores são determinados durante a fase exponencial da reação. Essa técnica pode ser usada para determinação do diagnóstico de doenças genéticas e determinação de agentes infecciosos. (Zanluca et al., 2015 Calvet et al., 2016) Para a amostra de sangue de cordão, será utilizado tubo plástico estéril, com tampa de rosca e anel de vedação, rotulado com o nome da paciente, data da coleta e tipo de amostra. As amostras de sangue e fragmentos de placenta para avaliação pelo RTPCR serão conservados em freezer a 20 ou 70°C (preferencialmente) até o envio para o laboratório. A avaliação bioquímica do material biológico será processado no Banco de Tumores e DNA do Maranhão (BTMA) do hospital universitário (Programa de Pós Graduação em Saúde do Adulto e da Criança), que conta com Micrótomo, PCR em tempo Real entre outros, com toda infraestrutura necessária para o desenvolvimento da pesquisa.

Hipótese:

H0: o vírus Zika causa alterações na placenta e cordão umbilical
H1: o vírus Zika não causa alterações na placenta e cordão umbilical.

Metodologia Proposta:

Estudo caso controle onde serão incluídas gestantes como caso confirmado de infecção pelo Zika vírus por exames realizados pelo fluxo do Ministério da Saúde assistidas na Unidade Materno Infantil do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão (UFMA), bem como na unidade Maternidade Benedito Leite da Secretaria de Estado da Saúde do Maranhão (SES-MA), e o controle serão os casos descartados e o controle serão os casos descartados. O perfil laboratorial específico (RTPCR e sorologia IgG e IgM) e inespecífico (ZTORCH) serão obtidos do prontuário das pacientes. O caso confirmado como sugestivo de infecção congênita pelo vírus Zika serão todos os casos notificados que apresentarem resultado laboratorial específico para vírus Zika a partir de amostras de sangue ou urina da gestante ou de tecido do aborto, quando disponível. ou inconclusivo para ZTORCH E vírus Zika ou outra causa infecciosa Os casos descartados serão todos os casos notificados no RESP (Registro de Eventos de Saúde Pública) que: Apresentarem resultado

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 2.510.496

negativo Não cumprirem a definição de caso para notificação Casos notificados em que não seja possível investigar laboratorialmente Registro duplicado. As pacientes incluídas no estudo serão submetidas a coleta de sangue de cordão (2 a 5 ml de sangue, sem de anticoagulante) no período de dequitação placentária, e após a mesma serão extraídas 3 pares de amostras de tecido placentário (face materna e fetal) retirados próximo a inserção do cordão umbilical e nos ápices. Cada par de amostra de placenta serão acondicionados em frascos separados, um preparado com formol para avaliação histopatológica e outro para avaliação de PCR serão acondicionados no RNAlater® Stabilization Solution e com extração de DNA e RNA a partir de partículas virais purificadas, e quantificadas em PCR real time seguida do sequenciamento do genoma viral. A PCR em tempo real representa uma revolução no processo de quantificação de fragmentos de DNA e RNA, uma vez, que essa técnica possibilita a quantificação desses ácidos nucleicos de maneira precisa e com maior reprodutibilidade, pois os valores são determinados durante a fase exponencial da reação. Essa técnica pode ser usada para determinação do diagnóstico de doenças genéticas e determinação de agentes infecciosos. (Zanluca et al., 2015 Calvet et al., 2016) Para a amostra de sangue de cordão, será utilizado tubo plástico estéril, com tampa de rosca e anel de vedação, rotulado o com o nome da paciente, data da coleta e tipo de amostra. As amostras de sangue e fragmentos de placenta para avaliação pelo RTPCR serão conservados em freezer a 20 ou 70oC (preferencialmente) até o envio para o laboratório. A avaliação bioquímica do material biológico será processado no Banco de Tumores e DNA do Maranhão (BTMA) do hospital universitário (Programa de Pós Graduação em Saúde do Adulto e da Criança), que conta com Micrótomo, PCR em tempo Real entre outros, com toda infraestrutura necessária para o desenvolvimento da pesquisa. Os dados serão analisados no Software Epi Info. Serão avaliados dados paramétricos e não-paramétricos. Os Valores de p serão considerados significativos se <0,05.

Critério de Inclusão:

Todos os casos notificados que apresentarem resultado laboratorial específico para vírus Zika a partir de amostras de sangue ou urina da gestante ou de tecido do aborto, quando disponível. ou inconclusivo para ZTORCH E vírus Zika ou outra causa infecciosa.

Critério de Exclusão:

Os casos descartados serão todos os casos notificados no RESP (Registro de Eventos de Saúde Pública) que: Apresentarem resultado negativo. Não cumprirem a definição de caso para

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

CEP: 65.020-070

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 2.510.496

notificação. Casos notificados em que não seja possível investigar laboratorialmente Registro duplicado.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Correlacionar infecção pelo Zika vírus com achados placentários, sangue de cordão umbilical e teratogenia.

Objetivo Secundário:

Avaliar o perfil sorológico específico para a zika vírus com o desfecho teratogênico; Correlacionar o status da sorologia materna com o status da sorologia do sangue de cordão umbilical;

Caracterizar o padrão e grau de inflamação placentária nos casos confirmados de infecção por zika vírus;

Correlacionar o status de RTPCR da placenta com o status sorológico materno;

Correlacionar status sorológico específico para zika vírus com perfil sorológico das ZTORCH;

Avaliar o desfecho teratogênico com a idade gestacional da infecção;

Avaliar o contexto epidemiológico de exposição ambiental;

Fortalecer as equipes de pesquisa e os programas de graduação e pós-graduação em saúde existentes no Maranhão.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

De acordo com o pesquisador, O estudo não oferece riscos mas desconfortos são aqueles associados à coleta de sangue para as determinações analíticas a fim de determinar o perfil bioquímico e sorologias, além do sangramento relacionado à retirada da placenta. Em raras ocasiões, a coleta de sangue pode provocar hematoma. Os materiais utilizados para esses procedimentos serão estéreis e/ou descartáveis. Caso ocorram, será aplicada analgesia e compressas frias para resolução do quadro. A ocorrência de microcefalia pode acarretar alterações psicológicas na mãe, sendo esta devidamente orientada e encaminhada ao Serviço de Psicologia do HUUFMA.

Benefícios:

Conhecer o perfil clínico e laboratorial, bem como o impacto da gravidez e orientações para a qualidade de vida da mãe e bebê, além de orientações sobre cuidados em saúde.

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 2.510.496

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de Emenda em que o objetivo é apresentar ao Sistema CEP/CONEP, inclusão de novos pesquisadores e inclusão de mais uma instituição para a coleta.

O pesquisador apresentou emenda anterior de acordo com a descrição:

EMENDA 01- apresentar ao Sistema CEP/CONEP nova versão do projeto original, inclusão de novos pesquisadores, extensão do período para a realização do estudo e inclusão de mais uma instituição para a coleta.

Justificativa da Emenda, segundo o pesquisador:

- Demora entre cotação e aquisição de insumos importando;
- Especificidade das reações laboratoriais em biologia molecular, justificam novos participantes;
- Dificuldade na aquisição de dados epidemiológico justificam a solicitação de outro local para a coleta;
- Atraso no repasse financeiro pelo órgão de Fomento.

Anexo os Documentos:

- Cronograma_atualizado_projeto_Zika.pdf
- TCLE_atualizado.docx
- Justificativa_Projeto_Zika.pdf
- Carta_de_anuencia_projeto_zika_flavia.pdf
- AUTORIZACAO_GESTOR_BENEDITO_LEITE.pdf

EMENDA 02 - Solicitar a inclusão de 02 pesquisadores e a inclusão da outra maternidade.

Pesquisadores: Prof. Dr. Josélio Maria Galvão de Araújo 0 Universidade Federal do Rio Grande do Norte e Profa. Dra. Flavia de Oliveira Cardoso - FIOCRUZ.

Maternidade: Maternidade Benedito Leite da Secretaria de Estado da Saúde do Maranhão- SES.

O pesquisador anexa os seguintes documentos:

- Carta_de_anuência
- AUTORIZACAO_GESTOR_BENEDITO_LEITE.pdf.

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

UF: MA

Telefone: (98)2109-1250

Município: SAO LUIS

CEP: 65.020-070

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 2.510.496

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O protocolo apresenta documentos referente aos "Termos de Apresentação Obrigatória": Folha de rosto, Declaração de compromisso em anexar os resultados na plataforma Brasil garantindo o sigilo, Orçamento financeiro detalhado, Cronograma com etapas detalhada, Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e Projeto de Pesquisa Original na íntegra em Word. Atende à Norma Operacional no 001/2013(item 3/ 3.3).

Recomendações:

Após o término da pesquisa o CEP-HUUFMA solicita que se possível os resultados do estudo sejam devolvidos aos participantes da pesquisa ou a instituição que autorizou a coleta de dados de forma anonimizada.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

A EMENDA não apresenta óbices éticos, o Protocolo atende aos requisitos fundamentais da Resolução CNS nº 466/12 e suas complementares, sendo avaliada como APROVADA.

Considerações Finais a critério do CEP:

O Comitê de Ética em Pesquisa–CEP-HUUFMA, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº.466/2012 e Norma Operacional nº. 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela APROVAÇÃO da EMENDA referente ao projeto proposto.

Eventuais modificações ao protocolo devem ser inseridas à plataforma por meio de emendas de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Relatórios parcial e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente após a coleta de dados e ao término do estudo.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1069703_E2.pdf	02/02/2018 12:03:33		Aceito
Cronograma	Cronograma_atualizado_projeto_Zika.pdf	02/02/2018 11:59:08	Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_atualizado.docx	02/02/2018 11:44:31	Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento	Aceito

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 2.510.496

Outros	Justificativa_EMENDA_1.pdf	30/01/2018 12:38:29	Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento	Aceito
Declaração de Pesquisadores	carta_de_anuencia_projeto_zika_flavia.pdf	24/01/2018 14:07:16	Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Carde_de_anuencia_Prof_Joselio_UFRN_.pdf	24/01/2018 14:06:43	Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento	Aceito
Outros	AUTORIZACAO_GESTOR_BENEDITO_LEITE.pdf	24/01/2018 14:03:09	Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento	Aceito
Outros	RESPOSTA_AO_PARECER_PENDENTE_ZIKA.docx	16/07/2016 10:50:37	Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_PPSUS_ZIKA.doc	16/07/2016 10:47:50	Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	Declaracao_Biorrepositorio_Zika.pdf	16/07/2016 10:46:07	Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Parecer_COMIC.pdf	15/07/2016 12:41:30	Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento	Aceito
Declaração de Pesquisadores	ZikaDeclaracaodeResponsabilidadeFinal.pdf	27/05/2016 12:22:20	Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento	Aceito
Declaração de Pesquisadores	ZIKATermodeAnuencia.pdf	27/05/2016 12:20:52	Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento	Aceito
Folha de Rosto	FolhaderostoProjetoZika.pdf	27/05/2016 12:10:13	Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

CEP: 65.020-070

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

E-mail: cep@huufma.br



Continuação do Parecer: 2.510.496

SAO LUIS, 23 de Fevereiro de 2018

Assinado por:
Rita da Graça Carvalho Frazão Corrêa
(Coordenador)

Endereço: Rua Barão de Itapary nº 227

Bairro: CENTRO

UF: MA

Município: SAO LUIS

Telefone: (98)2109-1250

CEP: 65.020-070

E-mail: cep@huufma.br

ANEXO 2: Normas da Revista

Periódicos

ISSN	Título	Área de Avaliação	Classificação
0002-9378	AMERICAN JOURNAL OF OBSTETRICS AND GYNECOLOGY (PRINT)	MEDICINA II	A1



AMERICAN JOURNAL OF OBSTETRICS & GYNECOLOGY

AUTHOR INFORMATION PACK

TABLE OF CONTENTS

•	Description	p.1
•	Impact Factor	p.1
•	Abstracting and Indexing	p.1
•	Editorial Board	p.1
•	Guide for Authors	p.3



ISSN: 0002-9378

DESCRIPTION

The American Journal of Obstetrics and Gynecology, "The Gray Journal", covers the full spectrum of Obstetrics and Gynecology. The aim of the Journal is to publish original research (clinical and translational), reviews, opinions, video clips, podcasts and interviews that will have an impact on the understanding of health and disease and that has the potential to change the practice of women's health care. An important focus is the diagnosis, treatment, prediction and prevention of obstetrical and gynecological disorders. The Journal also publishes work on the biology of reproduction, and content which provides insight into the physiology and mechanisms of obstetrical and gynecological diseases.

Benefits to authors

We also provide many author benefits, such as free PDFs, a liberal copyright policy, special discounts on Elsevier publications and much more. Please click here for more information on our [author services](#).

Please see our [Guide for Authors](#) for information on article submission. If you require any further information or help, please visit our [Support Center](#)

IMPACT FACTOR

2017: 5.732 © Clarivate Analytics Journal Citation Reports 2018

ABSTRACTING AND INDEXING

Scopus

EDITORIAL BOARD

Editors-in-Chief

Catherine Bradley
Roberto Romero

Deputy Editors

George Macones
Jeffrey Peipert
Anthony M. Vintzileos

Associate Editors

Valerie L. Baker
Vincenzo Berghella
Aaron B. Caughey
Larry J. Copeland
William Grobman
Sarah Kilpatrick
Wanda Nicholson
Mary E. Norton
Samuel Parry
Maureen Phipps
Anthony C. Sciscione

International Affairs

Y. Ville

Media Editor

Christopher Robinson

Editors Emeriti

Thomas J. Garite
Moon Kim
Edward Quilligan

Social Media Committee

Pietro Bortoletto
Frederick R. Bossert
Martin Chavez
Joshua D. Dahlke
Andrea L. Greiner
Elisa M. Jorgensen
Kimberly Ma
Emily S. Reiff
Amber Samuel
Mark F. Sewell
J. Ryan Stewart
Mallory A. Stuparich
Melissa S. Wong
Pensee Wu

Statistical Consultants

Paul S. Albert
Cande Ananth
Anita Das
Mary Dupuis Sammel

Managing Editors

Sandra Perrine
Donna Stroud

Editorial Consultant

Marcia Ringel

GUIDE FOR AUTHORS

Article Types

Every submission must include a title page with a disclosure statement and a signed statement of authorship form. This requirement applies to ALL article types listed in the following section; including letters, replies, etc. The editors encourage the supplementary use of multimedia components such as PowerPoint, additional images, or video clips. Color figures and images are free.

Original Research

Manuscripts are limited to 3000 words of main text (not counting the title page, abstract, condensation, acknowledgements, references, tables, figures, and legends).

All authors must meet authorship criteria (see Named Authors and Contributors).

Systematic review and metaanalysis studies: please refer to Systematic Reviews.

Research articles must be accompanied by a structured abstract between 250 and 500 words, accompanied by as many alphabetized key words or short phrases as needed for indexing.

Structured Abstract - applies to Original Research

Between 250 and 500 words with the following required headings:

Background: an explanation of the basis of the study **Objective(s):** the purpose of the study (hypothesis being tested) **Study Design:** the setting for the study, subjects (number and type), treatment or intervention, and type(s) of statistical analysis used **Results:** the outcome(s) of the study and, if appropriate, their statistical significance **Conclusion(s):** overall significance of the results

The type(s) of non-human animals or other species used in an investigation must be named in the Title, Abstract, and Materials and Methods sections of the manuscript.

Each original research article is published in 2 formats: 1) in the printed journal: in an abbreviated form, that includes the abstract and 1 figure or table, and 2) in full on the Journal website (ajog.org), where the abstract also appears. The full length article is the official version and is linked to search engines. (Note: Expert Reviews, Systematic Reviews, Clinical Opinion, Call to Action, Viewpoint, and Point/Counterpoint are published in full in both the print and online versions.)

The full-length article becomes available online for citation before the print issue containing the abstract and accompanying material. Impact Factors and other citation indices are based on the full-length online article.

Translational Science

Translational science is typically presented in the form of an original research manuscript; however, the only type of non-clinical research considered must be translational in nature and contain biological implications for obstetrics and gynecology. Basic science without direct clinical relevance will not be considered; please see Editorial Policies for examples.

Reviews

Expert Reviews

These invited articles provide concise reviews on a topic in which the author has expertise. The manuscript should be comprehensive and balanced, but not exhaustive. Expert Reviews must be evidence based but may include some expert opinion and recommendations. The goal is to provide a concise update on the state of the art and guidelines for clinical care.

Expert Reviews are limited to 3500 words of main text (not counting the title page, abstract, condensation, acknowledgments, references, tables, legends, and figures). An unstructured abstract (1 paragraph, no categories) of no more than 350 words and as many alphabetized key words or short phrases as needed for indexing must be provided.

Subheadings to separate and identify sections of text should be unique to the topic; the 4 prescribed subheadings required for research articles do not apply. To prevent such subheadings from occupying many lines on a page, they should be as short as possible, not exceeding approximately 6 words, and preferably 1 to 4 words.

The full-length article appears both in print and on the Journal website.

Systematic Reviews

Each article in this category provides a comprehensive and exhaustive systematic review of the literature related to the topic, collating all relevant evidence meeting pre-specified eligibility criteria. Systematic reviews may not be combined with other manuscript types.

Systematic reviews must include a clearly stated set of objectives with reproducible methodology, a systematic search, eligibility criteria for selecting studies, assessment of study quality (risk of bias), an assessment of the validity of the findings and systematic synthesis of these findings. Metaanalysis, the use of statistical techniques to combine and summarize results across studies, may or may not be contained within a systematic review.

Authors must adhere to the PRISMA and MOOSE guidelines (for guidance see Editorial Policies).

Systematic Reviews are limited to 5000 words of main text (not counting the title page, abstract, condensation, acknowledgments, references, tables, legends, and figures). Include a structured abstract containing no more than 350 words and as many alphabetized key words or short phrases as needed for indexing.

Title: The title should identify the report as systematic review or metaanalysis.

Abstract: Include a structured summary according to PRISMA guidelines with the following headings:

Objective Data sources (including years searched) Study eligibility criteria (study design, populations, and interventions [if applicable]) Study appraisal and synthesis methods Results Conclusions

Main text: Headings and subheadings in the main text should include the following; note that subheadings may be modified to best represent the specific report.

Introduction (rationale, explain impetus for Review) Objective(s) Methods Eligibility criteria, information sources, search strategy Study selection Data extraction Assessment of risk of bias Data synthesis Results Study selection Study characteristics Risk of bias of included studies Synthesis of results Comment Main findings Strengths and limitations Comparison with existing literature Conclusions and Implications The full-length article appears both in print and on the Journal website.

Clinical Opinion

A Clinical Opinion paper presents a balanced, evidence-based discussion of a clinical issue pertinent to obstetricians and gynecologists. The paper may address an emerging or controversial topic or bring attention to a topic of increasing clinical significance. Opinions rendered must be based on an interpretation of available evidence.

Not appropriate for this category: 1) a review of an extensively researched subject. Submit as a Systematic Review. 2) an essay about issues for which minimal data exist, such as certain clinical, ethical, educational, practice, and research issues. Submit as a Viewpoint paper.

A Clinical Opinion paper is limited to 3000 words of main text (not counting the title page, abstract, condensation, acknowledgments, references, tables, legends, and figures). An unstructured abstract (1 paragraph; no headings) of no more than 350 words and as many alphabetized key words or short phrases as needed for indexing must be provided.

Subheadings to separate and identify sections of the text should be unique to the topic; the 4 prescribed categories required for research articles do not apply. To prevent such subheadings from occupying many lines on a page, they should be as short as possible, not exceeding approximately 6 words and preferably 1 to 4 words.

The full-length article appears both in print and on the Journal website.

Special Report

A Special Report is released by a consensus committee, working group, task force, or similar group, or summarizes the findings of an important meeting. (Please note this is not a venue for case reports; the Journal does not publish case reports.)

Include a condensation, an unstructured abstract (1 paragraph, no subheadings) of no more than 350 words, and as many alphabetized key words or short phrases as needed for indexing.

Subheadings to separate and identify sections of the text should be unique to the topic; the 4 prescribed categories required for research articles do not apply. To prevent such subheadings from occupying too many lines on a page, they should be as short as possible, not exceeding approximately 6 words and preferably 1 to 4 words.

The full-length article appears both in print and on the Journal website.

Viewpoint

Viewpoint articles are well-founded, scholarly pieces that address a scientific, ethical, academic, or practice-related topic in women's health. The article should be balanced and based on a critical analysis of the literature. Viewpoint articles are intended to stimulate discussion.

Viewpoint articles are limited to 1500 words of main text (not counting the title page, condensation, abstract, acknowledgments, references, tables, legends, and figures).

Include a condensation, an unstructured abstract (1 paragraph, no subheadings) of no more than 350 words, and as many alphabetized key words or short phrases as needed for indexing.

The full-length article appears both in print and on the Journal website.

Call to Action

Call to Action is a topical piece highlighting a problem related to a clinical, research, social, ethical, political, or economic issue pertinent to obstetricians and gynecologists and a suggested solution to that problem. Accordingly, the author must include a suggested corrective action; describing the problem alone is not sufficient.

Call to Action articles are limited to 2000 words of text (not counting the title page, condensation, abstract, acknowledgements, references, tables, legends, and figures).

Include a condensation, an unstructured abstract (1 paragraph, no subheadings) of no more than 350 words, and as many alphabetized key words or short phrases as needed for indexing. The main text must include: 1) "The Problem;," a one-sentence statement of the problem being presented; 2) "A Solution;," a one-sentence summary of the proposed solution; and 3) the presentation.

The full-length article appears both in print and on the Journal website.

Case Report

The Journal no longer publishes Case Reports. Submissions of this sort will NOT be considered.

Editorials

Editorials are written or solicited by the editors. Spontaneous submissions are not considered for publication.

Images in Obstetrics; Images in Gynecology

IMAGES presents the opportunity to share an interesting, high-quality image related to obstetrics and gynecology and women's health. Priority will be given to those images of particular interest and quality, and those that provide the reader with key learning points to aid their practices. Up to 5 images may be included that exemplify the condition or case. One will be chosen for the print publication, and all will be published in full in the official on-line publication. Both Journal versions will include a legend, not to exceed 150 words. No condensation or abstract will be published. Supplementary material may include video. IMAGES should include: 1) A title 2) No more than 3 authors 3) Refer to AJOG website for guidelines on submission of figures, to ensure high resolution and quality. 4) Figures should be appropriately labeled with arrows identifying structures 5) Any information that might identify the patient in the figure must be removed (including acquisition date). 6) If the patient is potentially identifiable from the image, authors must have obtained written permission from the patient. The

author is responsible for filing this in a secure location. The scope of the consent should allow the author to explicitly disclose the information to Elsevier and for Elsevier to republish the information in print and electronic format including journal web and social media sites. Authors must attest to having obtained written consent upon submission of the Images piece and must be prepared to provide this documentation upon the editors' request. 7) A legend up to 150 words that summarizes succinctly, as appropriate, the clinical information including presentation, evaluation (including surgical findings), treatment, and follow-up status. The legend should explain all labeled structures. 8) No references are permitted. 9) If a video is included, please submit a high-resolution still image. Submissions will be reviewed by a team of Editors and their decision to accept or reject will be final.

Surgeon's Corner

This content provides high-quality instruction or an application of a procedure or part of a procedure, designed to aid the practicing obstetrician or gynecologist in improving care. Surgeon's Corner is published in full online; the abstract, manuscript, and a photo or graphic are published in the print journal.

The manuscript must include all of the following:

Condensation: a 1-sentence condensation of the paper, consisting of no more than 25 words, to be placed in the Table of Contents. An unstructured abstract of no more than 300 words that summarizes the clinical situation and surgical solution, explains the figure used in the print edition (see item 4), and refers to the video. A description of the clinical situation or problem (under the heading: "Problem") followed by your surgical solution (under the heading: "Our solution"), in 600 words or less (not counting the title page, acknowledgement, references, tables, legends, and figures). Lists and bullet points may be used as appropriate. The text should refer to the figures/photos and video (see items 4 and 5). At least one high-quality photograph (300+ dpi; not taken from a website or cell phone), graphic, or figure, to be published in the print edition; this, plus up to 5 additional photos/figures may be included for the online version. A video clip or computer graphic not longer than 5 minutes, or a **maximum of 50MBs** or less per clip, to be published in the online version. Figure and video legends. 7 or fewer references.

Sketches

These articles describe interesting aspects of medical careers, work life, professional or personal development, or moments of insight, transformation, or inspiration related to professional experiences. Sketches are limited to 1000 words of main text, 7 or fewer references, and require a condensation.

The full-length article appears both in print and on the Journal website.

Letters to the Editors, Replies and Research Letters

Every Letter to the Editors, Reply, and Research Letter must include a title page, conflict of interest disclosure, and a Statement of Authorship signed by all authors. These submissions are subject to minor editorial alterations, may be shortened without the authors' approval, and published both in print and on the Journal website.

Please see Clinical Opinion as a venue for presenting a scholarly, evidence-based point of view about controversial issues in OB/GYN.

Letters to the Editor and Replies

Selected Letters to the Editors that cite at least 1 article published in the *American Journal of Obstetrics & Gynecology* within the previous 12 issues are considered for publication.

Letters to the Editors are limited to 3 authors, 400 words (not counting the title page or references), and 1 to 4 references. At least one of the references must cite the related Journal article(s). All data presented must be fully citable and cited in the supporting reference list.

The editors routinely invite the author(s) of the related article to respond in writing. Published letters are accompanied by either a reply from the original authors or the statement "Reply declined."

Research Letters

Research Letters, not linked to items published in AJOG, briefly summarize the results of original data. Each Research Letter is considered a scientific publication; authors must meet all requirements regarding responsible conduct of research (eg, appropriate IRB approval, data integrity, data retention). Most undergo external peer review. Reviews, case reports, and opinion pieces are not considered for publication under this category.

Research Letters are limited to 7 authors, 500 words (not counting the title page, references, or legend), 5 references and may include either 1 table or 1 figure. Online supplementary materials are not permitted. Research Letters should be formatted similar to the structured abstract guidelines for original research and divided into 4 sections: Objective, Study Design, Results, and Conclusion. Research Letters do not include an abstract or condensation.

BEFORE YOU BEGIN

Editorial Policies

Queries about submission requirements may be addressed to either of the managing editors:

Sandra Perrine • perrine@ajog.phxcoxmail.com
 Phone 480-749-2880 Donna L. Stroud • ajog@rroho.com
 Phone 614-915-9327

Ethics of the editorial process

If a report by any or all of the same author(s) has previously been published or is currently under preparation that deals with the same subjects, animals, or laboratory experiments, and deals with a similar subject as the submitted manuscript, the author(s) are to inform the editors in a cover letter about the similarities and differences of the reports. The editors may request that you upload such reports before further review. This requirement also applies to manuscripts in which subjects, animals, laboratory experiments, or data have been added to those reported previously. Please ensure that the final manuscript includes references for pertinent articles published prior to the publication of the AJOG paper.

Submission of an article implies that the work (including manuscript, figures, video clips, etc) described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <https://www.elsevier.com/postingpolicy>), that it is not currently under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere including electronically in the same form, in English or in any other language, without the written consent of the copyright-holder. Work that is already publically available in a substantially similar form (such as in the form of blogs, YouTube videos, etc) will not be considered for publication in AJOG under usual circumstances.

All submissions are subject to review with iThenticate Professional Plagiarism Prevention. <http://www.ithenticate.com>.

All policies of the American Journal of Obstetrics and Gynecology also apply to abstracts presented at Society Meetings that are published in this Journal as a result of the proceeding. Allegations of scientific misconduct and breaches of the ethical conduct of research will be assessed by the Editors and referred to the sponsoring Institution for review, inquiry, and/or investigation, and disposition. Examples of inappropriate acts include but are not limited to: fabrication, falsification, plagiarism, repetitive publication, obfuscation of significant research results, violating requirements for experimentation with human subjects or animals, failing to comply with authorship requirements and failing to report significant conflicts of interest. Honest mistakes and differences of opinion about experimental design or interpretation of results do not represent inappropriate acts. AJOG will make decisions about retraction of published work or other actions (such as sanctions) based upon evaluation of the information provided by the Institution and other information available to the Journal. Authors will be asked to identify the sponsoring Institution(s) which is responsible for the integrity of the scientific work and compliance with the regulations to protect human subjects and animals from research risk(s). When the research is sponsored from multiple Institutions, authors will be asked to identify the

Institution which will take the lead in handling a potential allegation. If the sponsoring Institution does not have a policy to deal with allegations of scientific misconduct or noncompliance with regulatory issues referred to above, the matter will be referred to a Committee appointed by the Editors.

Human and nonhuman experimentation

Authors must follow the ethical standards for human experimentation established in the Declaration of Helsinki (World Medical Association Declaration of Helsinki: recommendations guiding physicians in biomedical research involving human subjects. *JAMA* 1997;277:925-6). The editors assume that a manuscript emanating from an institution is submitted with the approval of the requisite authority. The authors of reports of human experimentation that require local institutional approval must have obtained this approval **before the experiment was started**; upon request of the Journal editors, the author(s) must provide copies of the appropriate documentation. Institutional approval must be indicated in the Materials and Methods section of the submitted manuscript. If the study is exempt from Institutional Review Board approval, an explanation must be provided under Materials and Methods.

For reports of experiments on nonhuman animals or other species, authors must state under materials and methods that the guidelines for the care and use of the animals approved by the local institution were followed. The type(s) of nonhuman animals or other species used in an investigation must be named in the title, abstract, key words, and materials and methods sections of the manuscript.

For Images in Ob/Gyn, Surgeon's Corner, Viewpoint, or similar reports in which the identity of the patient is potentially identifiable, authors must have obtained written permission from the patient(s) on whom the report is based. The author is responsible for filing this in a secure location. The scope of the consent should allow the author to explicitly disclose the information to Elsevier and for Elsevier to republish the information in print and electronic format including journal web and social media sites. Authors must attest to having obtained written consent in the manuscript and must be prepared to provide this documentation upon the editors' request.

All research studies, including those involving patients, patient records, research participants or databases, require ethics committee approval (or documented exemption from the Human Subjects Committee) and informed consent (or documented waiver of consent), both of which must be documented in the paper. Studies on patients, patient records, or volunteers require ethics committee approval and informed consent, both of which must be documented in the paper.

Trial and research guidelines

Authors must adhere to the following guidelines when formulating the study.

- **Randomized controlled trial.**

- All Randomized Clinical Trials **require registration** with clinicaltrials.gov (or other registered authority), prior to enrollment. On the manuscript title page include the: 1) Date of registration, 2) Date of initial participant enrollment, 3) Clinical trial identification number, and 4) URL of the registration site.

- Authors are to consult the updated CONSolidated Standards Of Reporting Trials (**CONSORT Statement**): Schulz KF, Altman DG, Moher D, CONSORT Group (2010). CONSORT 2010 Statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *PLoS Med* 7(3): e1000251. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000251>. <http://www.consort-statement.org> A flowchart as a figure must be submitted with the manuscript.

- **Systematic review or metaanalysis.** Authors are to consult the **PRISMA Statement**: Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG, and the PRISMA Group. Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses: the PRISMA Statement. *Ann Intern Med* 2009;151:264-9. <http://www.prisma-statement.org>

- **Metaanalysis or systematic review of observational studies.** Authors are to consult the **MOOSE Statement**: Stroup DF, Berlin JA, Morton SC, et al, for the Meta-analysis Of Observational Studies in Epidemiology [MOOSE] group. Metaanalysis Of Observational Studies in Epidemiology: a proposal for reporting. *JAMA* 2000;283:2008-12. <http://www.consort-statement.org/resources/downloads/other-instruments>

• **Diagnostic test(s).** Authors are to consult STAndards for the Reporting of Diagnostic accuracy studies (**STARD Statement**): Bossuyt PM, Reitsma JB, Bruns DE, et al, for the STARD Group. Towards complete and accurate reporting of studies of diagnostic accuracy: the STARD Initiative. Clin Chem 2003;49:1-6. <http://www.stard-statement.org>

• **Observational study in epidemiology.** Authors are to consult the **STROBE Statement**: von Elm E, Altman DG, Egger M, Pocock SJ, Gøtzsche PC, Vandenbroucke JP; STROBE Initiative. The STrengthening the Reporting of OBservational studies in Epidemiology (STROBE) statement: guidelines for reporting observational studies. J Clin Epidemiol 2008;61:344-9. <http://www.strobe-statement.org> or PLoS Med. 2007 Oct 16;4(10):e296. PMID: 17941714

• **Health economics.** In addition to the general instructions for authors and other guidelines applicable to the study reported in a submitted manuscript (eg, CONSORT guidelines for a randomized controlled trial; see above), authors of health economics manuscripts should consider certain issues specific to such studies and address them in the manuscript and/or submission letter. The checklist specific to this topic must be completed and included with the general submission checklist. https://www.elsevier.com/___data/promis_misc/ajoghealth.pdf

Translational Science

The only type of non-clinical research considered must be translational in nature and contain biological implications for obstetrics and gynecology. Additionally, the direct clinical relevance of every submission is considered when an editorial decision is made. Basic science without direct clinical relevance will not be considered.

As many definitions of basic and translational science abound, please see the following translational science examples to assist you in differentiating study types. If uncertain, authors may email an abstract to either editorial office with an inquiry as to whether or not the submission is encouraged; however, this does not guarantee acceptance.

Translational science examples

Ectopic Pregnancy Clinical Study: an observational cohort study which shows that patients with a subnormal increase in hCG maternal serum concentration are at increased risk for ectopic pregnancy. [Encouraged submission] Translational Science (bench to bedside): proteomic analysis of maternal plasma shows differentially-expressed proteins in patients with ectopic vs. normal pregnancy. Or, an experiment in which the fallopian tubes are ligated in pregnant animals and hCG determinations are measured in maternal serum. [Encouraged submission]

Translational Science (bedside to community): analysis of techniques to enhance the adoption of best practices in caring for women with ectopic pregnancy [Encouraged submission] Basic Science: a description of the glycosylation of protein structure of hCG (even if it is based on the purification of hCG from patients with ectopic pregnancies). [DISCOURAGED submission]

Preterm birth Clinical Study: an observational study in which a particular biomarker measured in the mid-trimester increases or decreases the risk for spontaneous preterm labor and delivery. [Encouraged submission] Translational Science: the transcriptome, proteome, genome, or metabolome of patients who subsequently have spontaneous preterm labor and delivery. [Encouraged submission] Basic Science: protein sequence of a particular biomarker. [DISCOURAGED submission]

Conflict of interest statement

Authors of all submissions must include a conflict of interest statement.

Disclosures must include any financial interest present **within the past three years** with commercial entities that are marketing or developing products (drugs, devices, diagnostic tools, etc.) **related to the subject matter of the manuscript**. Disclosures include, but are not limited to: stocks or shares, equity, employment, advisory or scientific board, grant funding, speaker's bureau, paid travel, consulting status, and honoraria. The monetary value of any such stock holdings should be named. No policy could cover every contingency that might be construed as a conflict of interest. Therefore, it is expected that should any potential conflict of interest exist, the authors have revealed this to the editors. All relevant conflicts of interest and sources of funding should be included on the title page of the manuscript at the time of submission under the headings "Conflicts of Interest" and "Source

of Funding" which will be published with the article. If the authors report no conflict, a statement of this will be published with the article. Failure to report disclosures may result in sanctions. Use as much or as little detail as appropriate.

Examples:

- The authors report no conflict of interest.
- R.J.X, M.F., and L.Y.V.R. are employed by the Curette Company, Worthingham, MI. The remaining authors report no conflict of interest.
- R.H. received research funding from PharmaCo, San Antonio, TX, for participating in a multicenter drug trial in 2011-12 S.B. reports no conflict of interest.
- This research was funded, in part, by a grant from the OxyContin Association (A.R.Z.)
- A.E.B. was on the Speaker's Bureau for PharmaCo in 2012.

Manuscripts written or developed by anyone other than the listed authors should name those individuals in the Acknowledgment(s) section and state their relationship to any commercial enterprise.

Submission declaration

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract, a published lecture or academic thesis, see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder.

Preprints

Please note that [preprints](#) can be shared anywhere at any time, in line with Elsevier's [sharing policy](#). Sharing your preprints e.g. on a preprint server will not count as prior publication (see '[Multiple, redundant or concurrent publication](#)' for more information).

Use of inclusive language

Inclusive language acknowledges diversity, conveys respect to all people, is sensitive to differences, and promotes equal opportunities. Articles should make no assumptions about the beliefs or commitments of any reader, should contain nothing which might imply that one individual is superior to another on the grounds of race, sex, culture or any other characteristic, and should use inclusive language throughout. Authors should ensure that writing is free from bias, for instance by using 'he or she', 'his/her' instead of 'he' or 'his', and by making use of job titles that are free of stereotyping (e.g. 'chairperson' instead of 'chairman' and 'flight attendant' instead of 'stewardess').

Named authors and contributors

Every author must provide a signed Statement of Authorship form upon submission. This requirement applies to all article types including, but not limited to: editorials, sketches, letters, and replies.

Authorship requirements for submissions to the Journal must conform to the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals from the International Committee of Medical Journal Editors. <http://www.icmje.org> and http://www.icmje.org/urm_full.pdf.

Each author named in the byline must qualify by having participated actively and sufficiently in the study reported. The basis for inclusion consists of 2 factors: 1) substantial contributions to (a) the concept and design or analysis and interpretation of data and (b) the author's having drafted the manuscript or revised it critically for important intellectual content; and 2) approval by each author of the version of the manuscript submitted. All conditions (1a, 1b, and 2) must be met. Others contributing substantively to the work, including participants in collaborative trials and persons involved solely in data collection, should be recognized separately in the Acknowledgment(s) section. The corresponding author must confirm that all bylined authors fulfilled all conditions described here.

Authorship by individuals employed by industry

AJOG values high-quality primary original research reports of industry-sponsored trials and requires appropriate attribution of authors, which may include individuals directly employed by industry (that is, companies producing drugs, devices, tests, equipment or companies with an interest in the topic

of the article). However, as of October 1, 2015, AJOG will no longer consider authorship by individuals directly employed by industry for the following categories of manuscripts: Expert review, Systematic review, Clinical opinion, Viewpoint and Call to Action. An individual is considered employed by industry if at least 25% of anticipated annual income is derived from a single manufacturer (as defined above). Individuals not employed by industry may submit manuscripts in these areas with the understanding that the AJOG financial disclosure policy is strictly adhered to.

Changes to authorship

This policy concerns the addition, deletion, or rearrangement of author names in the authorship of accepted manuscripts:

Before the accepted manuscript is published in an online issue: Requests to add or remove an author, or to rearrange the author names, must be sent to the Journal Manager from the corresponding author of the accepted manuscript and must include: (a) the reason the name should be added or removed, or the author names rearranged, (b) written confirmation (e-mail, fax, letter) from all authors that they agree with the addition, removal or rearrangement, and (c) written confirmation from that author that he/she meets the criteria for authorship. In the case of addition or removal of authors, this includes confirmation from the author being added or removed. Requests that are not sent by the corresponding author will be forwarded by the Journal Manager to the corresponding author, who must follow the procedure as described above. Note that: (1) Journal Managers will inform the Journal Editors of any such requests and (2) publication of the accepted manuscript in an online issue is suspended until authorship has been agreed.

After the accepted manuscript is published in an online issue: Any requests to add, delete, or rearrange author names will follow the same policies as noted above and require an erratum.

Article transfer service

This journal is part of our Article Transfer Service. This means that if the Editor feels your article is more suitable in one of our other participating journals, then you may be asked to consider transferring the article to one of those. If you agree, your article will be transferred automatically on your behalf with no need to reformat. Please note that your article will be reviewed again by the new journal. [More information.](#)

Article transfer service

This journal is part of our Article Transfer Service. This means that if the Editor feels your submission is more suitable in one of our other participating journals, then you may be asked to consider transferring the manuscript. If you agree, the manuscript will be transferred automatically on your behalf with no need to reformat. More information about this can be found here: <https://www.elsevier.com/authors/article-transfer-service>.

Appeals policy

An author may appeal an editorial decision within 30 days of receipt of the decision to decline a manuscript for publication. The editor's decision may be appealed only if the decision to decline involved a serious mistake, and not merely a judgment call that could have gone either way. Only one appeal is permitted per manuscript, and decisions on appeals are final. New submissions take precedence for the editors over appeals. The basis for an appeal must be set forth clearly and fully in writing to the Editor by the corresponding author.

Please contact one of the managing editors who will forward the written appeal to the Editor. In your appeal letter, state why you think the decision is mistaken and provide your specific responses to any of the reviewers' comments that seem to have contributed to the decision of 'decline to publish'.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (see [more information](#) on this). An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. [Permission](#) of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations. If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has [preprinted forms](#) for use by authors in these cases.

For gold open access articles: Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete an 'Exclusive License Agreement' ([more information](#)). Permitted third party reuse of gold open access articles is determined by the author's choice of [user license](#).

Author rights

As an author you (or your employer or institution) have certain rights to reuse your work. [More information](#).

Elsevier supports responsible sharing

Find out how you can [share your research](#) published in Elsevier journals.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established a number of agreements with funding bodies which allow authors to comply with their funder's open access policies. Some funding bodies will reimburse the author for the gold open access publication fee. Details of [existing agreements](#) are available online.

After acceptance, open access papers will be published under a noncommercial license. For authors requiring a commercial CC BY license, you can apply after your manuscript is accepted for publication.

Open access

This journal offers authors a choice in publishing their research:

Subscription

- Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our [universal access programs](#).
- No open access publication fee payable by authors.
- The Author is entitled to post the [accepted manuscript](#) in their institution's repository and make this public after an embargo period (known as green Open Access). The [published journal article](#) cannot be shared publicly, for example on ResearchGate or Academia.edu, to ensure the sustainability of peer-reviewed research in journal publications. The embargo period for this journal can be found below.

Gold open access

- Articles are freely available to both subscribers and the wider public with permitted reuse.
- A gold open access publication fee is payable by authors or on their behalf, e.g. by their research funder or institution.

Regardless of how you choose to publish your article, the journal will apply the same peer review criteria and acceptance standards.

For gold open access articles, permitted third party (re)use is defined by the following [Creative Commons user licenses](#):

Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND)

For non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

The gold open access publication fee for this journal is **USD 3900**, excluding taxes. Learn more about Elsevier's pricing policy: <https://www.elsevier.com/openaccesspricing>.

Green open access

Authors can share their research in a variety of different ways and Elsevier has a number of green open access options available. We recommend authors see our [open access page](#) for further information. Authors can also self-archive their manuscripts immediately and enable public access from their institution's repository after an embargo period. This is the version that has been accepted for publication and which typically includes author-incorporated changes suggested during submission, peer review and in editor-author communications. Embargo period: For subscription articles, an appropriate amount of time is needed for journals to deliver value to subscribing customers before an article becomes freely available to the public. This is the embargo period and it begins from the date the article is formally published online in its final and fully citable form. [Find out more](#).

This journal has an embargo period of 12 months.

Submission

Authors must submit all elements of their manuscripts online at <http://ees.elsevier.com/ajog>. Hard-copy submissions will NOT be considered or returned. The online system automatically converts source files to a single PDF file of the article, which is used in the peer-review process. Please note that even though manuscript source files are converted to PDF files at submission for the review process, these source files are needed for further processing after acceptance. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision takes place via email.

All policies of the American Journal of Obstetrics & Gynecology, including those related to Conflicts of Interest, Inappropriate Acts, and IRB approval; apply to all submitted articles, including those whose results were presented at professional society meetings.

Submitted manuscripts are screened by Journal staff and editors. For some papers, a decision is made to decline immediately. All others undergo peer review.

Manuscript Submission Checklist

You are not required to submit the [Manuscript Submission Checklist](#) but **must** follow its instructions. The checklist distills many key parts of the Guide for Authors. Incomplete submissions will not be considered.

Statement of Authorship

Every author on ALL submissions must sign a [Statement of Authorship](#).

Suggested reviewers

Optional: Upon submission, authors may provide the names, institution, **and email addresses** of 2-3 potential reviewers for editorial consideration. Suggested reviewers may include anyone knowledgeable in the area of study presented. Reviewers should not be mentors or former colleagues, and ideally should not be in the same city as the author (unless there is no person with the needed expertise outside of this city).

Previous submission (unpublished)

Provide a copy of previous peer review comments and a detailed response to each point. This is required for any submission previously submitted to AJOG, optional if previously submitted elsewhere.

Submit your article

Please submit your article via <http://ees.elsevier.com/ajog>.

PREPARATION

Requirements for the preparation of manuscripts

The author(s) accept(s) responsibility that the electronic file is complete and accurate upon submission, revision, and acceptance.

Editing services

AJOG publishes manuscripts only in American English. This includes using US spelling, punctuation, quotation marks, and decimal points. AJOG editors strongly encourage contributors whose English is not excellent to have their manuscripts edited by a professional translator or native English speaker before submission. Elsevier offers authors two services to help prepare their manuscripts for submission to an English-language journal.

The first service edits your manuscript already written in English to ensure it is in correct scientific English. This process does not change the content of your manuscript but improves understanding and readability for an English-speaking reader. This process takes less than six business days and the cost of an average manuscript is less than \$400. Please visit <http://webshop.elsevier.com/languageediting/pages/howdoesitwork.html> for more details and to upload your manuscript.

The second service translates your manuscript from your language (Chinese, Portuguese or Spanish) into either British or American English. This process is carried out by Language experts within your field, and takes less than 11 business days. The average cost is \$1,000. Please visit <http://webshop.elsevier.com/languageservices/translationservices/pages/howdoesitwork.html> for more details and to upload your manuscript.

Please note that these services are not mandatory for publication in an Elsevier journal. Using these services does not guarantee selection for peer review or acceptance, and you are not obligated to submit your edited manuscript to an Elsevier journal. Visit our [customer support site](#).

Use of word processing software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <https://www.elsevier.com/guidepublication>). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork.

Basic Format

Requirements for manuscripts submitted to the Journal generally conform to the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals from the International Committee of Medical Journal Editors (<http://www.icmje.org>).

Manuscripts must be submitted in American English, double spaced, with a font size no smaller than 12. Number pages consecutively in the upper right corner in the following order: title page, condensation and short version of title, abstract, main text, acknowledgments, references, tables, and figure legends.

IMPORTANT: Figures are to be uploaded individually and in separate files (one figure per file). **DO NOT embed the figure into the manuscript text file**, as this compromises the image quality, creating an unpublishable image (see artwork).

Use of Statistics and Math Formulae

In describing the statistical analyses performed, state which tests were used to evaluate a specific data set. In tables, indicate which statistical test(s) were used to evaluate the data.

Present simple formulae in the line of normal text where possible and use the solidus (/) instead of a horizontal line for small fractional terms, eg, X/Y. In principle, variables are to be presented in italics. Powers of e are often more conveniently denoted by exp. Number consecutively any equations that have to be displayed separately from the text (if referred to explicitly in the text).

Abbreviations, units, proprietary (brand) names, and symbols

Use only standard abbreviations. Do not use abbreviations in the title or in the abstract. In the text they should be kept to a practical minimum. The full word or phrase for which an abbreviation stands should precede its first use in the text, with the abbreviation following in parentheses, unless it is a conventional standard unit of measurement.

The use of conventional units of measure is recommended, followed by *Système International d'Unités* (SI) units in parentheses. For this and other issues of style, authors are advised to consult the current *AMA style manual*: Iverson C, Christiansen S, Flanagin A, et al. *AMA manual of style: a guide for authors and editors*. 10th ed. New York, NY: Oxford University Press; 2007.

Generic, chemical, and/or proprietary names of drugs may be used. When a generic or chemical name is used, authors may insert the proprietary name in parentheses after the drug's first mention in the text (optional). When a proprietary drug name is used, it should be followed parenthetically (at first mention only) by the full name of the manufacturer and the city and state (US) or the city, province (if appropriate), and non-US country in which its main headquarters are located. Proprietary (brand names) are not permitted in the manuscript title.

Do not insert in any part of the paper the symbol for copyright (©), registered trademark (®), or trademark (TM); if included, they will be removed before publication.

Permissions

Direct quotations, tables, figures, and any other material that has previously appeared in copyrighted material must be accompanied by written permission for their use from the copyright owner and original author(s) along with complete reference information. Photographs of identifiable persons either must be accompanied by signed releases or all recognizable features must be masked.

Article structure

Essential title page information

Title page (starting on page 1) – required for ALL article types, including: letters, replies, and online-only content – includes the following sequence:

1) Title (as concise as possible, approximately 12 words, without abbreviations or parenthetical abbreviations for terms used in the title, and suitable for indexing purposes) Proprietary (brand names) and conclusion statements are NOT permitted in the manuscript title

2) List of authors to be credited (byline), including each author's first name, middle initial, and LAST NAME (surname in all capital letters), with highest academic degrees (honorary degrees are not permitted); city or cities, state(s), province (Canada and Australia), and country or countries other than the United States in which the study was conducted; divisional and/or departmental and institutional affiliations of each author at the time the study was performed; **for authors not called "Doctor," indicate Ms. or Mr.**

Present/permanent address. If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

3) Disclosure statement of any potential of interest for each author; if no conflict exists; include the statement "The author(s) report(s) no conflict of interest."

4) Any source(s) of financial support for the research

Role of the funding source. You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the article for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated.

5) Required for clinical trials – include the clinical trial identification number and the URL of the registration site

6) Paper presentation information: if the findings were presented at a meeting, include the name of the meeting and its number (eg, "the 24th Annual Scientific Meeting" or "the 12th annual meeting"), the organization presenting the meeting, the city and state or city and non-US country (for Canada and Australia, include the province) in which the meeting was held, and the month, **inclusive dates** (not only the date on which the specific presentation was made), and year of the meeting

7) Disclaimer, if appropriate, such as for authors employed by the Federal Government or Armed Forces

8) The corresponding author's contact information (who will handle correspondence at all stages of submission, publication, and post-publication). Contact details must be kept up to date by the corresponding author. Include the full name, address, work and home and/or cell phone numbers (indicating which is which), fax number, and email address.

Word count

The word count of the abstract and the main text (not counting the title page, condensation, acknowledgements, references, tables, figure legends, and figures) must be included at the bottom of the title page.

Condensation, Implications and Contributions, and short version of title

On the next page of the manuscript, supply:1) **Condensation:** a 1-sentence condensation of the paper, consisting of no more than 25 words, stating its essential point(s); this sentence, which is subject to copy editing in conformance with Journal style, will appear in the Table of Contents. 2) **Short Title:** a short version of the article title, for the identification line inserted at the bottom of each published table and figure.3) **AJOG at a Glance:** Applies to Original Research and Systematic Review submissions. This section is limited to no more than 130 words, 1-3 short sentences or phrases in bullet form, briefly describing your study, its significance, and its contribution to the literature. Responses should be listed in bullet form with A., B., and C., headings (not in paragraph form). All responses are subject to minor editorial alterations and/or shortened without the authors' approval, and published both in print and on the Journal website. A. Why was this study conducted? B. What are the key findings? C. What does this study add to what is already known?

Abstract page, including key words/phrases

On the next page of the manuscript, provide an abstract and as many **alphabetized** key words or short phrases as needed for indexing.

Abbreviations and references are NOT permitted in the abstract (structured nor unstructured). Required abstract formats are described under the Article Types section of this document.

Text

The editors require that original research articles be organized into sections and identified with the following headings: (not applicable to review articles, clinical opinion, or other article types.)

The type(s) of non-human animals or other species used in an investigation must be named in the Title, Abstract, and Materials and Methods sections of the manuscript.

Introduction

State concisely the study's purpose and rationale. Present only the background, supported by a limited number of pertinent references necessary for the reader to understand why the study was conducted. Do not include study data or conclusions.

Materials and Methods

Describe briefly, but in sufficient detail to permit others to replicate the study, its plan, patients, experimental animals or other species, materials, and controls; methods and procedures; and statistical method(s) employed. Institutional Review Board (IRB) issues are to be addressed here as stated under "Human and nonhuman experimentation" in the Editorial Policies section above. If the study was exempt from IRB approval, provide an explanation in the Materials and Methods section of the paper.

Results

This section includes detailed findings and must cite, in numerical order, all tables and/or figures, which should supplement, not reiterate, the text. Emphasize only the most important observations. Reserve any comparisons with others' observations for the Comment section (see below).

Comment

Do not repeat the details of data presented under Results or present any new data here. The editors strongly advise the following structure:

A brief statement of the principal findings, limiting claims to those strictly supported by the data, avoiding speculation and overgeneralization. Give equal emphasis to positive and negative findings of equal scientific merit. Strengths and weaknesses of the study, both intrinsically and in relation to other studies, particularly any differences in results. The meaning of the study; eg, hypothesized mechanisms that might explain the outcomes observed and/or the implications for clinicians or policy makers. Indicate whether additional research is required before the information can be confidently used in clinical settings. Unanswered questions; proposals for future research.

Acknowledgment(s)

This section thanks those other than the authors who have made substantive contributions to the manuscript, including participants in collaborative trials and persons providing only data collection or assistance with preparing the paper for submission or publication. Name only those who have made substantive contributions to the study (see "Editorial Policies").

For each person named under Acknowledgments, including science writers, the following information must be provided: name, place of employment, funding source(s), and disclosure of source of compensation, whether financial or in the form of services or complimentary products. All individuals named in this section must consent to such acknowledgment.

References

Follow the format in the Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals from the International Committee of Medical Journal Editors. <http://www.icmje.org> Standard journal title abbreviations are available in the List of Serials Indexed for Online Users from the National Library of Medicine. http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/terms_cond.html

Numbering and order

All references are to be numbered sequentially as they fall in the text. For references that are not cited in the main text but only within table(s) or figure(s), begin such numbering *after* the numbers in the main reference list.

Insert citations in Arabic numerals as superscripts, not in parentheses. If the reference follows a comma or falls at the end of a sentence, the superscript should follow the comma or the period.

Do not include the first author of the cited reference in the text, in parentheses or otherwise, except as part of the text itself (Smith et al found.... or In a study by Smith et al,).

If any reference is repeated or out of order, the author is responsible for renumbering references as needed prior to submission or resubmission. If any reference(s) are added or deleted during editing, the author is responsible for renumbering all subsequent references, both in citations within the text (and tables and figures) and, correspondingly, in the reference list. For any citations used in tables or figure legends, renumbering should similarly be done there.

Reference style

In general references follow AMA style.

For up to 6 authors, list all; for 7 or more authors, list the first 3 + et al.

•Journal article

Nageotte MP, Vander Wal B. Achievement of the 30-minute standard in obstetrics—can it be done? *Am J Obstet Gynecol* 2012;206:104-7.

•Book chapter or section

Kim M. Amenorrhea: primary and secondary. In: Zuspan FP, Quilligan ED, eds. *Handbook of obstetrics, gynecology, and primary care*. St Louis, MO: Mosby; 1998:3-10.

•Personal communications; unpublished data

If essential, these may be cited, within parentheses, at an appropriate location in the text, but not as numbered references. Written, signed permission from individual(s) quoted *must accompany the manuscript upon submission*.

for additional examples see any recent issue of the Journal.

Abstracts

Abstracts of scientific meetings can be cited; however; once the complete work is published, the article citation is preferred.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations: <http://www.issn.org/services/online-services/access-to-the-ltwa/>.

Provisional patent applications

Provisional patent applications may not be cited as a reference.

Reference links

Increased discoverability of research and high quality peer review are ensured by online links to the sources cited. In order to allow us to create links to abstracting and indexing services, such as Scopus, CrossRef and PubMed, please ensure that data provided in the references are correct. Please note that incorrect surnames, journal/book titles, publication year and pagination may prevent link creation. When copying references, please be careful as they may already contain errors. Use of the DOI is encouraged.

References in a special issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and add any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Web references

Websites may or may not be appropriate sources for citation; e.g., websites that serve as repositories of genetic information maintained by NIH, NCI, and the National Library of Medicine are acceptable.

As a minimum, the full URL should be given and the date when the reference was last accessed. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

Tables

Submit tables in the manuscript file at the conclusion of the reference list and before the figure legends. Create all tables as double-spaced text in Microsoft Word. Any table submitted as a *.jpg or *.tif file will be returned for replacement.

Identify each table with a *brief* title (as few words as possible; reserve abbreviations for the key) and with an Arabic number (Table 1, Table 2, etc.) in the order in which it is cited in the text. Each column, including the first, must have a heading. Put all explanatory matter in footnotes, including the spelling out of any nonstandard abbreviations used in the table.

For footnote symbols within tables, follow the style and order noted on pages 90-95 of the AMA style guide, 10th edition. For placement, start in the upper left corner and work across, left to right, and down, line by line.

If a table, in whole or in part, was derived from copyrighted material, a footnote at the bottom of the table must credit the original source, cited fully. Any copyrighted material must be accompanied by **a letter or completed permission form** at the time of manuscript submission.

Figure captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Supplementary data

Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please provide the data in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at <https://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on. Similarly for tables and figures: Table A.1; Fig. A.1, etc.

Figure legends

On the final page of the manuscript supply the following for each figure:

The figure number, figure title, and a 1- or 2-sentence description (legend, caption). Explain any arrowhead, letter, or other symbol used to identify parts of a photograph, drawing, or other illustration. Spell out any abbreviations used. In photomicrographs, explain the internal scale and identify the method of staining, if appropriate. If a figure was previously published by any of the bylined authors or others, insert a statement that permission has been granted and by whom, as well as a full citation of the original publication.

Figures

There is no charge for the use of color figures. Submit each figure individually (one figure per file). DO NOT copy and paste or embed images into the manuscript text file or in a slide presentation. This compromises image quality making it unpublishable. Preferred image formats are: EPS, TIFF, or JPEG. Number figures sequentially in order as they appear in the text, with Arabic numbers (Figure 1, Figure 2, Figure 3A, etc). Assign to each figure a brief title (containing as few words as possible and reserving abbreviations for the legend). For further explanation and examples of artwork preparation, see artwork instructions to authors from AJOG's publisher at <https://www.elsevier.com/artwork> (click on "Artwork and Multimedia Instructions Interactive PDF").

Videos and computer graphics

Authors are encouraged to submit videos and computer-generated graphics; eg, a slide presentation with or without animation and sound. Although the publisher will not edit any video or computer graphic, the editors and reviewers may suggest changes. Any patient identification must be removed or masked. If music is utilized, appropriate permission is required.

Videos must be compatible with Windows Media Player and submitted in MPEG-1 or MPEG-2 (*.mpg) or QuickTime (*.mov) format. The maximum length of a video or computer graphic is 50 MBs or less per clip. Longer submissions may be divided into smaller clips, each of which should be identified at the beginning of that section; eg, Video Clip 1, Graphic 1. A concise legend for each video clip or computer graphic presentation must be included with the manuscript.

Please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or animation or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your video data.

For more detailed instructions please visit our video instruction pages at <https://www.elsevier.com/artworkinstructions>. Note: since video and animation cannot be embedded in the print version of the journal, please provide text for both the electronic and the print version for the portions of the article that refer to this content.

Videos and computer graphics accompanying a manuscript that is declined for publication will not be accepted separately. If the manuscript is accepted for publication, the presentation will be in the electronic version of your article, and in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>.

Illustration services

Elsevier's WebShop (<http://webshop.elsevier.com/illustrationservices>) offers Illustration Services to authors preparing to submit a manuscript but concerned about the quality of the images accompanying their article. Elsevier's expert illustrators can produce scientific, technical and medical-style images, as well as a full range of charts, tables and graphs. Image 'polishing' is also available, where our illustrators take your image(s) and improve them to a professional standard. Please visit the website to find out more.

Artwork

Electronic artwork

You are urged to visit the electronic artwork site (<https://www.elsevier.com/artworkinstructions>); some excerpts from the detailed information are given here:

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.

- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Size the illustrations close to the desired dimensions of the printed version.
- Submit each illustration as a separate file.

Formats

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

Please do not:

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support [Citation Style Language styles](#), such as [Mendeley](#). Using citation plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. If you use reference management software, please ensure that you remove all field codes before submitting the electronic manuscript. [More information on how to remove field codes from different reference management software.](#)

Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link:

<http://open.mendeley.com/use-citation-style/american-journal-of-obstetrics-and-gynecology>

When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plug-ins for Microsoft Word or LibreOffice.

Data visualization

Include interactive data visualizations in your publication and let your readers interact and engage more closely with your research. Follow the instructions [here](#) to find out about available data visualization options and how to include them with your article.

Research data

This journal encourages and enables you to share data that supports your research publication where appropriate, and enables you to interlink the data with your published articles. Research data refers to the results of observations or experimentation that validate research findings. To facilitate reproducibility and data reuse, this journal also encourages you to share your software, code, models, algorithms, protocols, methods and other useful materials related to the project.

Below are a number of ways in which you can associate data with your article or make a statement about the availability of your data when submitting your manuscript. If you are sharing data in one of these ways, you are encouraged to cite the data in your manuscript and reference list. Please refer to the "References" section for more information about data citation. For more information on depositing, sharing and using research data and other relevant research materials, visit the [research data](#) page.

Data linking

If you have made your research data available in a data repository, you can link your article directly to the dataset. Elsevier collaborates with a number of repositories to link articles on ScienceDirect with relevant repositories, giving readers access to underlying data that gives them a better understanding of the research described.

There are different ways to link your datasets to your article. When available, you can directly link your dataset to your article by providing the relevant information in the submission system. For more information, visit the [database linking page](#).

For [supported data repositories](#) a repository banner will automatically appear next to your published article on ScienceDirect.

In addition, you can link to relevant data or entities through identifiers within the text of your manuscript, using the following format: Database: xxxx (e.g., TAIR: AT1G01020; CCDC: 734053; PDB: 1XFN).

Mendeley Data

This journal supports Mendeley Data, enabling you to deposit any research data (including raw and processed data, video, code, software, algorithms, protocols, and methods) associated with your manuscript in a free-to-use, open access repository. During the submission process, after uploading your manuscript, you will have the opportunity to upload your relevant datasets directly to *Mendeley Data*. The datasets will be listed and directly accessible to readers next to your published article online.

For more information, visit the [Mendeley Data for journals page](#).

Data in Brief

You have the option of converting any or all parts of your supplementary or additional raw data into one or multiple data articles, a new kind of article that houses and describes your data. Data articles ensure that your data is actively reviewed, curated, formatted, indexed, given a DOI and publicly available to all upon publication. You are encouraged to submit your article for *Data in Brief* as an additional item directly alongside the revised version of your manuscript. If your research article is accepted, your data article will automatically be transferred over to *Data in Brief* where it will be editorially reviewed and published in the open access data journal, *Data in Brief*. Please note an open access fee of 500 USD is payable for publication in *Data in Brief*. Full details can be found on the [Data in Brief website](#). Please use [this template](#) to write your Data in Brief.

Data statement

To foster transparency, we encourage you to state the availability of your data in your submission. This may be a requirement of your funding body or institution. If your data is unavailable to access or unsuitable to post, you will have the opportunity to indicate why during the submission process, for example by stating that the research data is confidential. The statement will appear with your published article on ScienceDirect. For more information, visit the [Data Statement page](#).

AFTER ACCEPTANCE

Copyright statement

The publisher will request a signed copyright statement after final acceptance of a manuscript. However, a signed Statement of Authorship signed by all authors is required at the time of submission.

Proofs

One set of page proofs (as PDF files) will be sent by e-mail to the corresponding author (if we do not have an e-mail address then paper proofs will be sent by post) or, a link will be provided in the e-mail so that authors can download the files themselves. Elsevier now provides authors with PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download Adobe Reader version 9 (or higher) available free from <http://get.adobe.com/reader>. Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs (also given online). The exact system requirements are given at the Adobe site: <http://www.adobe.com/products/reader/tech-specs.html>.

Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately – please let us have all your corrections within 48 hours.

It is important to ensure that all corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility. Note that Elsevier may proceed with the publication of your article if no response is received.

Offprints and Reprints

The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via e-mail (the PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use). For an extra charge, paper offprints can be ordered via the offprint order form which is sent once the article is accepted for publication. Both corresponding and co-authors may order offprints at any time via Elsevier's WebShop (<http://webshop.elsevier.com/myarticleservices/offprints>). Authors requiring printed copies of multiple articles may use Elsevier WebShop's 'Create Your Own Book' service to collate multiple articles within a single cover (<http://webshop.elsevier.com/myarticleservices/offprints/myarticlesservices/booklets>).

Use of the Digital Object Identifier

The Digital Object Identifier (DOI) may be used to cite and link to electronic documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The assigned DOI never changes. Therefore, it is an ideal medium for citing a document, particularly 'Articles in press' because they have not yet received their full bibliographic information. Example of a correctly given DOI (in URL format; here an article in the journal *Physics Letters B*):

<http://dx.doi.org/10.1016/j.physletb.2010.09.059>

When you use a DOI to create links to documents on the web, the DOIs are guaranteed never to change.

Funding body agreements and policies

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors whose articles appear in journals published by Elsevier, to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <https://www.elsevier.com/fundingbodies>.

Subscription

Articles are made available to subscribers as well as developing countries and patient groups through our access programs (<https://www.elsevier.com/access>) No open access publication fee

All articles published open access will be immediately and permanently free for everyone to read and download. Permitted reuse is defined by your choice of one of the following Creative Commons user licenses:

Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivs (CC BY-NC-ND): for non-commercial purposes, lets others distribute and copy the article, and to include in a collective work (such as an anthology), as long as they credit the author(s) and provided they do not alter or modify the article.

Disclaimer

Statements and opinions published in articles and communications therein are held to be those of the author(s) and not necessarily of the editors or publisher of the Journal. The editors and publisher disclaim any responsibility or liability for such material. Neither the editors nor the publisher guarantees, warrants, or endorses any product or service advertised in the Journal or guarantees any claim made by the manufacturer of such a product or service.

AUTHOR INQUIRIES

Visit the [Elsevier Support Center](#) to find the answers you need. Here you will find everything from Frequently Asked Questions to ways to get in touch.

You can also [check the status of your submitted article](#) or find out [when your accepted article will be published](#).

© Copyright 2018 Elsevier | <https://www.elsevier.com>

ANEXO 3: Comprovante de Submissão da Revista

Submission Confirmation

2 mensagens

The American Journal of Obstetrics & Gynecology <eesserver@eesmail.elsevier.com> 28 de junho de 2019 14:01
 Responder a: The American Journal of Obstetrics & Gynecology <ajog@rrhio.com>
 Para: m.desterro.soares@gmail.com, cnsd_ma@uol.com
 Cc: bebecacastelo@hotmail.com, joseliogalvao@gmail.com, flaviaoc09@gmail.com, zubatista@yahoo.com.br, valeriasleitao@yahoo.com.br, marcos_antonio456@hotmail.com, flavidaly@yahoo.com.br, ritacarvalhal@hotmail.com, raidaribeiro@hotmail.com, carminha13032009@hotmail.com, luciane2406@yahoo.com.br, caiomboliveira@hotmail.com

*** Automated email sent by the system ***

"CARE OF PREGNANT WOMEN EXPOSED TO ZIKA VIRUS IN MARANHÃO, BRAZIL"

Dear Dr. Maria do Desterro Soares Nascimento:

This acknowledges the receipt of your submission entitled, "CARE OF PREGNANT WOMEN EXPOSED TO ZIKA VIRUS IN MARANHÃO, BRAZIL," to the American Journal of Obstetrics & Gynecology.

Please understand that if any item was omitted the submission will be considered incomplete and returned for resubmission.

Also, it is the responsibility of the corresponding author to ensure that:

- 1) all authors have been consulted and approve of the submission.
- 2) all appropriate Conflicts of Interest / Financial Disclosures for ALL authors has been included on the title page of the submission and in the online submission questions.

Thank you for submitting your research to the American Journal of Obstetrics & Gynecology.

Sincerely,

The Editors

=====

EDITORIAL OFFICE CONTACTS

EAST OFFICE
 Donna Stroud, Managing Editor
 Email: ajog@rrhio.com

WEST OFFICE
 Sandra Perrine, Managing Editor
 Email: sandra.perrine@cox.net

All Authors must disclose any potential conflict of interest

Disclosures must include any financial interest present within the past three years with commercial entities that are marketing or developing products (drugs, devices, diagnostic tools, etc.) related to the subject matter of the manuscript. Disclosures include, but are not limited to: stocks or shares, equity, employment, advisory or scientific board, grant funding, speaker's bureau, paid travel, consulting status, and honoraria. The monetary value of any such

stock holdings should be named. No policy could cover every contingency that might be construed as a conflict of interest. Therefore, it is expected that should any potential conflict of interest exist, the authors have revealed this to the editors. All relevant conflicts of interest and sources of funding should be included on the title page of the manuscript at the time of submission under the headings "Conflicts of Interest" and "Source of Funding" which will be published with the article. If the authors report no conflict, a statement of this will be published with the article. Failure to report disclosures may result in sanctions. Use as much or as little detail as appropriate.

Manuscripts written or developed by anyone other than the listed authors should name those individuals in the Acknowledgment(s) section and state their relationship to any commercial enterprise.

Maria do Desterro Soares Brandão <m.desterro.soares@gmail.com>
Para: Rebeca Castelo <bebecacastelo@hotmail.com>

28 de junho de 2019 14:32

----- Mensagem encaminhada -----

De: **The American Journal of Obstetrics & Gynecology** <eesserver@eesmail.elsevier.com>

Data: sexta-feira, 28 de junho de 2019

Assunto: Submission Confirmation

Para: m.desterro.soares@gmail.com, cnsd_ma@uol.com

Cc: bebecacastelo@hotmail.com, joseliogalvao@gmail.com, flaviaoc09@gmail.com, zubatista@yahoo.com.br, valeriasleitao@yahoo.com.br, marcos_antonio456@hotmail.com, flavidaly@yahoo.com.br, ritacarvalho@hotmail.com, raidaribeiro@hotmail.com, carminha13032009@hotmail.com, luciane2406@yahoo.com.br, caiomboliveira@hotmail.com

[Texto das mensagens anteriores oculto]

--

Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento

ANEXO 4: Artigo Submetido na revista The American Journal of Obstetrics & Gynecology

CARE OF PREGNANT WOMEN EXPOSED TO ZIKA VIRUS IN MARANHÃO, BRAZIL

Rebeca Costa C Branco, MD; Josélio Maria G Araújo, PhD; Flávia O Cardoso, PhD; Zulmira S Batista, PhD; Valéria Maria S Leitão, MD, MS; Marcos Antonio CN Silva, MD; Flávia Castello B Vidal, PhD; Rita da Graça CF Corrêa, PhD; Raimunda R Silva, PhD; Maria do Carmo L Barbosa, PhD; Luciane Maria O Brito, PhD; Caio Márcio B Oliveira, PhD, Maria do Desterro SB Nascimento, PhD

CORRESPONDING AUTHOR: M.D, Ph.D Maria do Desterro Soares Brandão Nascimento. Avenida dos Portugueses, 1966, Bacanga. Cidade Universitária da Universidade Federal do Maranhão. Prédio da Pós-Graduação do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, CEP 65080-805 m.desterro.soares@gmail.com; +55 (98) 32728535.

FUNDING: EDITAL 008/2016 PPSUS (SUS Research Program)

WORD COUNT: 3000

Condensation: Zika virus was identified in asymptomatic pregnant women in Maranhão, Brazil

Short title: Zika virus in pregnant women in Maranhão, Brazil

AJOG at a Glance:

A. Why was the study conducted?

This study was conducted due to the epidemiological importance of Zika virus in Brazil and the impact in newborns malformations, such as microcephaly. Because of the nonspecific and senescent symptoms of other arboviruses, it is important to identify the presence of Zika in pregnant women

B. What are the key findings?

Six and 117 pregnant women were positive for anti-ZIKV IgM and anti-ZIKV IgG antibodies, respectively, according to the rapid test, and ZIKV was detected in nine placental and three umbilical cord blood samples by RT-qPCR. Prenatal care did not meet the quality criteria recommended by the Ministry of Health

C. What does this study add to what is already known

Zika virus was identified in asymptomatic pregnant women in Maranhão, Brazil, showing the importance to detect the Zika virus in prenatal care and to contribute for the evaluation of the newborns.

Keywords: Zika virus infection. Prenatal care. Unified Health System.

Conflicts of interest

The authors report no conflict of interest

ABSTRACT

Background: Zika virus (ZIKV) is a flavivirus transmitted by mosquitoes of the genus *Aedes*, which was first identified in 1947 in rhesus monkeys in Uganda. During mammalian pregnancy, the placenta acts as a barrier between the mother and fetus. The observed association between ZIKV infection during human pregnancy and microcephaly and other fetal anomalies indicates that ZIKV may damage the placenta and reach the fetus. **Objectives:** This study aimed to analyze the care of pregnant women exposed to ZIKV within the Unified Health System with a focus on the clinical and molecular diagnosis of ZIKV infection and prenatal care. **Study design:** This study included 197 pregnant women selected by convenience sampling who visited two maternity clinics (Benedito Leite and Maternity and Infant Care Unit of the University Hospital of the Federal University of Maranhão) between April 2017 and June 2018. Venous blood, umbilical cord blood (during placental expulsion), and placental tissue fragments (maternal and fetal sides) close to the umbilical cord insertion and placental apices were collected from the patients. Specific laboratory tests (quantitative reverse transcription polymerase chain reaction [RT-qPCR] and immunoglobulin G [IgG] and IgM serology) were performed using the blood and placenta samples and nonspecific laboratory profiles (TORCH screen) were obtained from medical records. The data were evaluated and transferred to a database and digitized using Epi-Info software. **Results:** The study results revealed that pregnant women were predominantly from São Luís; were aged 19–35 years; had 10–15 years of schooling; and were of brown race, married, and Catholic. Mothers with positive RT-qPCR results were in the age group older than 19 years. Six and 117 pregnant women were positive for anti-ZIKV IgM and anti-ZIKV IgG antibodies, respectively, according to the rapid test, and ZIKV was detected in nine placental and three umbilical cord blood samples by RT-qPCR. Prenatal care did not meet the quality criteria recommended by the Ministry of Health. Care was offered to pregnant women until birth through prenatal care appointments, seminars, distribution of folders, and training of healthcare professionals on prenatal care. **Conclusions:** Prenatal care of pregnant women enabled the detection of ZIKV in the placentas and umbilical cords of women without evidence of clinical manifestations. The care of newborns was offered based on the results of RT-qPCR tests performed on mothers. The presence of ZIKV in umbilical cord blood was not related to morphological and/or psychomotor changes in the newborns. Half of the pregnant women had six or more prenatal care appointments and fewer than half began receiving prenatal care on the first trimester. TORCH screens were not performed on all pregnant women with placenta positive for ZIKV by RT-qPCR.

Introduction

The Zika virus (ZIKV) belongs to family Flaviviridae, genus *Flavivirus*. It is an arbovirus transmitted by the bite of female *Aedes* mosquitoes. It was first described in Africa in 1947 after it was isolated from *Rhesus* monkeys. It was first isolated from humans in 1952 in Nigeria¹. The first confirmed case in the Americas was reported in May 2015²; however, phylogenetic and molecular analyses indicate that it was introduced in Brazil between May and December 2013³⁻⁵.

In October 2015, an unexpected increase in the number of cases of newborns with microcephaly was observed in Brazil, initially in the state of Pernambuco and subsequently in other states of Northeast Brazil. This increase occurred after the occurrence of fever due to ZIKV was recorded in the same region. In less than one year after it was introduced, the ZIKV spread throughout all regions in Brazil. The disease has exhibited continued transmission in a large part of the Brazilian territory⁶.

The term congenital Zika syndrome describes a series of congenital defects associated with ZIKV infection, including microcephaly, complex brain malformations, and eye lesions. Although microcephaly is a classic finding for its diagnosis, there is evidence that subtle but destructive brain and ocular injuries can also occur in infants with normal head size at birth⁷.

Although vector transmission predominates in ZIKV infections in humans, transmission through sexual contact⁸⁻¹⁰, blood transfusion¹¹⁻¹², occupational exposure in laboratory workers, and intrauterine and intra-birth transmission¹³ have also been reported. The diagnostic methods for ZIKV include reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR)¹⁴, quick molecular test, and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) serology testing¹⁵.

Considering the epidemiological importance of ZIKV infection during pregnancy and its repercussions on the mother-fetus binomial, the aim of the present study was to correlate ZIKV infection of the placenta and umbilical cord blood with teratogenicity in women attended within the SUS in São Luís, state of Maranhão (MA) and to evaluate prenatal care.

This is the first study of ZIKV infection diagnosis in asymptomatic pregnant women in the state of Maranhão, Brazil, using different methods. We believe that these findings will contribute to the improvement of health care and strategic planning of public policies regarding obstetric and neonatal care.

MATERIALS AND METHODS

Study type and area

The present study assessed the prevalence of ZIKV infection in a contingency sample of pregnant women attended at the Maternity and Infant Care Unit of the University Hospital of the Federal University of Maranhão (HU-UFMA) and the State Maternity Benedito Leite, between April 2017 and June 2018.

Study population

The study population consisted of pregnant women between 15 and 40 years of age who underwent vaginal birth or Cesarean section and were attended at the HU-UFMA (high-risk hospital) or State Maternity Benedito Leite (normal risk hospital), both in São Luís, MA, Brazil.

A contingency sample was used, consisting of women who went to the emergency delivery services of their respective maternities during the period of sample collection and who agreed to participate in the study.

Inclusion and exclusion criteria

The inclusion criteria were pregnant women in active labor or undergoing elective Cesarean sections who spontaneously reported to the emergency services of the maternities included in the study and who signed the Informed Consent Form, or Consent Form in the case of women under 18 years of age.

The exclusion criteria were pregnant women with false labor and those who reported spontaneously to the emergency services of the maternities included in the study and did not sign the Informed Consent Form or Consent Form. Cases in which the tests could not be performed due to technical difficulties and pregnant women with positive serology for syphilis, toxoplasmosis (immunoglobulin M [IgM]), rubeola (IgM), human immunodeficiency virus (HIV), hepatitis B (hepatitis B surface antigen [HBsAg]), or cytomegalovirus (IgM) or those who presented with a compromised placenta due to intrauterine growth restriction, polyhydramnios, oligohydramnios, pre-eclampsia, antiphospholipid antibody syndrome, and others were also excluded.

Sample calculation and final sample

Because the number of cases was small relative to the total population, the sample was finite. We, therefore, used the following equation:

$$n = \frac{n_0}{1 + \frac{n_0 - 1}{N}}$$

n_o = sampling effort;

N = sample size in the population.

Where n_o was defined as:

$$n_o = \frac{z(k)^2}{4d^2}$$

Legend:

$z(K)^2$ = t- table value with (n-1) degrees of freedom for the confidence interval;

d = error

1st Case: Using the number of diseases that caused microcephaly diagnosed during prenatal care at a given reference hospital of São Luís, MA, that corresponded to 400 with a 5% confidence interval, we have the following values:

First, n_o was determined:

$$n_o = \frac{1,96^2}{4(0,05)^2} = 384,16$$

Substituting n_o we have:

$$n = \frac{384,16}{1 + \frac{(384,16-1)}{400}} = 196,21$$

The sample should, therefore, include 196 diagnosed cases causing fetal microcephaly in order for the findings to be considered statistically significant.

The contingency sample consisted of 203 pregnant women. However, six were excluded because it was not possible to collect blood, resulting in a final sample of 197 pregnant women from the two studied maternities.

Data collection

Sample collection was performed between January and June 2018. An interview was performed at the time of sample collection using a structured epidemiological questionnaire that included information about sociodemographic characteristics, sexual habits and reproductive history, clinical and obstetric history, and data obtained from the prenatal card.

The women underwent a careful obstetric examination performed by the assistance team. Peripheral venous blood was collected from the antecubital vein (2–5 mL, without anticoagulant).

Umbilical cord blood was collected during placental expulsion and three pairs of placental tissue samples (maternal and fetal) were collected close to the umbilical cord insertion and placental apices after placental expulsion.

The placenta sample pairs were placed in separate jars. One sample was fixed in 10% formalin for subsequent processing and histopathological evaluation. The other sample was placed in *RNAlater*TM Stabilization Solution (Invitrogen, USA), stored at 4°C overnight, and stored at -80°C for subsequent virus detection by RT-qPCR. RNA extraction was performed at the Multiuser Laboratory of the Post-graduate Program on Adult Health, at the premises of the Tumor and DNA Bank of Maranhão.

Laboratory tests

Rapid test

Possible ZIKV infections in the 197 pregnant women included in the study were evaluated using the rapid test for ZIKV, TR DPP® Zika IgM/IgG - Bio-Manguinhos provided by the Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz).

The test was performed according to the manufacturer's recommendations.

According to the manufacturer, the test is negative for IgM and IgG for values of 0–22, indeterminate for values of 23–27, and positive for values equal to or higher than 28.

Cross-reactions with antigens from dengue, chikungunya, and yellow fever may occur. This was minimized by subsequently performing RT-PCR.

RT-qPCR

Viral RNA extraction

Viral RNA was extracted from total umbilical cord blood samples using a QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen, USA) according to the manufacturer's recommendations.

Placental fragments that had been placed in *RNAlater*TM Stabilization Solution were ground using a porcelain mortar and pestle and the homogenate was centrifuged for 15 min at 6000 RPM. The supernatant was collected and viral RNA was extracted using a QIAamp Viral RNA Mini Kit for subsequent detection and quantification by RT-qPCR, as follows.

RT-qPCR for ZIKV detection

ZIKV was detected by RT-qPCR (TaqMan®), as described by Faye et al. (2013). Two forward and reverse consensus primers (Zika_qRT_F and Zika_qRT_R), complementary to the

genes coding for the NS5 protein (the most conserved in the *Flavivirus* genus) were used at a concentration of 200 nM, along with the probe (Zika_qRT_P) at a concentration of 125 nM (Framework 1).

Framework 1. Oligonucleotide primers used in RT-qPCR for ZIKV detection (Y = T or C, R = A or G).

Type of oligonucleotide (sense)	Sequence sense (5'–3')	Nucleotide position
Primer Zika_qRT_F (+)	AARTACACATACCARAACAAAGTG GT	9271–9297
Primer Zika_qRT_R (-)	TCCRCTCCCYCTYTGGTCTTG	9352–9373
Probe Zika_qRT_P	FAM-CTYAGACCAGCTGAAR-BBQ	9304–9320

Source: Faye et al. (2013)¹⁶.

RT-qPCR reactions were performed for each sample as follows: 2.5 µL of TaqMan FAST 1-Step Master Mix (2x) (Applied Biosystems, Foster City, USA), 0.2 µL of 200 nM Zika_qRT_F primer (Invitrogen, USA), 0.2 µL of 200 nM Zika_qRT_R primer (Invitrogen, USA), 0.2 µL of 125 nM Zika_qRT_P probe (Applied Biosystems®, Foster City, USA), 1.9 µL of nuclease-free water (Promega, Madison, USA), and 5 µL of the extracted RNA were mixed and added to each well of a 96-well optical PCR plate (Applied Biosystems®, Foster City, USA). The reactions were performed using an ABI Prism 7500 Fast thermocycler (Applied Biosystems®, Foster City, USA). The PCR program consisted of an initial cycle at 50°C for 5 min for reverse transcriptase activation, followed by enzyme inactivation and initial denaturation at 95°C for 20 seconds, 40 cycles at 95°C for 15 seconds for denaturation, primer annealing at 60°C for 1 min, extension at 60°C for 1 min, and final extension at 60°C for 1 min.

Statistical analysis

A digital databank was constructed using IBM SPSS Statistics for Windows, version 22.0, which included sociodemographic and clinical data and laboratory test results for the pregnant women and newborn umbilical cord blood. The data were analyzed and transferred to a computerized databank using Epi-Info software. A significance level of $p < 0.05$ and confidence interval of 95% were used. Variables with normal distributions were analyzed using parametric tests, while variables without normal distribution were analyzed using non-parametric tests.

Qualitative variables were analyzed using chi-square and Fisher's exact tests and odds ratios (ORs) (CI 95%). A multivariate analysis was performed using the logistic regression model.

Average, standard deviation, and minimum and maximum or median values were calculated for quantitative variables with normal distributions. The 25th and 75th percentiles were determined for variables with non-normal distributions.

The relationships between epidemiological, clinical, and histopathological data and the laboratory results for ZIKV were evaluated by chi-square and Fisher's exact tests, with $p < 0.05$. All statistical analyses were performed using GraphPad Prism version 6 (GraphPad Software, CA, USA).

Ethical aspects

The present project was approved by the Ethical Research Committee of the University Hospital of the Federal University of Maranhão (number 2.475.441). The women included in the study signed an Informed Consent Term or Consent Term (Resolution 466/12 from the National Health Council and supplements).

RESULTS

Of the 197 pregnant women included in the present study, 69.2% resided in the city of São Luís, were 19–35 years of age (84.8%), had 10–15 years of schooling (67.0%), were of brown race (64.0%), were remarried (69.5%), and were Catholic (60.9%) (Table 1).

According to the rapid test results (test DPP® Zika IgM/IgG), 39.6% of the women were negative for IgM and IgG and 3% were positive for IgM. ZIKV was identified in three (1.5%) of the 197 total umbilical cord blood samples and in nine (4.6%) of the placenta samples (Table 2).

The quality of prenatal care for pregnant women according to RT-qPCR results is presented in Table 3.

Comparison of pregnant women who underwent TORCH screens (toxoplasmosis, rubella, and cytomegalovirus) during prenatal care and the results of ZIKV testing of placental samples by RT-qPCR are shown in Table 4.

DISCUSSION

Principal findings of the study

The results of the present study indicate that ZIKV infection was not associated with the quality of prenatal care.

The results revealed a predominance of pregnant women between 19 and 35 years of age (84.8% of the participants) and 10.7% of the participants were teenagers (18 years or younger) and 4.6% were older than 36 years of age.

The observed teenage pregnancy rate was higher than at reported nationally (6.84%) by the World Health Organization (2018)¹⁷. According to the Ministry of Health, the pregnancy risks are higher for women younger than 15 years and older than 35 years of age. Professionals should not handle teenage pregnancy (women 15–19 years of age), in the same way as adult pregnancy because teenagers are still undergoing growth and biopsychosocial development¹⁸.

Most pregnant women in the present study were of self-declared brown race (64%). These results were similar to those reported by Costa et al. (2013)¹⁹, who observed a predominance of pregnant women between 18 and 40 years of age who self-declared as brown race (60.9%).

Regarding education, 67% of the pregnant women in the present study had between 10 and 15 years of schooling and, therefore, a good level of education, which may promote the beginning of prenatal care. Our data are in contrast with that reported by Gonzaga et al. (2016)²⁰, who evaluated prenatal care and associated risk factors and reported that 51% of participants had up to 8 years of schooling. A low level of education places pregnant women at a disadvantage in terms of material resources and social support; thus, this is an obstetric risk factor. This contrast may be explained by the fact that our study was performed in the state capital, from which most of the subjects originated.

Most of the pregnant women in the study (69.5%) lived in marital union and, therefore, had a partner. The presence of a partner during pregnancy is important because of the physiological changes, anguishes, fears, anxiety, and doubts that arise during that period. Partners provide psychological support and their participation before, during, and after the birth is beneficial for the wellbeing both the mother and the newborn²¹.

Most women in the present study were Catholic (60.9%), followed by evangelists (22.8%). A predominance of Catholic religion among pregnant women in Juiz de Fora²².

Access to prenatal care is considered *sine qua non* for trouble-free pregnancies for both mother and child¹⁸.

In our study, the prevalence of unplanned pregnancies was 72.5% and 96.4% were accepted pregnancies. This is similar to the values observed by Coelho et al. (2012)²³, who reported an unplanned pregnancy prevalence of 66.5%. One of the women who did not accept the pregnancy was positive for ZIKV by RT-qPCR, reinforcing the importance of quality prenatal care.

Although most pregnant women (54.8%) went to six or more appointments and 48.7% began prenatal care in the first trimester, 45.2% went to fewer than six prenatal consultations, indicating that health professionals should encourage the early beginning of prenatal care.

Quality prenatal care requires regular appointments beginning early in the pregnancy, with

the aim of ensuring the health of the mother and her baby. According to the parameters of the Program to Humanize Prenatal Care and Childbirth (*Programa de Humanização do Pré-Natal e Nascimento-PHPN*) of the Ministry of Health, quality prenatal care includes a first prenatal care consultation up to day 120 of pregnancy and advises at least six appointments, preferentially one during the first trimester, two in the second trimester, and three in the third trimester. Appointments should be monthly up to 28 weeks, biweekly between 28 and 36 weeks, and weekly from 36 to 41 weeks of gestation¹⁸.

The values observed in the present study were lower than those reported by Paris et al (2013)²⁴, who evaluated the quality of prenatal care and observed that the minimum standards set by PHPN were met, with most pregnant women (91.9%) going to six or more appointments.

Silva et. al. (2013)²⁵ evaluated prenatal care within primary care in the municipality of João Pessoa, reporting that 83.6% of pregnant women began receiving prenatal care during the first trimester and that 89.9% attended at least six prenatal care appointments. These values are higher than those observed in the present study.

According to the Ministry of Health, IgG and IgM serology for toxoplasmosis should be included in routine prenatal tests, as facilitated by the Stork Network (*Rede Cegonha*)¹⁸. In our study, this test was only performed in 34.5% of pregnant women during the 1st trimester, 37% during the 2nd trimester, and 16.7% during the 3rd trimester. This shows a flaw in prenatal care, since less than half of the pregnant women were tested due to a late start of prenatal care or failure to follow up. In addition, toxoplasmosis may also result in microcephaly when undiagnosed or inadequately treated.

Strengths and limitations

The main strengths of this research included the following: (1) this is the first study of detection of Zika virus in asymptomatic pregnant women from Northeast, Brazil; (2) The study identified ZIKV in nine placental and three umbilical cord blood samples by RT-qPCR; (3) the study shows the importance of detecting Zika virus in prenatal care of all pregnant women in Brazil.

The limitations are that the sample was of convenience and included only two maternities, one of low complexity and the other of high complexity. Therefore, no significant association was found because of the diversity of the population included and the low prevalence of ZIKV, besides the importance to find Zika virus in asymptomatic pregnant women.

CONCLUSIONS

The study results showed the presence of ZIKV in the placenta and umbilical cord of women without clinical manifestations.

Newborn care was supplied based on the results of RT-qPCR tests performed on mothers.

The presence of ZIKV in umbilical cord blood was not related to morphological and/or psychomotor changes in the newborns.

Half of the pregnant women included in this study went to six or more prenatal care appointments and less than half began prenatal care during the first trimester. TORCH screening was not performed for all pregnant women with placenta positive for ZIKV by RT-qPCR.

Acknowledgments

We are grateful to Health Minister of Brazil, Programa de Pesquisas para o Sistema Único de Saúde (PPSUS) and Fundação de Amparo À Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Estado do Maranhão for financial support.

We are grateful to the University Hospital from Federal University of Maranhão and Benedito Leito Maternity for providing the patients that were included in this research.

We are grateful to Federal University of Rio Grande do Norte and Oswaldo Cruz Foundation for the development of experimental tests.

Author's information

From the Post-graduate Program in Adult Health, Federal University of Maranhão (Rebeca Costa C Branco, Zulmira S Batista, Flávia Castello B Vidal, Luciane Maria O Brito, Caio Márcio B Oliveira, Maria do Carmo L Barbosa and Maria do Desterro SB Nascimento) From Federal University of Rio Grande do Norte (Josélio Maria G Araújo). From Oswaldo Cruz Foundation (Flávia O Cardoso). From Federal University of Maranhão (Raimunda R Silva and Rita da Graça CF Corrêa). From State University of Campinas (Marcos Antonio CN Silva)

References

1. Dick GW, Kitchen SF, Haddock A.J. Zika virus. I. Isolations and serological specificity. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1952;46:509-520.
2. Zanoluca C, Melo VC, Mosimann AL, Santos GI, Santos CN, Luz K, et al. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2015;110:569-572.
3. Ayllón T, Campos RM, Brasil P, Morone FC, Câmara DCP, Meira GLS, et al. Early Evidence for Zika Virus Circulation among *Aedes aegypti* Mosquitoes, Rio de Janeiro, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2017;23(8):1411-1412.
4. Faria NR, Azevedo RDS, Kraemer MUG, Souza R, Cunha MS, Hill SC., et al. Zika virus in the Americas: early epidemiological and genetic findings. *Science.* 2016;352:345-349.

5. Liu ZY, Shi WF, Qin CF. The evolution of Zika virus from Asia to the Americas. *Nat Rev Microbiol.* 2019;17(3):131-139.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Boletim epidemiológico 56 (Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde), 2018
7. Walker CL, Little ME, Roby, JA, Armistead B, Gale MJr, Rajagopal L, et al. Zika virus and the nonmicrocephalic fetus: why we should still worry. *Am J Obstet Gynecol.* 2018;220(1):45-56.
8. Brooks RB, Carlos MP, Myers RA, White MG, Bobo-Lenoci T, Aplan D, et al. Likely sexual transmission of Zika virus from a man with no symptoms of infection. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2016;65(34):915-916.
9. Musso D, Richard V, Teissier A, Stone M, Lanteri MC, Latoni G., et al. Detection of ZIKV RNA in semen of asymptomatic blood donors. *Clin Microbiol Infect.* 2017;23(12):1001.e1-1001.e3.
10. D'Ortenzio E, Matheron S, Yazdanpanah Y, DeLamballerie X, Hubert B, Piorkowski G., et al. Evidence of sexual transmission of Zika virus. *N Engl J Med.* 2016;22(374):2195-2198.
11. Musso D, Nhan T, Robin E, Roche C, Bierlaire D, Zisou K. et al. Potential for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during an outbreak in French Polynesia, November 2013 to February 2014. *Euro Surveill.* 2014;19:20761.
12. Barjas-Castro ML, Angerami RN, Cunha MS, Suzuki A, Nogueira JS, Rocco IM, et al. Probable transfusion-transmitted Zika virus in Brazil: transfusion-transmitted Zika virus. *Transfusion.* 2016; 56(7):1684-1688.
13. Petersen LR, Jamieson, DJ, Powers AM, Honein MA. Zika virus. *N Engl J Med.* 2016;374(16):1552-1563.
14. Haug CJ, Kieny MP, Murgue B. The Zika challenge. *N Engl J Med.* 2016;374:1801-1803.
15. Staples JE, Dziuban EJ, Fischer M, Cragan JD, Rasmussen SA, Cannon MJ, et al. Interim guidelines for the evaluation and testing of infants with possible congenital Zika virus infection—United States, 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2016;65:63-67.
16. Faye O, Faye O, Diallo D, Diallo M, Weidmann M, Sall AA. Quantitative realtime PCR detection of Zika virus and evaluation with field-caught mosquitoes. *Virology.* 2013;10(1):311.
17. Organização Mundial Da Saúde. Taxa de gravidez adolescente no Brasil está acima da média latino-americana e caribenha. Publicado em 28/02/2018. Disponível em: <https://nacoesunidas.org/taxa-de-gravidez-adolescente-no-brasil-esta-acima-da-media-latino-americana-e-caribenha/> Acessado em: 16 fev 2019.

18. Brasil. Ministério da Saúde. Atenção ao pré-natal de baixo risco. Brasília: Ministério da Saúde, 2012. (Cadernos de Atenção Básica, 32)
19. Costa CSC, Vila VSC, Rodrigues FM, Martins CA, Pinho LMO. Característica do atendimento pré-natal na rede básica de saúde. *Revista Eletrônica de Enfermagem Online* 2013;15(2):516-522.
20. Gonzaga, ICA, Santos SLD, Silva ARV, Campelo V. Atenção pré-natal e fatores de risco associados à prematuridade e baixo peso ao nascer em capital do nordeste brasileiro. *Ciência & Saúde Coletiva*. 2016;21(6):1965-1974.
21. Souza NA, Queiroz LLC, Queiroz RCCS, Ribeiro TSF, Fonseca, MSS. Perfil epidemiológico das gestantes atendidas na consulta de pré-natal de uma Unidade Básica de Saúde em São Luís-Ma. *Rev Ciênc Saúde*. 2013;15(1):28-38.
22. Silva CS, Ronzani, TM, Furtado EF, Aliane PP, Almeida AM. Relação entre prática religiosa, uso de álcool e transtornos psiquiátricos em gestantes. *Rev Psiq Clín*. 2010;37(4):152-156.
23. Coelho EAC, Andrade MLS, Vitoriano, LVT, Souza JJ, Silva DO.; Gusmão MEN, et al. Association between unplanned pregnancy and the socioeconomic context of women in the area of family health. *Acta Paul Enferm*. 2012;25(3):415-422.
24. Paris GF, Pelosso SM, Martins PM. Qualidade da assistência pré-natal nos serviços públicos e privados. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2013;35(10):447-452.
25. Silva EP, Lima RT, Ferreira NLS, Carvalho e Costa MJ. Pré-natal na atenção primária do município de João Pessoa-PB: caracterização de serviços e usuárias. *Rev Bras Saúde Matern Infant*. Jan/Mar 2013;13(1):29-30 37.

LIST OF TABLES

Table 1. Sociodemographic characteristics of pregnant women exposed to Zika virus between April 2017 and June 2018, São Luís-Maranhão.

Variables	N	%
Origin		
São Luís	124	62.9
Other municipalities	63	37.1
Total	197	100
Education (years)		
0–4	1	0.5
5–9	64	32.5
10–15	132	67.0
Total	197	100
Age (years)		
≤18	21	10.7
19–35	167	84.8
≥36	9	4.6
Total	197	100
Marital state		
Single	60	30.5
Marital union	137	69.5
Total	197	100
Race		
White	23	11.7
Black	48	24.4
Brown	126	64.0
Total	197	100
Number of children		
0	120	10.2
1–2	150	76.1
3–4	17	8.6
5	10	5.1

Total	197	100
Place of residence		
Rural area	16	8.1
Urban area	181	91.9
Total	197	100
Current religion		
Catholic	120	60.9
Evangelical	45	22.8
None	22	11.2
Other	10	5.1
Total	197	100

Table 2. Results of molecular tests performed on samples from pregnant women exposed to Zika virus between April 2017 and June 2018, São Luís-Maranhão.

Variables	N	%
Rapid test		
IgM negative-IgG positive	113	57.4
IgM negative-IgG negative	78	39.6
IgM positive-IgG positive	4	2.0
IgM positive-IgG negative	2	1.0
Total	197	100
RT-qPCR for umbilical cord		
Positive	3	1.5
Negative	194	98.5
Total	197	100
RT-qPCR for placenta		
Positive	9	4.6
Negative	188	95.6
Total	197	100

Table 3. Relationship between RT-qPCR results for placenta samples and evaluation of prenatal care quality (p-value: chi-square tests).

			Positive	Negative	Total	Positive	Negative	Total	p-value
			9	188	197	4,6	95,4	100,0	
Planned pregnancy	No		6	137	143	3,0	69,5	72,5	0,7077
	Yes		3	51	54	1,5	25,9	27,4	
Accepted pregnancy	No		1	6	7	0,5	3,0	3,6	0,2829
	Yes		8	182	190	4,1	92,4	96,4	
Card	No		2	9	11	1,0	4,6	5,6	0,0824
	Yes		7	179	186	3,6	90,9	94,4	
Filed card	No		6	98	104	3,0	49,7	52,8	0,5040
	Yes		3	90	93	1,5	45,7	47,2	
Number of appointments	≥ 6		5	103	108	2,5	52,3	54,8	1,0000
	< 6		4	85	89	2,0	43,1	45,2	
Gestational age at 1st appointment	1 st trimester		4	92	96	2,0	46,7	48,7	1,0000
	2 nd trimester		1	43	44	0,5	21,8	22,3	
	3 rd trimester		1	7	8	0,5	3,6	4,1	
	No data		3	46	49	1,5	23,4	24,9	
Ferrous sulfate supplementation 1st trimester	No		6	75	81	3,0	38,1	41,1	0,1647
	Yes		3	113	116	1,5	57,4	58,9	
Ferrous sulfate supplementation 2nd trimester	No		5	63	68	2,5	32,0	34,5	0,2797
	Yes		4	125	129	2,0	63,5	65,5	
Ferrous sulfate supplementation 3rd trimester	No		5	64	69	2,5	32,5	35,0	0,2819
	Yes		4	124	128	2,0	62,9	65,0	
Folic acid	No		6	76	82	3,0	38,6	41,6	0,1674

		Positive	Negative	Total	Positive	Negative	Total	p-value
supplementation								
1sttrimester	Yes	3	112	115	1.5	56.9	58.4	
Folic acid	No	7	93	100	3.6	47.2	50.8	0.1700
supplementation								
2ndtrimester	Yes	2	95	97	1.0	48.2	49.2	
Folic acid	No	7	115	122	3.6	58.4	61.9	0.4869
supplementation								
3rdtrimester	Yes	2	73	75	1.0	37.1	38.1	
Tetanus vaccine	No	4	55	59	2.0	27.9	29.9	0.4560
status 1stdose	Yes	5	133	138	2.5	67.5	70.1	
Tetanus vaccine	No	4	69	73	2.0	35.0	37.1	0.7293
status 2nddose	Yes	5	118	123	2.5	59.9	62.4	
Tetanus vaccine	No	4	86	90	2.0	43.7	45.7	1.0000
status 3rddose	Yes	5	102	107	2.5	51.8	54.3	
Tetanus vaccine	No	7	149	156	3.6	75.6	79.2	1.0000
status reinforcement	Yes	2	39	41	1.0	19.8	20.8	
Hepatitis vaccine	No	3	52	55	1.5	26.4	27.9	0.7115
status 1stdose	Yes	6	136	142	3.0	69.0	72.1	
Hepatitis vaccine	No	3	58	61	1.5	29.4	31.0	1.0000
status 2nddose	Yes	6	130	136	3.0	66.0	69.0	
Hepatitis vaccine	No	3	81	84	1.5	41.1	42.6	0.7353
status 3rddose	Yes	6	107	113	3.0	54.3	57.4	
Influenza vaccine	No	3	65	68	1.5	33.0	34.5	1.0000
status	Yes	6	123	129	3.0	62.4	65.5	

Table 4. Relationships between the RT-qPCR results for placenta samples and serology testing during prenatal care (p-values for Chi-square tests).

Serology		RT-qPCR Placenta						p-value
		Positive	Negative	Total (N)	Positive	Negative	Total (%)	
Toxo IgG 1st	Yes	2	65	67	1.0	33.5	34.5	0.427
	No	7	123	130	3.5	62.0	65.5	
Toxo IgM 1st	Yes	2	65	67	1.0	33.5	34.5	0.427
	No	7	123	130	3.0	62.5	65.5	
CMV IgG	Yes	0	17	17	0.0	8.6	8.6	0.345
	No	9	171	180	4.5	86.9	91.4	
CMV IgM	Yes	0	17	17	0.0	8.6	8.6	0.345
	No	9	171	180	4.5	86.9	91.4	
RUB IgG	Yes	0	20	20	0.0	10.2	10.2	0.302
	No	9	168	177	4.5	85.3	89.8	
RUB IgM	Yes	0	20	20	0.0	10.2	10.2	0.302
	No	9	168	177	4.5	85.3	89.8	
Toxo IgG 2nd	Yes	3	70	73	1.5	35.5	37.0	0.813
	No	6	118	124	3.0	60.0	63.0	
Toxo IgM 2nd	Yes	3	70	73	1.5	35.5	37.0	0.813
	No	6	118	124	3.0	60.0	63.0	
Toxo IgG 3rd	Yes	1	32	33	0.5	16.2	16.7	0.643
	No	8	156	164	4.1	79.2	83.3	
Toxo IgM 3rd	Yes	1	33	33	0.5	16.2	16.7	0.643
	No	8	155	164	4.1	79.2	83.3	

Legend: yes = underwent laboratory test

No = did not undergo laboratory test

RUB = rubeola

Toxo = toxoplasmosis

CMV: Cytomegalovirus

RUB: Rubeola