



Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Faculdade de Ciências Médicas

Alessandra Mendelski Pereira

**Zika vírus e gravidez: associação entre a infecção aguda na gravidez e a
microcefalia do recém-nascido no estado do Rio de Janeiro**

Rio de Janeiro

2019

Alessandra Mendelski Pereira

Zika vírus e gravidez: associação entre a infecção aguda na gravidez e a microcefalia do recém-nascido no estado do Rio de Janeiro

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.^a Dra. Denise Leite Maia Monteiro

Rio de Janeiro

2019

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/CBA

P436 Pereira, Alessandra Mendelski.
Zika vírus e gravidez: associação entre a infecção aguda na gravidez e a microcefalia do recém-nascido no estado do Rio de Janeiro / Alessandra Mendelski Pereira – 2019.
70 f.

Orientadora: Denise Leite Maia Monteiro.
Dissertação (mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Ciências Médicas. Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas.

1. Vírus da Zika – Epidemiologia - Teses. 2. Infecção pelo Zika vírus – Transmissão - Teses. 3. Microcefalia – Fatores de risco - Teses. 4. Transmissão vertical da doença infecciosa – Teses. 5. Estudos transversais - Teses. 6. Grávidas – Aspectos da Saúde – Teses. I. Monteiro, Denise Leite Maia. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

CDU 616-007.1:616-222.6

Bibliotecária: Kalina Silva CRB7/4377

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Alessandra Mendelski Pereira

Zika vírus e gravidez: associação entre a infecção aguda na gravidez e a microcefalia do recém-nascido no estado do Rio de Janeiro

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 03 de julho de 2019.

Orientadora: Prof.^a Dra. Denise Leite Maia Monteiro
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Alexandre José Baptista Trajano
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof. Dr. Marcio Neves Bóia
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof.^a Dra. Tania Maria Ruffoni Ortiga
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Rio de Janeiro

2019

DEDICATÓRIA

Ao meu marido, pelo incentivo e apoio para seguir nessa trajetória.

Às minhas filhas, razão das minhas lutas.

Aos meus pais, pelo início de tudo.

AGRADECIMENTOS

À Prof.^a Dra. Denise Leite Maia Monteiro, minha orientadora, por sua incansável dedicação ao estudo, imensa paciência e infinito apoio, com certeza sem ela não teria chegado até aqui.

Ao Prof. Dr. Heron Werner, meu coorientador, criador das melhores imagens em medicina fetal, amigo que me incentivou a escrever e publicar.

Ao Prof. Dr. Flávio Monteiro de Souza, pelo carinho e disponibilidade em aceitar a árdua tarefa da revisão.

Aos Prof. Dr. Alexandre José Baptista Trajano, Prof. Dr. Márcio Neves Bóia e Prof.^a Dr.^a Tania Ortiga, pela gentileza de atenderem ao convite para participar da Banca de Defesa desta Dissertação de Mestrado.

Ao Prof. Dr. Cristos Pristsivelis e à Prof.^a Dra. Nádia Cristina Pinheiro Rodrigues pela delicadeza de aceitarem o convite para a suplência da Banca Examinadora.

Ao Dr. Alexandre Otávio Chieppe, amigo e grande gestor, pela colaboração e apoio que permitiram a pesquisa.

Ao Dr. Luis Iván Ortiz Valencia, por sua colaboração infinita na matemática.

À equipe da Subsecretaria de Vigilância em Saúde do Estado do Rio de Janeiro, em especial à Sra. Gilvânia Lima Moura, pela atenção e prontidão em ajudar na pesquisa.

Aos funcionários e colegas do Núcleo Perinatal do Hospital Pedro Ernesto, que, direta ou indiretamente, participaram e torceram pela conclusão do trabalho.

A educação   a arma mais poderosa que voc  pode usar para mudar o mundo.

Nelson Mandela

RESUMO

PEREIRA, Alessandra Mendelski. **Zika vírus e gravidez:** associação entre a infecção aguda na gravidez e a microcefalia do recém-nascido no estado do Rio de Janeiro. 2019. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

A recente epidemia da infecção por Zika vírus nas Américas do Sul e Central é uma das mais graves emergências em saúde pública mundial desde o surto de Ebola no oeste Africano. No Brasil, especialmente nas regiões norte, nordeste e sudeste, o surto de Zika vírus trouxe muita preocupação para gestantes e médicos, devido ao fato da infecção intrauterina ter sido associada à malformação fetal e microcefalia. O objetivo geral deste trabalho foi estudar a associação da microcefalia com a infecção aguda por Zika vírus em gestantes sintomáticas com confirmação laboratorial. Os objetivos específicos consistiram em: calcular a frequência de microcefalia correlacionada ao trimestre da gestação em que ocorreu a infecção aguda, comparar os desfechos perinatais e traçar o perfil sociodemográfico das mulheres infectadas por Zika vírus na gravidez que tiveram recém-nascidos (RN) com e sem microcefalia. O estudo foi observacional com desenho do tipo corte transversal. Foram estudadas 1.609 gestantes que apresentaram sintomas clínicos de infecção aguda por Zika vírus durante a gravidez, com diagnóstico laboratorial confirmado através do exame de RT-PCR, em amostras de sangue e/ou urina, coletados nos anos de 2015 e 2016 e registradas na base do sistema Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL) do estado do Rio de Janeiro. O desfecho gestacional foi avaliado através de dados coletados do Sistema de Informações Sobre Nascidos Vivos (SINASC) e do Registro de Eventos em Saúde Pública (RESP). A modelagem estatística considerou para análise descritiva das variáveis: o cálculo de estatísticas univariadas e medidas de associação bivariadas (Odds ratio). Realizou-se o cálculo de proporções relativas das variáveis categóricas em relação a dois grupos distintos: com e sem microcefalia; e intervalos de confiança para as proporções relativas com nível de confiança de 95%. Utilizou-se teste de hipótese para comparar proporções, considerando nível de significância de 5%. A modelagem multivariada considerou a regressão logística para variável desfecho dicotômica e regressão múltipla para variável desfecho contínua. O programa estatístico utilizado foi o R versão 3.4.0 e Rstudio versão 1.0.143. Das 1.609 gestantes estudadas, 316 (19,6%) encontravam-se no primeiro trimestre da gravidez, 723 (44,9%) no segundo trimestre e 570 (35,5%) no terceiro trimestre. A média de idade foi de 26,5 anos (\pm 6,9 anos). Quanto à raça/cor encontrou-se: 55% não brancas e 45% brancas. Na distribuição espacial das gestantes infectadas, por região do estado: 87% ocorreu na Região Metropolitana. Dentre as 1.609 gestações avaliadas, 25 recém-nascidos apresentaram microcefalia. Das características pesquisadas relacionadas com a ocorrência de microcefalia, as variáveis “Idade gestacional” no momento da infecção e “peso ao nascer” foram estatisticamente significativas. Dos 25 casos de microcefalia estudados, 19 (76%) foram associados à infecção contraída no primeiro trimestre da gestação ($p < 0,001$; OR=13,7 IC95% (5,6-37,7)) e 48% dos RN com microcefalia apresentaram peso ao nascer < 2.500 g ($p < 0,001$; OR=11,7 IC95% (5,2-26,2)). Na regressão logística, unicamente, o peso do RN < 2.500 g (OR=12,54) e idade gestacional no 1º trimestre (OR=14,05) apresentaram associação com a ocorrência de microcefalia. Esses resultados poderão ser utilizados na orientação de profissionais de saúde na tomada de condutas, assim como no aconselhamento de gestantes que vivem em áreas epidêmicas.

Palavras-chave: Zika vírus. Microcefalia. Transmissão vertical de doença infecciosa.

ABSTRACT

PEREIRA, Alessandra Mendelski. **Zika vírus and pregnancy:** association between the acute infection in pregnancy and the microcephaly of newborns in the state of Rio de Janeiro. 2019. 70 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) – Faculdade de Ciências Médicas, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019.

The recent epidemic of Zika virus infection in Central and South America is one of the most serious global public health emergencies since the Ebola outbreak in West Africa. In Brazil, especially in the north, northeast, and southeast parts of the country, the ZIKV outbreak is a cause of concern for pregnant women and physicians because ZIKV intrauterine infection has been found to be associated with multiple brain malformations and microcephaly. The main objective of this study was to study the association between microcephaly and acute infection by Zika virus, during pregnancy, with laboratory confirmation. The secondary objectives were: to determine the risk of congenital infection correlated to the trimester of gestation in which the acute infection occurred, to compare the perinatal outcomes and know the sociodemographic profile of the Zika virus-infected women in pregnancy who had newborns with and without microcephaly. The study was observational with the cross-sectional type design. There were enrolled 1,609 pregnant women who had clinical symptoms of acute Zika virus infection during pregnancy, with a laboratory diagnosis confirmed by RT-PCR, in blood and /or urine specimens, collected in the years 2015 and 2016, and listed at the baseline Laboratory Management System (GAL) in the state of Rio de Janeiro. The gestational outcome was based on data collected from the Live Birth Information System (SINASC) and the Public Health Events Registry (RESP). Statistical modeling was used for the calculation of variables: the calculation of statistics and bivariate association measures. The proportions of the categorical variables were calculated in relation to two distinct groups: with and without microcephaly; and confidence intervals for the relative ratios with 95% confidence level. The trial was used to evaluate proportions, considering a significance level of 5%. The multivariate modeling was considered a logistic regression for the dichotomous variable and regression for the continuous variables. The statistical program used was R. 3.4.0 and Rstudio version 1.0.143. Of the 1,609 pregnant women studied, 316 (19.6%) were in the first trimester of pregnancy, 723 (44.9%) in the second trimester and 570 (35.5%) in the third trimester. The mean age was 26.5 years (\pm 6.9 years). As to race / color was found: 55% non-white and 45% white. In the spatial distribution of infected pregnant women, by region of the state: 87% occurred in the Metropolitan Region. Among the 1,609 pregnancies evaluated, 25 newborns presented microcephaly. Of the characteristics researched related to the occurrence of microcephaly, the variables "gestational age" at the time of infection and "birth weight" were statistically significant. Of the 25 microcephaly cases studied, 19 (76%) were associated with infection in the first trimester of pregnancy ($p < 0.001$, OR = 13.7 95% (5.6-37.7)) and 48% microcephaly had birth weight $< 2,500$ g ($p < 0.001$, OR = 11.7 95% CI (5.2-26.2)). In the logistic regression, only the weight of the RN $< 2,500$ g (OR = 12.54) and gestational age in the first trimester (OR = 14.05) were associated with the occurrence of microcephaly. These results can be used to guide health professionals in take conduct, as well as in the counseling of pregnant women living in epidemic areas.

Keywords: Zika virus. Microcephaly. Intrauterine infection.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Casos prováveis de febre pelo vírus Zika, por semana epidemiológica de início de sintomas, no Brasil, nos anos de 2016 e 2017.....	19
Figura 2 –	Casos prováveis de febre pelo vírus Zika, por semana epidemiológica de início de sintomas, no Brasil, nos anos de 2018 e 2019.....	19
Quadro 1 –	Base GAL.....	30
Quadro 2 –	Base SINASC.....	31
Quadro 3 –	Variáveis categóricas.....	33
Figura 3 –	Distribuição geográfica das amostras positivas para Zika vírus.....	34
Figura 4 –	Desempenho do modelo ajustado na curva ROC.....	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Resumo histórico da descoberta e das epidemias do Zika vírus.....	15
Tabela 2 –	Número de casos prováveis e incidência de febre pelo vírus Zika, por região e Unidade da Federação, Brasil, 2016 e 2017.....	20
Tabela 3 –	Gestantes com infecção por Zika vírus confirmada e ocorrência de microcefalia, relacionadas ao trimestre de ocorrência da infecção aguda....	36
Tabela 4 –	Características sociodemográficas das gestantes dos grupos com e sem microcefalia.....	37
Tabela 5 –	Análise das características da gestação de acordo com os grupos com e sem microcefalia.....	38
Tabela 6 –	Distribuição dos desfechos perinatais nos grupos com e sem microcefalia.	39
Tabela 7 –	Razão de chances das variáveis ajustadas no modelo de regressão logística.....	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SES	Secretaria de Estado de Saúde
CC	Circunferência cefálica
DATASUS	Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde
DP	Desvio-padrão
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
ESPIN	Emergência em saúde pública de importância nacional
GAL	Gerenciador de ambiente laboratorial
IG	Idade gestacional
IgM	Imunoglobulina M
LACEN	Laboratório Central de saúde pública
LCR	Líquido cefalorraquidiano
PRNT	Teste de neutralização por redução em placa
RN	Recém-nascido
RNA	Ácido ribonucleico
RNM	Ressonância nuclear magnética
RT-PCR	Reação em cadeia de polimerase por transcriptase reversa
SINASC	Sistema de informações sobre nascidos vivos
SNC	Sistema nervoso central
TC	Tomografia computadorizada
TORCH	Toxoplasmose, rubéola, citomegalovírus, herpes
US	Ultrassonografia

LISTA DE SÍMBOLOS

%	porcentagem
±	mais ou menos
+	adição
=	igual
cm	centímetro
g	gramas
>	maior
<	menor
≤	menor ou igual
≥	maior ou igual

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	14
1	REVISÃO DA LITERATURA	15
1.1	Etiologia	15
1.2	Transmissão	16
1.3	Quadro clínico	17
1.4	Diagnóstico laboratorial	17
1.5	A doença no Brasil	18
1.6	Infecção fetal	21
1.6.1	<u>Achados radiológicos no pré-natal</u>	22
1.6.2	<u>Achados radiológicos no pós-natal</u>	23
1.6.3	<u>Infecção congênita sem microcefalia</u>	24
1.7	Prevenção	25
1.8	Tratamento	25
1.9	Prognóstico	26
2	OBJETIVOS	27
2.1	Objetivo geral	27
2.2	Objetivos específicos	27
3	MÉTODOS	28
3.1	Tipo de estudo	28
3.2	População do estudo	28
3.3	Seleção de casos	28
3.4	Base de dados	29
3.5	Preparação da base de dados	29
3.5.1	<u>Consistência da base de dados</u>	32
3.6	Relacionamento de bases (<i>linkage</i>)	32
3.7	Análise estatística dos dados	33
4	RESULTADOS	34
5	DISCUSSÃO	41
	CONCLUSÃO	45
	REFERÊNCIAS	46

ANEXO A - Aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa.....	50
ANEXO B - Aprovação da Secretaria de Estado de Saúde.....	51
ANEXO C - Declaração de nascido vivo.....	52
ANEXO D - Ficha do RESP.....	53
ANEXO E - Curva de crescimento Intergrowth 21.....	54
ANEXO F - Zika virus and pregnancy in Brazil: What happened? (Artigo publicado).....	55

INTRODUÇÃO

A recente epidemia da infecção por Zika vírus nas Américas do Sul e Central foi uma das mais graves emergências em saúde pública mundial desde o surto de Ebola no oeste Africano. No Brasil, especialmente nas regiões norte, nordeste e sudeste, o surto de Zika vírus trouxe muita preocupação para gestantes e médicos, devido ao fato da infecção intrauterina ter sido associada à malformação fetal e microcefalia. Em 2016, foi reconhecido, internacionalmente, que a infecção por Zika Vírus durante a gravidez poderia causar malformações fetais, incluindo a microcefalia. Porém, a magnitude do risco dessa malformação ainda não está claramente definida. O risco de defeitos neurológicos congênitos relacionados à infecção materna variam de 6 a 42% nos vários artigos publicados.

O objetivo principal deste estudo foi avaliar o risco de microcefalia consequente à infecção aguda confirmada por Zika vírus durante a gravidez, no estado do Rio de Janeiro. Secundariamente, calcular a incidência de microcefalia correlacionada ao trimestre da gestação em que ocorreu essa infecção aguda, além de comparar os desfechos gestacionais e traçar o perfil sociodemográfico das gestantes infectadas que tiveram recém-nascidos com microcefalia e sem microcefalia.

O estudo foi realizado com gestantes que apresentaram sintomas sugestivos da infecção viral e tiveram confirmação laboratorial por RT-PCR para Zika vírus em amostras de sangue e/ou urina, durante a epidemia da infecção, nos anos de 2015 e 2016, no estado do Rio de Janeiro. Casos suspeitos da infecção, com amostras laboratoriais negativas para Zika vírus, foram excluídos deste estudo, aumentando a confiabilidade dos resultados encontrados.

O conhecimento do risco de microcefalia em relação ao trimestre da gestação em que ocorreu a infecção aguda é fundamental para que profissionais de saúde possam fornecer aconselhamento pré-natal e traçar condutas adequadas para gestantes em áreas epidêmicas.

Este estudo se inicia com um capítulo de revisão da literatura sobre a infecção por Zika vírus, fornecendo conhecimento sobre a doença de um modo geral e especialmente na gestante e feto. No segundo capítulo, encontram-se os objetivos do trabalho. O terceiro se refere ao método, com descrição do tipo de estudo, das bases que originaram a população do estudo e da condução da análise estatística. Os capítulos quatro, cinco e seis trazem, respectivamente, os resultados, a discussão e a conclusão do estudo. Ao final é apresentado um artigo já publicado, como produto do estudo realizado.

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Etiologia

O Zika vírus é um arbovírus de cadeia simples de RNA e que pertence à família dos flavivírus, a mesma família na qual se encontram os vírus da febre amarela, dengue e febre do Nilo. Foi primeiramente identificado em 1947, na Uganda, na floresta de Zika, em um macaco Rhesus.¹ Estudos filogenéticos indicam duas linhagens do vírus Zika: asiática e africana. O vírus só foi detectado em humanos em 1952 na Nigéria.² Durante os subsequentes 60 anos, casos isolados benignos e esporádicos da doença em humanos foram descritos na África e no sudeste da Ásia.

O primeiro surto da doença ocorreu na ilha Pacífica de Yap em 2007, onde 49 casos confirmados e 59 casos prováveis de doença por Zika vírus foram identificados. Contudo, estima-se que aproximadamente 73% da população foi infectada durante esse surto.³ Entre 2013 e 2014, mais de 28 mil casos suspeitos de doença por Zika vírus foram relatados na Polinésia Francesa e outras ilhas do Pacífico. O vírus atravessou o Oceano Pacífico e chegou ao Brasil, Suriname e Colômbia. Análises genéticas revelaram que o Zika vírus, circulante no Brasil, pertence à linhagem asiática e é originário das cepas provenientes da Polinésia Francesa e ilhas próximas.⁴⁻⁵ Um resumo da história do Zika vírus é apresentado na Tabela 1.

Tabela 1- Resumo histórico da descoberta e das epidemias do Zika vírus

1947	Descoberta do Zika vírus	Uganda	
1952	Primeira infecção humana	Nigéria	
2007	Primeira epidemia	ilhas Yap	49 casos
2013	Segunda epidemia	Polinésia Francesa	> 400 casos
2015	Terceira epidemia	América do Sul	> 1,5 milhões de casos no Brasil (de acordo com o Ministério da Saúde)

Fonte: Abushouk AI, Negida A, Ahmed H.⁶

1.2 Transmissão

Assim como nas outras arboviroses, o vírus Zika participa de um ciclo de transmissão complexo entre primatas e mosquitos, tendo o homem como hospedeiro ocasional e não intencional. O vírus necessita de um período de incubação intrínseco de 4 a 5 dias dentro do hospedeiro humano, durante este período infecta outros vetores que se alimentam deste sangue e de um período de incubação extrínseco de 8 a 12 dias para ser disseminado pela saliva do vetor e infectar outro hospedeiro.⁶ É transmitido vetorialmente por mosquitos da espécie *Aedes aegypti*, que também transmitem febre amarela, dengue, e vírus Chikungunya. O Zika vírus também foi identificado em mosquitos *Aedes albopictus*.²

O primeiro caso reportado sugerindo a transmissão sexual da doença foi descrito em 2011. Em 2015, um segundo caso foi reportado e em fevereiro de 2016 o Centro de Controle de Doenças (CDC) nos Estados Unidos anunciou a possibilidade de transmissão sexual. A transmissão sexual já está, atualmente, bem estabelecida. O RNA do Zika vírus pode permanecer no sêmen por até 62 dias, mas, geralmente, os casos aparecem antes de 19 dias após o contato sexual.⁷

A transmissão materno-fetal é a que mais preocupa, pois o vírus possui efeito teratogênico e pode atravessar a placenta em qualquer trimestre da gestação.⁸ É descrito que a transmissão durante o primeiro trimestre da gravidez provoca danos fetais maiores. Porém, a magnitude desse risco não está claramente definida. Foi estimado em mais de 40%, em um estudo prospectivo observacional no Brasil com gestantes que apresentavam sintomas da infecção por Zika vírus.⁹ Nos registros dos Estados Unidos de infecção por Zika vírus na gravidez estimativa de transmissão geral é de 6%, e de 11% quando a infecção ocorreu no primeiro trimestre.¹⁰ Estudos retrospectivos realizados na Colômbia evidenciaram taxa de microcefalia de 1 a 13% quando a infecção ocorreu no primeiro trimestre da gravidez.¹¹ No estudo mais recente, realizado nos Territórios Franceses das Américas, o risco de microcefalia foi estimado em 1,6%.¹² O vírus já foi detectado no líquido amniótico, tecidos placentários e tecidos fetais de abortos e perdas fetais.¹³ O risco de transmissão através de transfusão sanguínea, obtida de indivíduos infectados, foi descrito no surto na Polinésia Francesa.¹⁴

1.3 Quadro clínico

A infecção pelo vírus Zika é assintomática na maioria dos casos. A taxa de sintomáticos entre os infectados no surto da Ilha de Yap em 2007 foi de 18%.³ Não existe qualquer diferença conhecida na apresentação clínica de mulheres grávidas e não grávidas infectadas pelo vírus Zika, e todas as faixas etárias são infectadas. Nos casos sintomáticos, os sintomas aparecem, normalmente, alguns dias após a picada do mosquito. Os sinais e sintomas mais comuns são: prurido, exantema maculopapular generalizado, febre baixa intermitente, conjuntivite, artralgia, cefaleia, mialgia e astenia. Os sintomas são de curta duração, entre dois e sete dias e, geralmente, autolimitados. Raramente é necessária hospitalização.¹⁵ Alguns países com transmissão ativa do vírus Zika relataram aumento da ocorrência de síndromes neurológicas, como encefalite, meningoencefalite, mielite, paralisias flácidas agudas e a síndrome de Guillain-Barré.¹⁶

Ainda que, na maioria dos casos, a infecção apresente sintomatologia leve e de pouca gravidade, em gestantes pode causar malformações fetais congênitas e estar relacionada com a prematuridade, crescimento fetal restrito, insuficiência placentária, morte intrauterina e maior número de abortos espontâneos.⁹

1.4 Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico laboratorial é baseado na detecção do RNA do vírus, usando a reação em cadeia da polimerase por transcriptase reversa (RT-PCR) no soro, dentro de no máximo cinco dias após o início dos sintomas. O exame RT-PCR deve ser realizado no soro assim que se iniciarem os sintomas, pois a viremia é curta e a queda da carga viral no sangue é muito rápida após o início do exantema. Esse prazo curto de positividade no soro e a dificuldade de acesso ao exame foram os fatores que mais contribuíram para dificuldade de diagnóstico da doença durante o surto de Zika vírus no Brasil.

O RNA do vírus Zika pode também ser detectado na urina com títulos maiores e por mais tempo do que no sangue, geralmente, até 20 dias após o início dos sintomas. O vírus Zika também foi detectado na saliva, sêmen e secreção cervical uterina, mas o período de supressão ainda não foi determinado, podendo permanecer durante meses na urina e sêmen.¹⁷

A RT-PCR pode também identificar o RNA viral no líquido amniótico e no líquido cefalorraquidiano (LCR).¹⁸

A pesquisa no soro de anticorpos do tipo IgM para infecção por Zika vírus, detectados por ensaios de imunoabsorção enzimática (ELISA) ou imunofluorescência, pode ser utilizada a partir do quinto dia de doença, porém não é específica para Zika vírus. As reações cruzadas com outros flavivírus são muito frequentes e impossibilitam o diagnóstico em pessoas que já tiveram infecções anteriores como dengue e Chikungunya ou que foram vacinadas contra a febre amarela.⁶

Testes de anticorpos IgM positivos para Zika vírus devem ser confirmados pelo Teste de Neutralização por Redução de Placa (PRNT) específico para Zika vírus disponível em alguns países. Recentemente, um estudo publicado em março de 2017, apresentou um teste rápido de PRNT que fornece o diagnóstico da doença em até 48 horas, com a mesma especificidade do PRNT tradicional, que necessita de uma semana para liberar o resultado.¹⁹

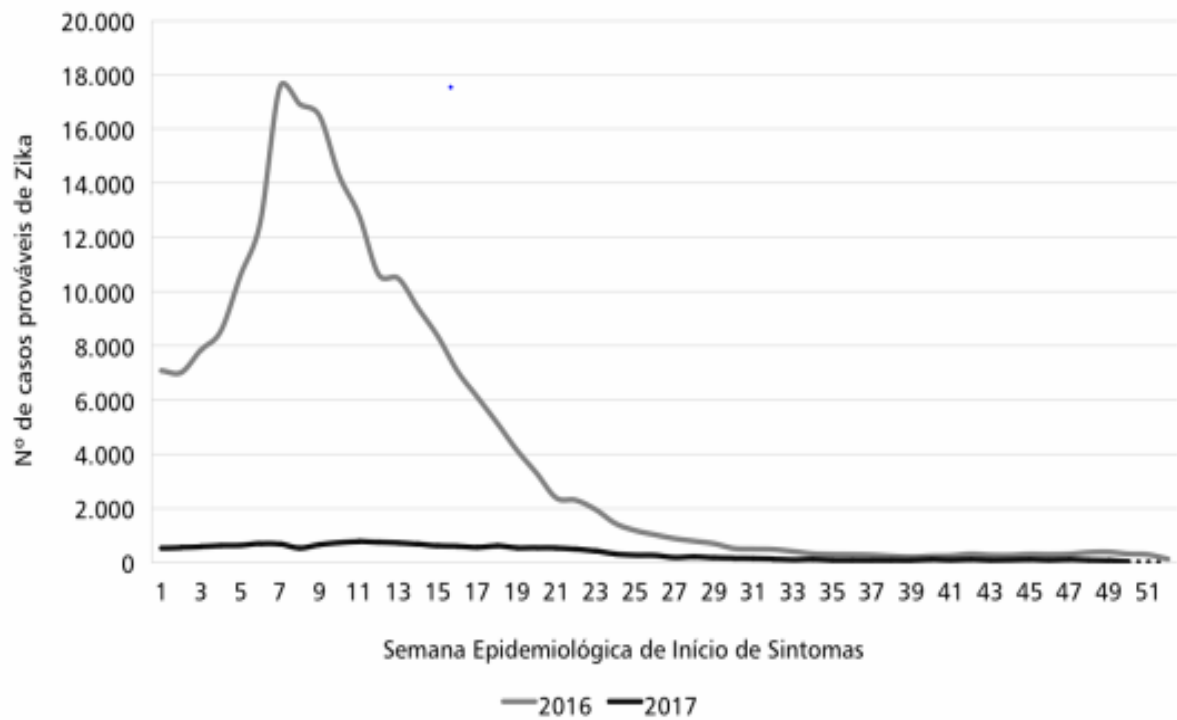
1.5 A doença no Brasil

O Zika vírus no Brasil foi identificado primeiramente na Bahia em 2015 após realização de testes no soro de pacientes que apresentavam sintomas parecidos com dengue, como: exantema cutâneo, febre, mialgia, artralgia e conjuntivite.²⁰ Em setembro de 2015, pesquisas relataram aumento expressivo nos casos de microcefalia em recém-nascidos no Nordeste do Brasil e subsequente aumento dos casos no Sudeste brasileiro.²¹ Zika vírus foi isolado no líquido amniótico de gestantes portadoras de fetos com microcefalia confirmada e em cérebros de fetos com malformações de sistema nervoso central.¹¹

Em novembro de 2015, o Ministério da Saúde declarou Emergência em Saúde Pública de Importância Nacional (ESPIN) por alteração do padrão de ocorrências de microcefalias no Brasil. Somente em fevereiro de 2016, a Organização Mundial de Saúde reconhece a Emergência em Saúde Pública.²²

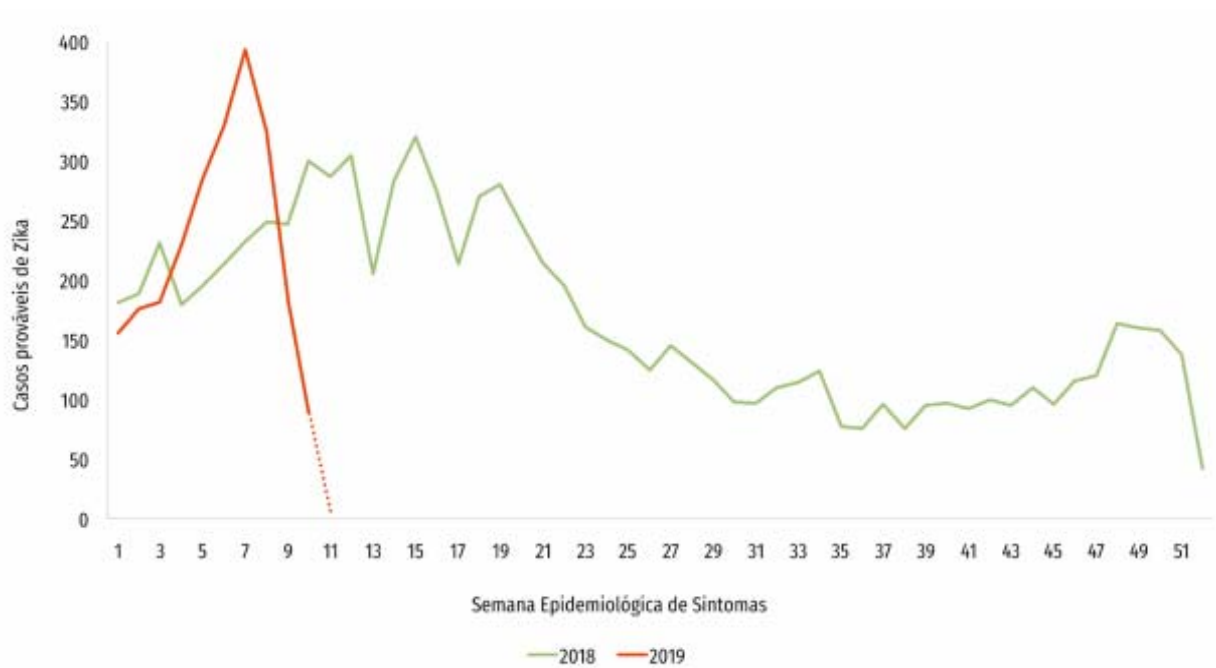
Desde março de 2016, o número de casos notificados de provável infecção por Zika vírus vem diminuindo vertiginosamente no Brasil.^{23,24} As Figuras 1 e 2 demonstram de forma gráfica essa queda de registros de ocorrência da doença.

Figura 1- Casos prováveis de febre pelo vírus Zika, por semana epidemiológica de início de sintomas, no Brasil, nos anos de 2016 e 2017



Fonte: Sinan NET.²³

Figura 2 - Casos prováveis de febre pelo vírus Zika, por semana epidemiológica de início de sintomas, no Brasil, nos anos de 2018 e 2019



Fonte: Sinan NET.²⁴

No ano de 2016 foram registrados 216.207 casos prováveis. Em 2017, este número reduziu para 17.452 notificações de febre pelo vírus Zika no país.²⁵ A distribuição dos casos por estados e regiões pode ser vista, detalhadamente, na Tabela 2.

Tabela 2 – Número de casos prováveis e incidência de infecção pelo vírus Zika, por região e Unidade da Federação, Brasil, 2016 e 2017

Região/ Unidade da Federação	Casos prováveis (n)	
	2016	2017
Norte	12.861	2.201
Rondonia	923	141
Acre	79	40
Amazonas	4.485	429
Roraima	169	203
Pará	4.664	688
Amapá	405	11
Tocantins	2.136	689
Nordeste	75.338	5.270
Maranhão	4.608	516
Piauí	236	154
Ceará	4.340	1.503
Rio Grande do Norte	3.699	460
Paraíba	3.750	115
Pernambuco	445	39
Alagoas	6.827	249
Sergipe	217	17
Bahia	51.216	2.217
Sudeste	92.937	3.732
Minas Gerais	13865	758
Espírito Santo	2.333	352
Rio de Janeiro	71.529	2.210
São Paulo	5.210	412
Sul	898	93
Paraná	661	61
Santa Catarina	69	20
Rio grande do Sul	168	12
Centro-oeste	34.173	6.156
Mato Grosso do Sul	1.722	76
Mato grosso	221.628	2.148
Goiás	10.477	3.867
Distrito Federal	346	65
Brasil	216.207	17.452

Fonte: Fonte: Sinan NET.²⁵

No estado do Rio de Janeiro, o monitoramento da Síndrome Exantemática em gestantes iniciou-se em novembro de 2015, pela Secretaria Estadual de Saúde (SES). Todavia,

foram recebidas notificações retroativas a partir de janeiro de 2015. Assim, de janeiro de 2015 até março de 2019 foram notificados para a SES, 12.363 casos de Síndrome Exantemática em Gestante. Durante este período foram liberados 16.396 exames de gestantes com exantema, destes 16,1% (n=2.638) apresentaram positividade para Zika vírus.²⁶

Em 2014, tivemos 147 casos de microcefalia notificados no Brasil. No período acumulado de 2015 a 2016 foram registrados 10.232 casos de recém-nascidos com alterações no crescimento e desenvolvimento, possivelmente relacionadas a etiologias infecciosas, sendo 2.205 casos confirmados até janeiro de 2017. A maioria dos casos notificados concentra-se na região nordeste do país (65,7%), seguindo-se as regiões sudeste (20,6%) e centro-oeste (6,5%). Os cinco estados com maior número de casos notificados são: Pernambuco (21,3%), Bahia (14,3%), Paraíba (9,0%), São Paulo (8,1%) e Rio de Janeiro (7,8%).²²

Em março de 2016 foi instituída a Estratégia de Ação Rápida para o fortalecimento de Atenção à Saúde e da Proteção Social de Crianças com Microcefalia (EAR), destinando recursos financeiros federais adicionais aos Estados e Municípios, para garantir o acesso assistencial a exames e acompanhamento do crescimento e desenvolvimento dessas crianças.²²

Do início do monitoramento em novembro de 2015 até março de 2019, 1.112 casos de microcefalia foram notificados no estado do Rio de Janeiro, sendo 46 casos com amostra positiva para Zika vírus.²⁶

1.6 Infecção fetal

O mecanismo pelo qual o Zika vírus atravessa a placenta ainda não está totalmente esclarecido, porém seu neurotropismo²⁷ e seu poder natural destrutivo de células neurais já estão confirmados.²⁸ A infecção por Zika vírus induz anormalidades mitóticas e morte celular apoptótica das células progenitoras neuronais humanas, provocando lesões disruptivas do sistema nervoso fetal.²⁹

As células progenitoras neurais são o alvo primário do Zika vírus explicando a quantidade de alterações do sistema nervoso fetal encontradas nos exames de neuroimagem.³⁰ Algumas vezes, as alterações causadas pelo Zika vírus no sistema nervoso central fetal, somente são diagnosticadas após o nascimento em exames neurológicos no recém-nascido.

Devido à sua teratogenicidade, o Zika vírus está sendo considerado um novo agente patógeno da família TORCH (*Toxoplasma gondii*, Other, *Rubella virus*, *Cytomegalovirus* e *Herpes simplex virus*). As alterações causadas pelo Zika vírus sobre o embrião, o feto e o recém-nascido formam a “síndrome congênita do vírus Zika”, definida como: alterações do Sistema Nervoso Central (SNC) e de desenvolvimento, oculares, auditivas, disfagia e artrogripose.³¹⁻³² As anomalias do SNC fetal mais encontradas são: microcefalia, ventriculomegalia e calcificações intracranianas. As microcefalias mais graves estão correlacionadas com a doença materna no primeiro trimestre da gestação.³³

A microcefalia é uma malformação congênita causada pela redução do crescimento cerebral fetal, levando à diminuição da circunferência cefálica. O diagnóstico é definido pelo perímetro cefálico reduzido dois desvios-padrão (DP) abaixo da média para idade e gênero.³³ A curva de crescimento mais utilizada nos estudos no Brasil é a *Intergrowth 21*.

O Ministério da Saúde, em 18 de novembro de 2015, definiu como caso de microcefalia com notificação obrigatória, os recém-nascidos com 37 semanas ou mais de idade gestacional (IG) que apresentavam perímetro cefálico menor que 33 cm ao nascimento. Devido ao elevado número de casos falsos positivos, em 9 de dezembro de 2015, reduziu essa medida para 32 cm.²²

1.6.1 Achados radiológicos no pré-natal

O conhecimento detalhado dos possíveis achados em imagem neurológica de crianças com síndrome congênita de infecção por Zika vírus é necessário para que se faça o diagnóstico mais precocemente possível, possibilitando determinar prognóstico e aconselhamento familiar das crianças afetadas.³⁰

A ultrassonografia (US) deve ser o método de escolha para acompanhamento das gestantes de área de risco, por ser de baixo custo e de fácil acesso. A medida da circunferência cefálica (CC) é simples de ser realizada e a microcefalia é o achado mais comum na infecção congênita por Zika vírus. A microcefalia é definida pela US como a redução do crescimento da CC mais do que 2 DP apropriados para o sexo e a IG. Estudos realizados no Brasil³⁴ para acompanhamento de fetos com microcefalia pela US demonstraram que a microcefalia era severa em 73,7% dos casos com CC 5 DP abaixo do esperado para a IG. Somente 10,5% dos fetos possuíam microcefalia isolada, 89,5% apresentavam malformações adicionais do SNC,

incluindo calcificações periventriculares ou parenquimatosas (63,2%), ventriculomegalia simétrica ou assimétrica (47,4%), anormalidades cerebelares (42,1%) e atrofia cortical (15,8%). A dopplerfluxometria da artéria umbilical destes fetos foi normal. Outras anormalidades vistas à US são: desproporção crânio facial, agenesia ou hipoplasia de corpo caloso, pé torto congênito, oligoidramnia, calcificações cardíacas, hepatomegalia, hiperflexão do segundo e terceiro dedos e artrogripose. É importante salientar que, em quase todos os casos, os exames de US eram normais até 24 semanas de IG, ou seja, achados patológicos causados pelo Zika vírus geralmente só são vistos após 24 semanas, concluindo que um exame morfológico normal não isenta a possibilidade de infecção congênita por Zika vírus.³⁴ Deve-se, portanto, manter o acompanhamento ultrassonográfico das gestantes infectadas até o nascimento.

Os achados da ressonância nuclear magnética (RNM) fetal são similares aos da US, porém as alterações cerebrais, como polimicrogiria, lisencefalia, paquigiria e mielinização anormal e alterações corticais e da massa branca, são melhor avaliadas através da RNM. A sensibilidade da RNM na detecção das calcificações cerebrais intraparenquimatosas é menor quando comparada à US.³⁵

1.6.2 Achados radiológicos no pós-natal

A segurança, a facilidade de realização e o baixo custo da US transfontanelar fazem com que seja o exame de primeira linha na avaliação do recém-nascido. Possibilita uma boa visão do parênquima cerebral e do sistema ventricular. A US permite a avaliação da localização das calcificações cerebrais, a visualização da atrofia parenquimatosa e ventriculomegalia, a agenesia ou atrofia do corpo caloso, os cistos subependimais, as malformações do desenvolvimento cortical e hipoplasia cerebelar e de tronco cerebral. Fontanelas pequenas ou fechadas precocemente, assim como o cavalgamento dos ossos frontais, são comuns em crianças infectadas pelo Zika vírus e podem dificultar a realização da US no recém nascido.³⁵

A tomografia computadorizada (TC) tem excelente sensibilidade na avaliação das calcificações parenquimatosas, assim como na avaliação das deformidades ósseas, ainda mais quando usadas as reconstruções em terceira dimensão. As calcificações intracranianas são muito frequentes na infecção congênita por Zika vírus e estão presentes em quase todas as TC

realizadas. As calcificações podem ser puntiformes ou grosseiras, geralmente localizadas na junção córtico-medular ou logo abaixo dela nos lobos frontal e parietal ou periventriculares. As calcificações também podem ocorrer no gânglio basal, tálamo ou cerebelo, porém são descritas com menos frequência. Outros achados são: desproporção craniofacial, queda dos ossos frontal e parietal, cavalgamento das suturas, fontanelas pequenas, microcefalia, dilatação ventricular, atrofia parenquimatosa, agenesia ou hipotrofia de corpo caloso, desmielinização e densidade anormal da massa branca. As deformidades dos ossos craniais são secundários à atrofia cerebral aguda e pressão intracraniana reduzida, comuns nas crianças infectadas pelo Zika vírus.³⁴ A desvantagem do método é a exposição à radiação, a qual o sujeito do estudo é submetido.

A qualidade técnica da RNM em neuroimagem faz dela a primeira escolha na avaliação das crianças nascidas com infecção congênita por Zika vírus. A RNM possui alta sensibilidade e especificidade para detectar alterações cerebrais e corticais.³⁵ As malformações de desenvolvimento do córtex cerebral estão presentes em quase 100% dos casos descritos com microcefalia, e se caracterizam por atrofia cortical e anormalidade no padrão dos giros cerebrais (a polimicrogiria é a forma mais comum). A desmielinização ou mielinização tardia provocam alterações no manto cerebral em 88 a 100% dos casos. A ventriculomegalia em 85 a 100% dos pacientes se apresenta nas formas de moderada a grave e, geralmente, envolvem todo o sistema ventricular. Os septos interventriculares são achados em 10 a 30% dos casos. As alterações do corpo caloso (agenesia ou atrofia) podem atingir até 94% dos infantes. A hipoplasia cerebelar pode ser uni ou bilateral e atinge de 27 a 82% dos casos.³⁰ As crianças portadoras de infecção congênita por Zika vírus, muitas vezes, apresentam distúrbios do sono e agitação psicomotora, dificultando a realização da RNM sem uso de sedação.

1.6.3 Infecção congênita sem microcefalia

Apesar da microcefalia congênita ser um marcador para infecção intrauterina por Zika vírus, ela nem sempre está presente ao nascimento. Um estudo brasileiro com relato de 13 casos de recém-nascidos infectados por zika vírus durante a gestação, mas que nasceram sem microcefalia, demonstrou a presença de outras anomalias do SNC, como ventriculomegalia, atrofia cerebral, calcificações subcorticais e malformações corticais, deixando clara a

necessidade do uso de neuroimagem nestas avaliações. O desenvolvimento de microcefalia, nesses casos, ocorreu após o nascimento e veio acompanhado de disfunções neurológicas graves, incluindo hipertonia, hemiparesia, distonia, disfagia, epilepsia e persistência dos reflexos primitivos. Esses sintomas não diferem dos encontrados nas crianças com microcefalia presente ao nascimento, porém as crianças que nasceram sem microcefalia apresentaram melhor interação social, fazendo e mantendo contato visual e sorriso social. Entretanto, neste grupo 60% dos infantes apresentavam epilepsia e dos todos possuíam disfunções motoras.³⁶

1.7 Prevenção

A estratégia mais efetiva de prevenção é o controle do vetor, seja através de medidas de controle da proliferação do mosquito ou da prevenção pessoal através do uso de repelentes, roupas longas e de ar refrigerado. A Organização Mundial de Saúde também discute a possibilidade de usar mosquitos geneticamente modificados para controle do *Aedes Aegypti*. Desde março de 2016, instituições acadêmicas e farmacêuticas estão trabalhando no desenvolvimento de vários tipos de vacina para Zika vírus, incluindo vacinas de vírus vivos ou atenuados.⁶ Recentemente, pesquisas realizadas em ratos mostraram que a vacina da febre amarela pode ser eficaz no combate ao Zika vírus, porém ainda sem aprovação em humanos.³⁷

1.8 Tratamento

Por se tratar de infecção autolimitada, o tratamento basicamente consiste em medidas de suporte e repouso. Não há até o momento drogas aprovadas para o tratamento de Zika vírus ou outras flaviviruses. Um recente estudo *in vitro* sugere que esta infecção poderia responder ao tratamento com interferon, porém mais estudos são necessários para confirmar este achado.⁶

1.9 Prognóstico

As lesões provocadas pelo Zika vírus são variáveis, produzindo diferentes manifestações clínicas. De uma maneira geral, quanto mais grave o padrão de microcefalia, pior será o prognóstico infantil. O diagnóstico precoce permite a estimulação precoce e a melhora de desempenho neuromotor da criança.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Estudar a associação da infecção aguda por Zika vírus em gestantes sintomáticas com confirmação laboratorial com a microcefalia.

2.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos são:

- a) estimar a chance de microcefalia consequente à infecção aguda confirmada por Zika vírus na gravidez;
- b) calcular a frequência de microcefalia correlacionada ao trimestre da gestação em que ocorreu a infecção aguda por Zika vírus;
- c) comparar os desfechos perinatais entre os grupos de gestantes infectadas que tiveram recém-nascidos vivos com e sem microcefalia;
- d) traçar o perfil sociodemográfico das mulheres infectadas por Zika vírus na gravidez que tiveram recém-nascidos com e sem microcefalia.

3 MÉTODOS

3.1 Tipo de estudo

Estudo observacional com desenho do tipo corte transversal.

3.2 População do estudo

Gestantes com sintomas e confirmação laboratorial da infecção aguda por Zika vírus durante a gravidez, no estado do Rio de Janeiro, nos anos de 2015 e 2016.

3.3 Seleção de casos

Durante a epidemia da doença no Brasil, todas as gestantes com sintomas sugestivos de infecção aguda por Zika vírus foram orientadas a coletar amostras de sangue e urina para confirmação da infecção, através de RT-PCR. Os resultados dessas amostras foram registrados na base do sistema Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL). Os casos foram definidos como gestantes registradas no GAL com confirmação laboratorial da infecção aguda por Zika vírus, ocorrida durante qualquer fase da gestação.

3.4 Bases de dados

O estudo utilizou três bases de dados: a base de dados do sistema Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL), a base de dados do Sistema de Informação sobre Nascidos Vivos (SINASC) e a base de dados do Registro de Eventos em Saúde Pública (RESP).

Na base GAL encontram-se os registros de todas as gestantes que apresentaram sintomas clínicos sugestivos da infecção aguda por Zika vírus e que coletaram amostras de sangue e/ou urina para confirmação da doença. O sistema GAL atua nas redes estaduais de laboratórios de saúde pública, incluindo laboratórios locais, laboratórios da rede, Laboratórios Centrais de Saúde Pública (LACEN) e laboratórios externos, como ferramenta informatizada capaz de efetivar o gerenciamento dos processos e análises laboratoriais de interesse em saúde pública, das amostras de origem humana, animal ou ambiental. O processo de análise é monitorado e controlado desde o cadastro da requisição de exame até a emissão do laudo.

A base SINASC foi desenvolvida pelo DATASUS visando reunir informações epidemiológicas referentes aos nascimentos informados em todo território brasileiro.

O RESP é o sistema de monitoramento integrado de vigilância e atenção à saúde de condições relacionadas às infecções durante a gestação, identificadas no pré-natal, parto e puericultura. A base é relativa ao período de 2016 e nela encontram-se os dados de todos os casos suspeitos e confirmados de microcefalia.

3.5 Preparação da base de dados

A base GAL contém os registros de todos os testes positivos para Zika vírus, por RT-PCR, em amostras de sangue e/ou urina de gestantes sintomáticas no período de 18-11-2015 até 03-01-2017. Nesta base encontram-se 2.635 amostras positivas por RT-PCR para Zika vírus, sendo 1.824 amostras positivas no sangue e 811 amostras positivas na urina. O número de amostras positivas não corresponde ao número real de gestantes, visto que os registros foram realizados por tipo de amostra e data de coleta. Algumas gestantes apresentaram-se positivas em ambas as amostras, de sangue e de urina, e em datas distintas, portanto, a base pode apresentar mais de um registro para uma mesma pessoa. Para identificar o caso específico, utilizou-se a filtragem pelo nome da gestante.

Na base do SINASC, encontram-se os registros dos nascidos vivos em todo território brasileiro. No estado do Rio de Janeiro foram registrados nos anos de 2015 e 2016, respectivamente, 237.541 e 215.974 nascimentos. Ao cruzar os dados das bases GAL e SINASC foi possível obter os desfechos gestacionais das gestantes selecionadas da base GAL para a amostra do estudo.

O cruzamento da base GAL com a base RESP possibilitou encontrar os casos confirmados de microcefalia diagnosticados ao nascimento ou na puericultura.

A preparação da base de dados consistiu em realizar sucessivos *linkages* partindo da base de gestantes com o intuito de anexar e atualizar variáveis, delimitando um grupo de gestantes que teve recém-nascido (RN) com microcefalia e outro sem microcefalia. As variáveis da Base GAL estão descritas no Quadro 1 e as variáveis da Base SINASC no Quadro 2.

Quadro 1 – Base GAL

Variável na base	Descrição	Tipo	Categorização
Paciente	Nome da gestante	Caractere	
Idade	Idade da gestante em anos	Numérico	< 35 ≥ 35
Idade.gestacional	Trimestre da gestação em que se encontra a paciente: 1º trimestre 2º trimestre 3º trimestre	Catégorico	
Bairro	Bairro declarado como moradia do paciente	Caractere	
Raça/Cor	Raça da gestante: Branca Não branca	Catégorico	

Fonte: A autora, 2019.

Quadro 2 – Base SINASC

Nome da variável	Descrição	Tipo	Categorização
NOMEMAE	Nome da mãe	Caractere	
IDADEMAE	Idade da mãe anos	Numérico	< 35 ≥ 35
RACACORMAE	Raça ou cor da mãe: 1= branca 2 = preta 3 = amarela 4 = parda 5 = indígena	Categórico	
BAIRES	Bairro de moradia declarado	Caractere	
CODANOMAL	Malformação congênita: Q02 = Microcefalia	Caractere	
PESO	Peso do recém-nascido em gramas	Numérico	≤ 2.500 g > 2.500 g
APGAR5	Apgar no quinto minuto	Categórico	< 7 ≥ 7
SEXO	Sexo do recém-nascido F= feminino M= masculino	Categórico	
QTDGESTANT	Histórico da gestação Gestações anteriores	Numérico	
SEMAGESTAC	Histórico da gestação Semanas de gestação	Numérico	< 28 28 a 32 33 a 36 ≥ 37
ESMAE	Escolaridade 0 = sem escolaridade 1 = fundamental I 2 = fundamental II 3 = médio 4 = superior incompleto 5 = superior completo 9 = ignorado	Categórico	Grupo 1 = 0,1,2 Grupo 2 = 3,4,5
GRAVIDEZ	Tipo de gravidez 1 = única 2 = dupla 3 = Tripla ou mais 9 = Ignorada	Categórico	
PARTO	Tipo de parto 1 = vaginal 2 = cesáreo 9 = Ignorada	Categórico	

Fonte: A autora, 2019.

3.5.1 Consistência da base de dados:

- a) análise das variáveis em referência à sua completitude ou proporção de registros sem dados;
- b) análise de consistência dos valores das variáveis;
- c) categorização de variáveis;
- d) detecção de registros referentes à mesma pessoa.

3.6 **Relacionamento de bases (*linkage*)**

O intuito de implementar uma rotina computacional para o relacionamento de base de dados é a identificação automática de registros que se referem a um mesmo caso. Neste caso, à uma mesma pessoa. Há vários obstáculos que não permitem um relacionamento direto entre as bases de dados. O mais importante é quando não existe um identificador único dos casos nas bases de dados. Para o relacionamento de bases de dados sobre a evolução de gestantes infectadas por Zika vírus até a ocorrência de microcefalia em RN, utilizamos o nome da gestante como variável de relacionamento. Para isto, deve-se verificar que podem existir registros que correspondem à mesma gestante, sendo que o nome da gestante pode estar escrito de forma diferente ou não, numa base ou em bases diferentes. Ainda, deve-se verificar se registros com nomes iguais correspondem a gestantes diferentes.

Outras dificuldades são a incompletitude da base de dados, isto é, variáveis com valores não preenchidos ou faltantes. Outro problema foi a imprecisão ou discordância do dado declarado com o real. Por exemplo, uma gestante declara dois endereços na mesma base. Também, deve-se considerar que ao estudar a gestante desde o início das primeiras consultas até o nascimento, o registro de algumas variáveis pode mudar de valor como a idade da gestante ou o endereço declarado.

O tamanho das bases de dados conferiram um problema, que foi superado, usando-se programações estatísticas específicas. Para resolver estas questões, uma rotina computacional foi desenvolvida na linguagem R ([https://www. R-project.org/](https://www.R-project.org/)).

3.7 Análise estatística dos dados

A análise descritiva considerou o cálculo de frequências e proporções para as variáveis categóricas coletadas das bases selecionadas. Realizou-se o cálculo de proporções relativas das variáveis categóricas em relação a dois grupos distintos: um grupo com as gestantes cujos RN apresentaram microcefalia e o outro grupo sem microcefalia. Estimaram-se os intervalos de confiança para as proporções relativas com nível de confiança de 95%. Utilizou-se teste de hipótese para comparar proporções, considerando nível de significância de 5%.

Modelos de regressão logística foram utilizados para avaliar conjuntamente o efeito das variáveis sobre as chances de ocorrer microcefalia. Estimou-se a razão de chances das variáveis ajustadas no modelo de regressão logística e os respectivos intervalos de variação da razão de chances com 95% de confiança. A performance do modelo ajustado foi avaliada usando a curva ROC. No modelo, as variáveis categóricas tiveram as codificações quanto ao valor de referência exposto no Quadro 3.

Quadro 3 – Variáveis categóricas

Variável	Valor de referência
Microcefalia	Sem microcefalia
Raça	Branca
Peso	Maior que 2500 gramas
Quantidade de gestações	Segunda ou mais
Idade gestacional	2-3º Trimestre
Idade materna	Menor que 35 anos
Sexo do RN	Masculino

Fonte: A autora, 2019.

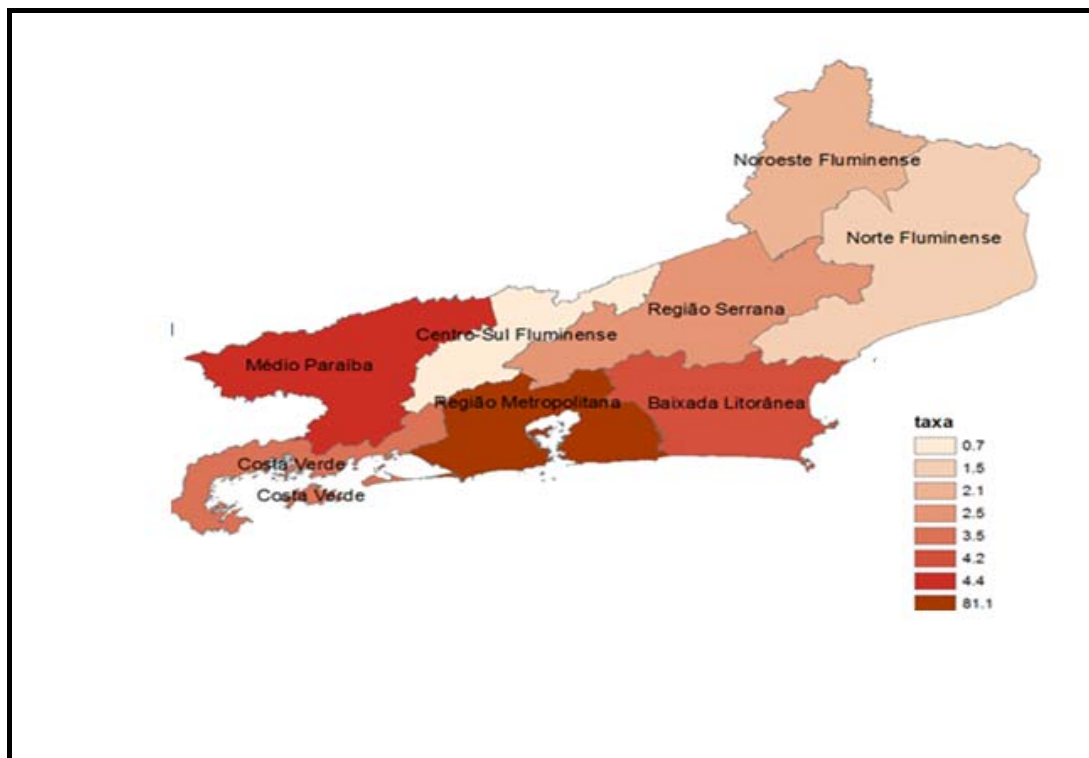
4 RESULTADOS

Na base de dados do GAL encontraram-se 2.635 amostras positivas por RT-PCR para Zika vírus, sendo 1.824 amostras positivas no sangue e 811 amostras positivas na urina. O número de amostras não corresponde ao número real de gestantes, visto que algumas gestantes apresentaram-se positivas em amostra de sangue e de urina e algumas repetiram os exames em datas distintas, ou seja, uma gestante pode possuir mais de uma amostra positiva.

O primeiro exame positivo registrado foi em 27 de novembro de 2015 e o último resultado positivo foi em 3 de janeiro de 2017, totalizando 355 exames em 2015, 2.279 exames em 2016 e somente um resultado positivo em 2017.

A distribuição espacial das amostras positivas foi realizada por região do estado do Rio de Janeiro (Figura 3). Verificou-se que: 81,1% dos casos ocorreram na região metropolitana, 4,4% no médio Paraíba, 4,2% na Baixada Litorânea, 3,5% na costa verde, 2,5% na região Serrana, 2,1% Noroeste Fluminense, 1,5% Norte Fluminense e 0,7 % na região Centro-Sul Fluminense.

Figura 3 – Distribuição geográfica das amostras positivas para Zika vírus



Fonte: A autora, 2019.

Após a exclusão de registros repetidos na base GAL, referentes a uma mesma gestante, procedeu-se ao cruzamento das bases e obteve-se o número de 1.609 gestantes com confirmação laboratorial da infecção por Zika vírus e que possuíam registro do desfecho gestacional no SINASC.

Com o objetivo de traçar o perfil sociodemográfico das mulheres infectadas por Zika vírus no Rio de Janeiro, estudou-se a população de 1.609 gestantes positivas. Quanto à idade, 15,5% (250) eram adolescentes com idade inferior a 20 anos, 71,7% (1.154) das mulheres possuíam idade entre 20 e 34 anos e 12,8% (205) apresentavam idade igual ou superior a 35 anos. A média de idade foi de $26,4 \pm 6,5$ anos.

Em relação à raça/etnia, 57,4% (913) se declararam pardas, 36,8% (585) brancas, 5,5% (88) negras e 0,2% (3) da raça amarela. Quanto à escolaridade: 78,7% (1257) possuíam mais de 8 anos de escolaridade e 21,3% (340) menos de 8 anos.

Quanto ao número de gestações das 1.609 mulheres: 606 (38%) eram primigestas, 493 (31%) estavam na segunda gravidez, 278 (17%) na terceira e 216 (14%) já apresentavam mais de três gestações.

Quanto ao trimestre de ocorrência da infecção aguda, 19,6% (316) encontravam-se no primeiro trimestre da gravidez, 44,9% (723) no segundo trimestre e 35,5% (570) no terceiro trimestre. Quanto à região, 87,1% dos casos ocorreram na região metropolitana do estado.

Das 1.609 gestantes estudadas, foram registrados 1.622 RN vivos (13 gestações gemelares duplas). Deste total, 25 RN apresentavam microcefalia, 21 casos observados ao nascimento e registrados no SINASC e quatro casos observados no seguimento pós-natal e registrados no RESP.

Observou-se a ocorrência de microcefalia em 1,5% (25/1622) dos recém-nascidos na população estudada. Apesar da microcefalia poder ocorrer como consequência da infecção por Zika vírus em qualquer trimestre da gestação, a chance da anomalia congênita foi maior quando a infecção ocorreu nos três primeiros meses da gravidez. Dos 25 casos de microcefalia, 19 (76%) foram associados à infecção adquirida no primeiro trimestre da gestação, 3 (12%) no segundo e 3 (12%) no terceiro trimestre (Tabela 3).

A chance de uma gestante com infecção por Zika vírus no primeiro trimestre da gestação apresentar um RN com microcefalia foi de 6% (19/316). Quando a infecção ocorreu no segundo trimestre, essa chance caiu para 0,4% (3/723) e no terceiro trimestre foi de 0,5% (3/570).

Tabela 3 – Gestantes com infecção por Zika vírus confirmada e ocorrência de microcefalia, relacionadas ao trimestre de ocorrência da infecção aguda

Trimestre da infecção* aguda	Número de gestantes (%)	Número de microcefalias (%)
1º trimestre	316 (19,6%)	19 (76%)
2º trimestre	723 (44,9%)	3 (12%)
3º trimestre	570 (35,5%)	3 (12%)
total	1.609	25

Nota: *Considerou-se primeiro trimestre até 13 semanas de gestação, segundo trimestre de 14 a 28 semanas e terceiro trimestre a partir de 29 semanas.

Fonte: A autora, 2019.

No estudo da associação da microcefalia com as características maternas, dividiu-se a população da amostra em dois grupos distintos: um grupo com as gestantes cujos RN apresentavam microcefalia e o outro grupo sem microcefalia. A comparação entre os grupos foi realizada com a intenção de identificar características que se associaram à ocorrência de microcefalia, visto que ambos os grupos eram compostos por gestantes com infecção confirmada por Zika vírus. Para testar a associação entre as variáveis selecionadas no estudo e a microcefalia, utilizou-se a razão de chances (*Odds ratio*).

As características utilizadas para traçar o perfil sociodemográfico das gestantes infectadas foram: idade materna, local de residência, escolaridade e raça/cor. Observou-se que nenhuma dessas variáveis apresentou relevância estatística na associação com microcefalia. Esses resultados estão na Tabela 4.

Observou-se idade materna inferior a 35 anos em 92% (23/25) dos casos de microcefalia e em 87% (1.381/1.584) dos RN sem a alteração ($p=0,68$). Residiam na região metropolitana do Rio de Janeiro, 80% (20/25) dos casos com microcefalia, enquanto os casos sem a anomalia nesta região totalizaram 87% (1.381/1.584) ($p=0,45$). Os municípios com maior número de microcefalias foram Rio de Janeiro 40% (10/25) e Duque de Caxias 24% (6/25). Os outros municípios que apresentaram casos de RN com microcefalia foram Volta Redonda (2/25), Saquarema (2/25), Maricá (1/25), Belford Roxo (1/25), Nova Iguaçu (1/25), Petrópolis (1/25) e Santo Antônio de Pádua (1/25).

Quanto à escolaridade, 76% (19/25) das gestantes do grupo com microcefalia e 79% (1.238/1.572) do grupo sem microcefalia estudaram mais que 8 anos ($p=0,93$).

Na análise da raça/cor no grupo com microcefalia, 12 gestantes eram pardas, 11 eram brancas, 2 eram negras e nenhuma da raça amarela, totalizando 56% de não brancas; o grupo

sem microcefalia era composto por 901 pardas, 574 brancas, 86 negras, e 3 amarelas, totalizando 63% de não brancas ($p=0,59$).

Tabela 4 – Características sociodemográficas das gestantes dos grupos com e sem microcefalia

Variável		Com Microcefalia (%)	Sem Microcefalia (%)	pvalor
Idade (anos)	< 35	92	87	0,68
	≥ 35	8	13	
Raça / Cor	Branca	44	36	0,59
	Não branca	56	63	
Escolaridade (anos)	≥ 8	76	79	0,93
	< 8	24	21	
Região de moradia	Metropolitana	80	87	0,45
	Não metropolitana	20	13	

Fonte: A autora, 2019.

As variáveis relacionadas à gestação foram o número de gestações anteriores (primiparidade ou não), o tipo de gravidez (única ou múltipla) e a idade gestacional em que ocorreu a infecção aguda. A análise desses resultados está demonstrada na Tabela 5.

Quanto ao número de gestações anteriores, nove microcefalias foram encontradas na primeira gestação, 13 na segunda gestação e uma na sétima gestação. A porcentagem de primigestas foi de 36% (9/25) no grupo com microcefalia, e de 38% (597/1.562) no grupo sem microcefalia ($p=0,98$). Não ocorreram casos de microcefalia em gestações múltiplas e somente 13 gestantes apresentaram gravidez dupla no grupo sem microcefalia ($p=1,00$).

Das características pesquisadas, a variável idade gestacional no momento da infecção foi significativamente relacionada com a ocorrência de microcefalia. Do total dos 25 casos de microcefalia estudado, 19 (76%) associaram-se à infecção contraída no primeiro trimestre da gestação ($p < 0,001$; $OR=13,7$ $IC95\%$ (5,6-37,7)).

Tabela 5 – Análise das características da gestação de acordo com os grupos com e sem microcefalia

Variável		Com microcefalia (%)	Sem microcefalia (%)	p-valor
Número de gestações	Primeira	36	38	0,98
	Segunda ou mais	64	62	
Idade gestacional	1º trimestre	76	19	< 0,001
	2º e 3º trimestres	24	81	
Tipo de gravidez	Única	100	99,2	1,00
	Múltipla	0	0,8	

Fonte: A autora, 2019.

Na análise bivariada das variáveis relacionadas aos desfechos perinatais, estudou-se: a chance de prematuridade, o tipo de parto, o índice de Apgar no quinto minuto, peso ao nascer e o sexo do RN. Das variáveis estudadas, apenas o peso ao nascer mostrou associação significativa com a microcefalia, conforme demonstrado na Tabela 6.

A prematuridade esteve presente em 20% (5/25) dos RN com microcefalia, sendo quatro casos entre 32 e 36 semanas de gestação e um caso entre 22 e 27 semanas. No grupo sem microcefalia foram 9% (143/1572) de RN prematuros ($p=0,13$). Apesar da grande diferença percentual entre os grupos, essa variável não foi estatisticamente significativa.

O parto normal ocorreu em 52% (13/25) dos RN com microcefalia e em 43% (681/1.584) do grupo de RN sem microcefalia ($p=0,49$). A ocorrência de microcefalia não foi associada ao maior índice de cesarianas.

O índice de Apgar no quinto minuto de vida foi inferior a 7 em apenas um RN com microcefalia (4%) e em 16 RN no grupo sem microcefalia (1%) ($p=0,60$).

Entre os RN com microcefalia, 48% (12/25) apresentaram peso ao nascimento menor que 2.500 gramas e somente 7% (116/1597) no grupo sem microcefalia ($p < 0,001$; OR= 11,7 IC95% (5,2-26,2)).

O sexo masculino representou 60% dos RN com microcefalia e 52% dos RN sem microcefalia, ou seja, dos 25 casos de microcefalia, 15 eram do sexo masculino.

Tabela 6 – Distribuição dos desfechos perinatais nos grupos com e sem microcefalia

Variável		Com microcefalia (%)	Sem microcefalia (%)	pvalor
Tipo de parto	Vaginal	52	43	0,49
	Cesárea	48	57	
Semanas de gestação	< 37	20	9	0,13
	≥ 37	80	91	
Peso do RN (g)	≤ 2.500	48	7	< 0,001
	> 2.500	52	93	
Apgar 5	< 7	4	1	0,60
	≥ 7	96	99	
Sexo do RN	Masculino	60	52	0,55
	Feminino	40	48	

Fonte: A autora, 2019.

O modelo de regressão logística mostrou que o peso da criança ser <2.500 g (OR=12,54) e a infecção pelo Zika vírus no 1º trimestre da gravidez (OR=14,05) apresentaram associação com a ocorrência de microcefalia. O resultado da regressão logística encontra-se descrito na Tabela 7.

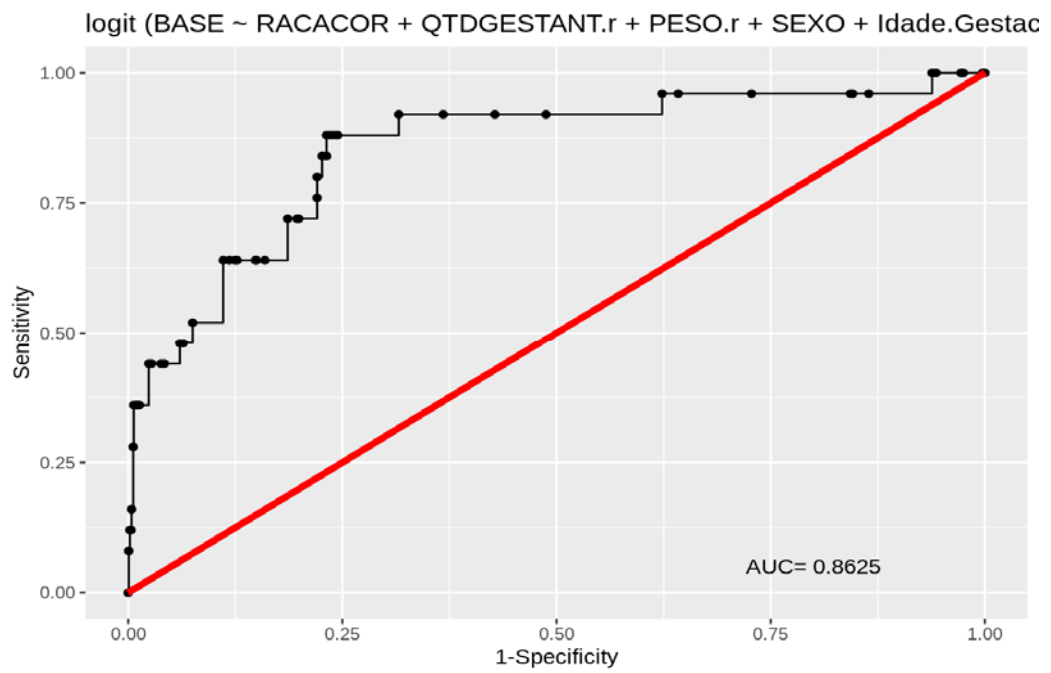
Tabela 7 – Razão de chances das variáveis ajustadas no modelo de regressão logística

Variável	Razão de chances ajustada	Intervalo de confiança (95%)	p valor
Raça (branca)	0,62	0,26 - 1,48	0,284
Quantidade de gestações (duas ou mais)	0,84	0,34 - 2,08	0,713
Peso (< 2.500g)	12,54	5,27 - 29,85	<0,001
Sexo do RN (masculino)	0,74	0,31 - 1,76	0,499
Idade gestacional (1º trim.)	14,05	5,41 - 36,47	<0,001
Idade materna (< 35)	0,53	0,11 - 2,56	0,433

Fonte: A autora, 2019.

O desempenho do modelo ajustado foi avaliado usando a curva ROC. O gráfico da curva ROC apresenta uma área abaixo da curva de 86% (Figura 4). Este valor mostra a boa performance do modelo como classificador entre os casos com e sem microcefalia.

Figura 4 – Desempenho do modelo ajustado na curva ROC



Fonte: A autora, 2019.

5 DISCUSSÃO

O surto de infecção por Zika vírus ocorrido no Brasil contribuiu para o aumento do número de casos notificados de microcefalia em recém-nascidos. O Zika vírus tem alto neurotropismo e está associado a graves defeitos no sistema nervoso central dos fetos de mães contaminadas durante a gestação.

O diagnóstico da infecção por Zika vírus no Brasil é complicado devido às altas taxas de reações cruzadas entre os anticorpos dos flavivírus e pelo fato da dengue ser endêmica no Brasil há mais de 30 anos. Estudos de vigilância sorológica encontraram evidências de anticorpos contra dengue em mais de 90% da população do Recife.³⁸ Outro estudo brasileiro mostrou que os anticorpos anti-IgG estavam presentes em 88% das gestantes.⁹

O presente estudo possibilitou avaliar a chance de ocorrência de microcefalia em recém-nascidos de mães com infecção aguda diagnosticada durante a gravidez, que apresentaram confirmação laboratorial por RT-PCR, no estado do Rio de Janeiro, por meio dos dados coletados das bases de informação em saúde (GAL, SINASC e RESP) referentes ao período da epidemia da infecção pelo Zika vírus no país.

A microcefalia possivelmente associada à infecção materna por Zika vírus foi observada em 25 nascidos das 1.609 gestantes estudadas (1,5%). Números similares foram reportados, recentemente, por um estudo realizado com 546 gestantes nos Territórios Franceses das Américas (Martinica, Guiana Francesa e Guadalupe), onde a presença de microcefalia foi de 9 casos em 527 nascidos vivos (1,7%).¹²

Taxas mais altas de acometimento fetal de 6% são encontradas no Registro de Gravidez com Zika dos Estados Unidos³⁹ e de 42% no estudo de coorte realizado no Rio de Janeiro em 2016,⁹ possivelmente porque nem todas as gestantes incluídas nos estudos possuíam confirmação laboratorial por RT-PCR e também porque os estudos avaliaram todos os eventos adversos dos RN e não só a microcefalia. Ao analisar a chance de microcefalia, isoladamente, como efeito adverso no estudo brasileiro, por exemplo, encontram-se dois casos de microcefalia em 117 RN expostos ao vírus Zika (1,7%), ou seja, uma taxa também similar.⁹

A microcefalia pode ser observada como consequência da infecção por Zika vírus em qualquer trimestre da gestação, porém é descrito maior risco quando a infecção ocorre no primeiro trimestre da gestação.¹¹ Os resultados aqui encontrados corroboram essa afirmação, visto que, do total dos 25 casos de microcefalia estudados, 19 (76%) foram associados à

infecção contraída no primeiro trimestre da gestação ($p < 0,001$; $OR=13,7$ IC 95% (5,6-37,7)). Das características pesquisadas, a variável idade gestacional no momento da infecção foi significativamente relacionada com a ocorrência de microcefalia.

Neste estudo, verificou-se que a chance de uma gestante com infecção por Zika vírus no primeiro trimestre da gestação apresentar um RN com microcefalia foi de 6%. Essa chance reduziu nos trimestres subsequentes para 0,4% no segundo e 0,5% no terceiro trimestre. Resultados comparáveis foram relatados no estudo realizado nos territórios Franceses das Américas,¹² onde as taxas encontradas foram de 5,8% (19/189) no primeiro, 1,6% (4/252) no segundo e 2,6% (3/114) no terceiro trimestre.

A ocorrência de RN com peso abaixo de 2.500g foi de 7% no grupo sem microcefalia e de 48% no grupo com microcefalia, demonstrando forte associação da microcefalia com o baixo peso ao nascer ($p < 0,001$; $OR= 11,7$; IC 95% (5,2-26,2). Este resultado pode ser justificado pelo fato de que o RN possuir redução do perímetro e volume cefálicos e, conseqüentemente, menor peso.

A infecção por Zika vírus foi mais frequente (87%) na região metropolitana do estado, mostrando que a revolução urbana e o crescimento das cidades ocasionaram repercussões ambientais consideráveis, principalmente no que diz respeito a países não desenvolvidos, que não apresentam legislação de controle ambiental, ou que a tem, porém ineficiente. Nesses países, a urbanização acelerada e não planejada ocasionou uma infraestrutura precária com condições inadequadas de moradia e sem serviços básicos de abastecimento de água, saneamento, coleta e destinação de lixo, fatos que não cooperam para a qualidade de vida da população.

O processo de urbanização somado ao estágio da metropolização acarretou um aumento considerável de áreas urbanas extensas, provocando o acúmulo de milhões de habitantes em diversas cidades. O mosquito *Aedes aegypti*, principal vetor das arboviroses (dengue, Zika e Chikungunya), adaptou-se facilmente ao ambiente urbano, devido à aglomeração de habitantes e uma maior quantidade de criadouros artificiais. O mosquito tem sua reprodução favorecida por poças de água, e esses ambientes, com água parada, são comuns em locais com lixo acumulado, com abastecimento de água ineficaz e sem saneamento básico. A população residente nas regiões com tais características está mais sujeita a se infectar pelo vírus transmitido por esse vetor. A vulnerabilidade social presente nesses locais pode ter contribuído para maior ocorrência de casos, assim como ocorreu com outras doenças causadas pelo mesmo vetor. Essa análise espacial permite a orientação de políticas e condutas para redução do agravo nas áreas de maior incidência.

Não houve associação da ocorrência de microcefalia com a idade materna avançada (>35 anos), com o número de gestações anteriores, com o sexo fetal e o tipo de parto. A prematuridade, apesar de mais frequente no grupo com microcefalia (20%) do que no grupo sem (9%), também não foi estatisticamente significativa.

Esse estudo apresentou dois pontos fortes: o tamanho e a homogeneidade da amostra. O fato do estudo ter sido realizado no Rio de Janeiro, um dos estados mais atingidos pelo surto da infecção no Brasil, proporcionou maior tamanho amostral quando comparado com os outros estudos realizados nos Estados Unidos¹⁰ e nos Territórios Franceses das Américas.¹² A campanha nacional para realização de exames laboratoriais para diagnóstico da infecção por Zika vírus, através de RT-PCR em amostras de sangue e urina de gestantes com sintomas agudos da infecção, nas unidades de emergência em saúde, forneceram diagnóstico precoce e de certeza, favorecendo a homogeneidade da amostra para o estudo.

O informativo do Centro de Informações Estratégicas de Vigilância em Saúde (CIEVS) da SES do Rio de Janeiro publicado em maio de 2019 relata que de janeiro de 2015 até março de 2019 foram notificados para a SES, 12.363 casos de Síndrome Exantemática em Gestante. Durante este período foram liberados 16.396 exames de gestantes com exantema, destes 16,1% (n=2.638) apresentaram positividade para Zika Vírus.²⁶ Apesar do presente estudo ter analisado somente as amostras positivas de 2016 e 2017, (n= 2.635) esse número corresponde quase à totalidade da população de gestantes infectadas por Zika vírus no estado do Rio de Janeiro que realizaram o exame laboratorial por RT-PCR.

O estudo, como todos, teve suas limitações, principalmente pelo fato de ter sido realizado somente com gestantes que apresentaram sintomas agudos e que procuraram assistência médica. Apesar da expectativa de que as complicações são maiores nas infecções sintomáticas, um estudo observacional envolvendo mulheres nos Estados Unidos mostrou ser insignificante a diferença da taxa de malformações fetais entre os grupos de gestantes com e sem sintomas da infecção por Zika vírus durante a gestação. Esse estudo também demonstrou ser insignificante a associação da gravidade dos sintomas ou da carga viral com os resultados adversos.⁴⁰

Outras limitações do presente estudo foram: a impossibilidade de avaliar desfechos gestacionais como: abortos e/ou interrupções da gestação, além de não ter sido possível a identificação da infecção fetal sem microcefalia.³⁶

A análise estatística dos dados obtidos sobre a infecção aguda por Zika vírus na gravidez realizada nesse estudo propiciou uma melhor visão sobre a magnitude da ocorrência de microcefalia em recém nascidos no estado do Rio de Janeiro. Esses dados contribuirão para

orientação de profissionais de saúde na tomada de condutas, assim como no aconselhamento de gestantes que vivem em áreas epidêmicas.

CONCLUSÃO

A microcefalia esteve presente em 1,5% dos recém-nascidos de mulheres com infecção confirmada por Zika vírus durante a gravidez. O risco de microcefalia aumentou para 6% quando a infecção ocorreu durante o primeiro trimestre da gravidez, ou seja, um risco 4 vezes maior. Aproximadamente metade dos RN com microcefalia (48%) apresentaram baixo peso ao nascer (< 2.500g). A maior parte das microcefalias ocorreram na região metropolitana do estado (80%). Não houve associação da microcefalia com o sexo do RN. As características maternas como: raça, idade, escolaridade, paridade e tipo de gravidez não foram relacionadas com o aumento do risco de microcefalia. A infecção materna por Zika vírus não foi associada ao maior risco de prematuridade ou de sofrimento fetal, nem alterou via de parto.

REFERÊNCIAS

1. Dick GW. Zika vírus.II. Pathogenicity and physical properties. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1952;46:521-34.
2. Macnamara FN. Zika virus: a report on three cases of human infection during an epidemic of jaundice in Nigeria. *Trans R Soc Trop Med Hyg.*1954;48:139-45.
3. Duffy MR, Chen TH, Hancock WT, Powers AM, Kool JL, Lanciotti RS, et al. Zika Virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N Engl J Med.* 2009;360:2536-43.
4. Cao-Lorneau VM, Roche C, Teissier A, Robin E, Berry AL, Mallet HP, et al. Zika virus, French Polynesia, South Pacific, 2013. *Emerg Infect Dis.* 2014;20:1085-6.
5. Musso D. Zika virus transmission from French Polynesia to Brazil. *Emerg Infect Dis* 2015; 21:1887.
6. Abushouk AI, Negida A, Ahmed H. An updated review of Zika virus. *J Clin Virol.* 2016; 84:53-58.
7. D'Ortenzio E, Matheron S, Lamballerie X, Hubert B, Piorkowski G, Maquart M, et al. Evidence of sexual transmission of Zika virus. *New Engl J Med.* 2016; 374:2195-8.
8. Oliveira Melo AS, Malinger G, Ximenes R, Szejnfeld PO, Alves Sampaio S, Bispo de Fillipis AM. Zika vírus intrauterine infection causes fetal brain abnormality and microcephaly: tip of the iceberg? *Ultrasound Obstet Gynecol* 2016;47:6-7.
9. Brasil P, Pereira-Jr JP, Gabaglia CR, Damasceno L, Wakimoto M, Nogueira RMR, et al. Zika virus Infection in Pregnant Women in Rio de Janeiro- preliminary report. *N Engl J Med* 2016; 375:2321-34.
10. Honein MA, Dawson AL, Petersen EE, Jones AM, Lee EH, Yazdy MM, et al. Birth defects among fetuses and infants of US women with evidence of possible Zika virus infection during pregnancy. *JAMA* 2017;317:59-68.
11. Johansson MA, Mier-y-Teran-Romero L, Reefhuis J, Gilboa SM, Hills SL. Zika and the Risk of Microcephaly. *N Engl J Med.* 2016;375:1-4.
12. Hoen B, Schaub B, Funk AL, Ardillon V, Boullard M, Cabié A et al. Pregnancy Outcomes after ZIKV Infection in French Territories in the Americas. *N Engl J Med* 2018;378:985-94.
13. Martines RB, Bhatnagar J, Keating K, Silva-Flannery L, Muehlenbachs A, Gary J, 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* 2016;65:150-60.

14. Musso D, Nhan T, Robin E, Roche C, Bierlaire D, Zisou K, et al. Potencial for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during an outbreak in French Polynesia. *Euro Surveil*. 2014;19:14.
15. Meaney-Delman D, Rasmussen SA, Staples JE, Oduyebo T, Ellington SR, Petersen EE, et al. Zika virus and Pregnancy. *Obstet Gynecol*. 2016;0:1-7.
16. Cao-Lormeau VM, Blake A, Mons S, Vastère S, Roche C, Vanhourwegen J et al. Guillain-Barré syndrome outbreak associated with Zika virus infection in French Polynesia: a case control study. *Lancet*. 2016; 384:1531-39.
17. Dick GWA, Kitchen SF, Haddow AJ. Zika virus (I). Isolations and serological specificity. *Trans Roy Soc Trop Med and Hyg* 1952;46:509-20.
18. Calvet G, Aguiar RS, Melo AS, et al. Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: a case study. *Lancet infect Dis*. 2016;16:653-60.
19. Shan C, Xie X, Ren P, Loeffelholz MJ, Yang Y, Furuya A, et al. A Rapid Zika Diagnostic Assay to Measure Neutralizing Antibodies in Patients. *EBiomedicine*. 2017;17:157-162.
20. Campos GS, Bandeira AC, Sardi SI. Zika virus outbreak, Bahia, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2015;21:1885-6.
21. Faccini LS, Ribeiro ME, Feitosa IML, Horovitz DG, Cavalcanti DP, Pessoa A, et al. Possible association between Zika virus infection and microcephaly. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2016;65:59-62.
22. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico da Secretaria de Vigilância em Saúde [Internet]. 2017;48(6) [acesso em 2019 maio 08]. Disponível em: <http://portalms.saude.gov.br/boletins-epidemiologicos>.
23. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico da Secretaria de Vigilância em Saúde [Internet]. 2018;49(1) [acesso em 2019 maio 08]. Disponível em: <http://portalms.saude.gov.br/boletins-epidemiologicos>.
24. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico da Secretaria de Vigilância em Saúde [Internet]. 2019;50(13) [acesso em 2019 maio 08]. Disponível em: <http://portalms.saude.gov.br/boletins-epidemiologicos>.
25. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico da Secretaria de Vigilância em Saúde [Internet] . 2018;49(2) [acesso em 2019 maio 08]. Disponível em: <http://portalms.saude.gov.br/boletins-epidemiologicos>.
26. Secretaria de Estado de Saúde do Rio de Janeiro. Informativo CIEVS. 2019(002) [Internet]. [Acesso em 2019 jun 02]. Disponível em: <http://www.riocomsaude.rj.gov.br>.
27. Mlakar J, Korva M, Tul N, Popović M, Poljšak-Prijatelj M, Mraz J, et al. Zika virus associated with microcephaly. *N Engl J Med* 2016;374:951-8.


28. Driggers, R. W. et al. Zika virus infection with prolonged maternal viremia and fetal brain abnormalities. *N Engl J Med*. 2016; 374:2142–51.
29. Souza BSF, Sampaio GLA, Pereira CS, Campos NS, Sardi SI, Freitas LR, et al. Zika virus infection induces mitosis abnormalities and apoptotic cell death of human neural progenitor cells. *Sci Rep*. 2016; 6:39775.
30. Mehrjardi MZ, Poretti A, Huisman TAG, Werner H, Keshavarg E, Araujo JrE. Neuroimaging findings of congenital Zika virus infection: a pictorial essay. *Jpn J Radiol*. 2017; 35:89-94.
31. Ventura C V, Maia M, Dias N, Ventura LO, Belfort R. Zika: neurological and ocular findings in infant without microcephaly. *Lancet*. 2016; 387:2502.
32. Linden VVD, Rolim LE, Lins OG, Linder AVD, Aragão MFVV, Brainer-Lima AM, et al. Congenital Zika syndrome with arthrogryposis: retrospective case series study. *BMJ*. 2016;354:3899.
33. Panchaud A, Stojanov M, Ammerdorffer A, Vouga M, Baud D. Emerging Role of Zika Virus in Adverse Fetal and Neonatal Outcomes. *Clin Microbiol Rev*. 2016;29(3):659-94.
34. Ramalho Rocha YR, Cavalcanti Costa JR, Almeida Costa P, Maia G, Vasconcelos RM, Ramos Tejo C, et al. Radiological Characterization of Cerebral Phenotype in Newborn Microcephaly Cases from 2015 Outbreak in Brazil. *PLoS Curr*. 2016;8:8.
35. Werner H, Sodr e D, Hygino C, Guedes B, Fazecas T, Nogueira R, et al. First-trimester intrauterine Zika virus infection and brain pathology: prenatal and postnatal neuroimaging findings. *Prenat Diagn* 2016;36:882-7
36. Linden V, Pessoa A, Dobyns W, Barkovich J, Linden Jr H, Rolim Filho EL, et al. Description of 13 Infants Born During October 2015- January 2016 With Congenital Zika virus Infection Without Microcephaly at Birth- Brazil. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2016;65:1343-48.
37. Vicente AC, Guedes-da-Silva FH, Dumard CH, Ferreira VNS, Costa IPS, Machado RA, et al. Yellow Fever Vaccine Protects Resistant and Susceptible Mice Against Zika Virus Infection. *bioRxiv* [Internet]. 2019. [cited in 2019 May 08]. Available from: <https://doi.org/10.1101/587444>.
38. Castanha PM, Cordeiro MT, Martelli CM, Souza WV, Marques Jr, Braga C. Force of infection of dengue serotypes in a population-based study in the northeast of Brazil. *Epidemiol Infect* 2013;141:1080-8.
39. Shapiro-Mendoza CK, Rice ME, Galang RR, Fulton AC, VanMaldeghem K, Prado MV, et al. Pregnancy Outcomes After Maternal Zika Virus Infection During Pregnancy - U.S. Territories. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2017; 16:615-21.


40. Halai UA, Nielsen-Saines K, Moreira ML, de Sequeira PC, Junior JPP, de Araujo Zin A, Cherry J, et al. Maternal Zika Virus Disease Severity, Virus Load, Prior Dengue Antibodies, and Their relationship to Birth Outcomes. *Clin Infect Dis*. 2017;65:877-83.

ANEXO A – Aprovação no Comitê de Ética

– DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação dos efeitos do Zika vírus sobre a gravidez e suas repercussões sobre o feto e recém-nascidos de gestantes acompanhadas no pré-natal do Hospital Universitário Pedro Ernesto
 Pesquisador Responsável: DENISE LEITE MAIA MONTEIRO
 Área Temática:
 Versão: 1
 CAAE: 55651016.3.0000.0259
 Submetido em: 01/05/2016
 Instituição Proponente: Hospital Universitário Pedro Ernesto
 Situação da Versão do Projeto: Aprovado
 Localização atual da Versão do Projeto: Pesquisador Responsável
 Patrocinador Principal: Hospital Universitário Pedro Ernesto



Comprovante de Receção:  PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_713789

– DOCUMENTOS DO PROJETO DE PESQUISA

- Versão Atual Aprovada (PO) - Versão 1
 - Pendência Documental (PO) - Versão 1
 - Documentos do Projeto
 - Comprovante de Receção - Submissão 2
 - Cronograma - Submissão 2
 - Declaração de Instituição e Infraestrutura
 - Folha de Rosto - Submissão 2
 - Informações Básicas do Projeto - Submissão 2
 - Projeto Detalhado / Brochura Investigação
 - TCLE / Termos de Assentamento / Justificativa
 - Apreciação 2 - Hospital Universitário Pedro Ernesto
 - Projeto Completo

Tipo de Documento	Situação	Arquivo	Participantes	Ações

– LISTA DE CENTROS PARTICIPANTES E COPARTICIPANTES

ANEXO B – Aprovação da Secretaria Estadual de Saúde



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Hospital Universitário Pedro Ernesto - Faculdade de Ciências Médicas
Núcleo Perinatal



Rio de Janeiro, 22 de março de 2017

Da: Coordenação de Pesquisas do Núcleo Perinatal do Hospital Universitário Pedro Ernesto (HUPE)
Para: Secretaria Estadual de Estado de Saúde-Vigilância em Saúde
Assunto: Pesquisa sobre efeitos do Zika vírus sobre a gravidez e suas repercussões sobre o feto e recém-nascidos no Estado do Rio de Janeiro

A Dra. Alessandra Mendelski Pereira é nossa aluna de mestrado em Ciências Médicas na UERJ, desenvolvendo sua dissertação no tema "Avaliação dos efeitos do Zika vírus sobre a gravidez e suas repercussões sobre o feto."

Para desenvolver o estudo, necessitamos avaliar o perfil das mães das crianças acometidas pelo Zika vírus. Para isso solicitamos o acesso às notificações de microcefalia associadas à infecção por Zika vírus no Estado do Rio de Janeiro.

Informamos que o Projeto de Pesquisa foi inscrito na plataforma Brasil e aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital Estadual Pedro Ernesto, com número CAAE: 56651016.3.0000.5259. Este projeto também foi aprovado em edital da FAPERJ, com número de registro: E-26/010.001667/2016 e matrícula número: 2010.01855.0, deliberado em 2016/6047. A pesquisa supracitada está sendo desenvolvida pela Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) e tem como pesquisador responsável a Dra. Denise Leite Maia Monteiro, orientadora da dissertação de mestrado da aluna Alessandra Mendelski Pereira.

Drª Denise L. M. Monteiro
Prof. Adjunta UERJ - Matr. 25757-3
CRM 523396-1

Profª Denise Leite Maia Monteiro
Coordenadora de Pesquisas do Núcleo Perinatal HUPE/UERJ

Alexandre J B Trajano
Prof. Titular
CRM 5225183 - Matr. 3484-3
Coordenador do Núcleo Perinatal

Prof. Alexandre J B Trajano
Coordenador do Núcleo Perinatal HUPE/UERJ

Alessandra Mendelski Pereira
Orientanda: Alessandra Mendelski Pereira

Dr. Ricardo Guá Lira
RM 20003 DE RADOS - TO GAC
E SINASC.

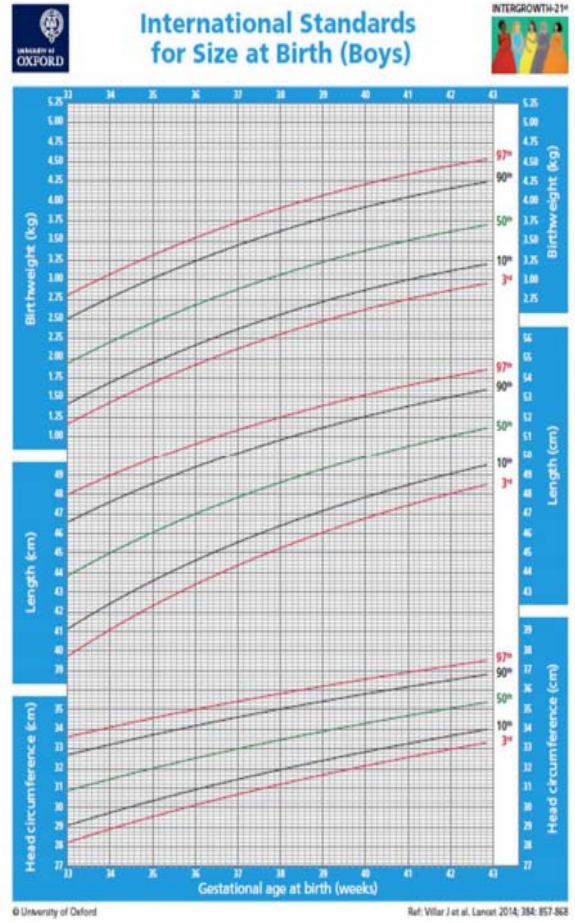
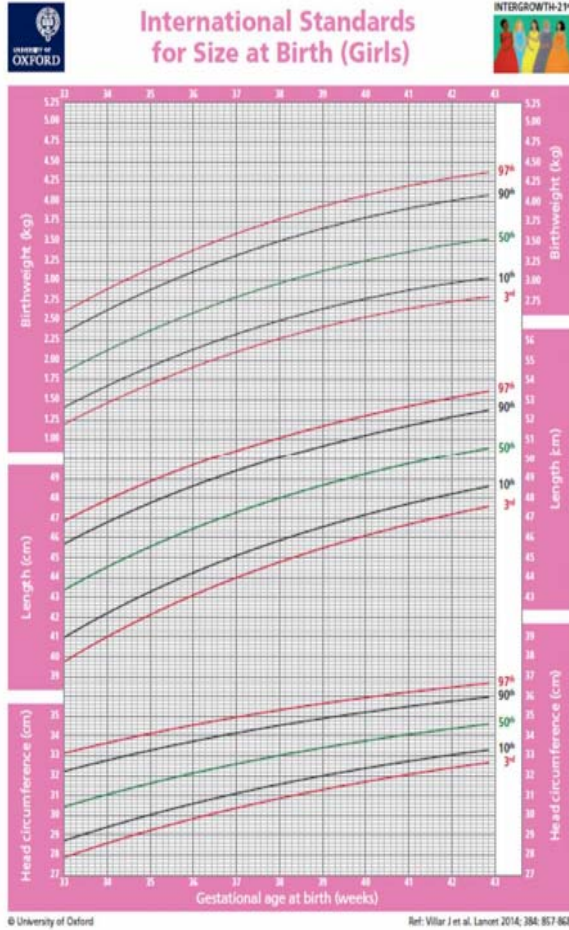
OTAVIO CHIEPPE
Secretaria de Vigilância em Saúde
ID: 001520-4

Rua Prof. Manoel de Abreu 500, Vila Isabel, Rio de Janeiro, RJ CEP: 20550-170
Tel.: 2868-8452 FAX: 2868-8451

ANEXO D – Ficha do RESP

RESP Registro de Eventos em Saúde Pública	
Registro de casos de Microcefalia e/ou alteração do sistema nervoso central (SNC)	
Data da notificação: ____/____/____	
Notificação de: [] [1] Feto com microcefalia [2] Feto sem microcefalia com outras malformações do SNC [3] Aborto espontâneo (gestante com exantema) [4] Natimorto com malformações (gestante com exantema) [5] Recém-nascido com microcefalia	
Segundo definição vigente nos protocolos disponíveis no site www.saude.gov.br	
Dados para identificação da gestante ou puérpera	
Informe os dados sobre a gestante ou puérpera para que a vigilância possa realizar a investigação com o instrumento detalhado.	
Nome da gestante/mãe: _____	
Número do prontuário da gestante/mãe: _____	
Tipo de documento: [] [1] Cartão SUS (preferencialmente) [2] CPF [3] Carteira de identidade (RG) [4] Sem documento de identificação	
Número do Cartão SUS, CPF ou RG: Obs.: se não tiver documento coloque 0 em todo o campo _____	
Data de Nascimento: Obs.: se não souber coloque a data 31/12/2015 ____/____/____	
Idade da mãe: Obs.: se não tiver documento coloque 99 em todo o campo. _____ (anos)	
Raça/Cor: [] [1] branca [2] preta [3] amarela [4] parda [5] indígena [9] ignorado	
UF de residência: _____	Bairro: _____
Município de residência: _____	CEP: _____ - _____
Logradouro (Rua, Avenida): _____	
Número: _____	Ponto de referência: _____
Telefone de contato da mãe (fixo ou celular): (____) _____	
Identificação do nascido vivo ou natimorto	
Nome do recém-nascido ou lactente: Obs.: se não nasceu ou não tiver nome coloque apenas "NA" que será classificado como não se aplica _____	
Sexo: [] [1] masculino [2] feminino [3] indeterminado [9] ignorado	
Data de Nascimento: ____/____/____	
Peso (em gramas): _____	Comprimento (em centímetros): _____
Número da declaração de nascido vivo – DNV: _____	
Número da Declaração de Óbito – DO: Digite em branco, caso ainda esteja na gestação _____	
Gestação e Parto	
informações sobre a identificação da microcefalia durante a gestação ou no pós-parto.	
Detecção de microcefalia em: [] [1] Intrauterino (na gestação) [2] Pós-parto [3] Não detectada microcefalia [9] ignorado	
Idade gestacional na detecção da microcefalia (em semanas): _____ Obs.: pode ser ainda na gestação ou momento do parto. Caso não tenha microcefalia digite "99"	
Classificação do recém-nascido ou lactente: [] [1] Pré-termo (< 37 semanas) [2] A termo (37 – 42 semanas) [3] Pós-termo (> 42 semanas) [4] Não se aplica [9] ignorado	
Tipo de gravidez: [] [1] Única [2] Dupla [3] Tripla ou mais [9] ignorado	
Perímetro cefálico (PC): (em centímetros com uma casa decimal) Registre o perímetro cefálico incluindo a decimal (exemplo: 31,5 ou 32,0) _____	
Circunferência Craniana _____ (se detectado no intraútero) (em centímetros). Registre o perímetro cefálico incluindo a decimal (exemplo: 20,5). Deixar em branco, caso não tenha realizado exame de imagem durante a gestação.	

ANEXO E – Curva de crescimento Intergrowth 21



ANEXO F – Zika virus and pregnancy in Brazil: What happened? (Artigo publicado)

[J Turk Ger Gynecol Assoc.](#) 2018 Mar; 19(1): 39–47.

Published online 2018 Mar 1. doi: [10.4274/jtgga.2017.0072](https://doi.org/10.4274/jtgga.2017.0072)

PMCID: PMC5838777

PMID: [29503261](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29503261/)

Zika virus and pregnancy in Brazil: What happened?

[Alessandra Mendelski Pereira](#),¹ [Denise Leite Maia Monteiro](#),¹ [Heron Werner](#),² [Pedro Daltro](#),² [Tatiana Fazecas](#),² [Bianca Guedes](#),² [Gabriele Tonni](#),³ [Alberto Borges Peixoto](#),⁴ and [Edward Araujo Júnior](#)^{5,*}

[Author information](#) [Article notes](#) [Copyright and License information](#) [Disclaimer](#)

Abstract

[Go to:](#)

Introduction

A significant epidemiologic surge of registered cases of newborns affected by microcephaly has occurred in the past two years in Brazil. Further evidence has highlighted a possible association of microcephaly with fever, cutaneous rash, and Guillan-Barré syndrome (GBS) in pregnant women living in areas where Zika virus (ZIKV) is endemic ([1,2,3,4](#)). ZIKV was known to cause such symptoms since its discovery in Africa after the second world war raising health attention and concerns following viral spread and outbreak from French Polynesia and Yap island ([5](#)) to countries of Central and Latin America, where the virus has shown to be particularly harmful. Until the ZIKV genome was isolated and extracted from the brain cells of a third trimester aborted fetus affected by severe microcephaly in a mother who had a presumed ZIKV intrauterine infection in the first trimester of pregnancy ([6](#)), the relationship between viral infection and microcephaly remained a conundrum for healthcare providers. This discovery represents a milestone in the understanding of the infectious disease while confirming a direct pathogenetic and teratogenetic role of ZIKV in cases of congenital infection. However, does ZIKV act as other components of the *Flaviviridae* family or are its teratogenic and neurotropic effects exerted by a different pathogenetic mechanism? Secondly, is there a potential close relationship between ZIKV and specific environmental factors in many areas of Brazil that might have contributed to the degree and severity of congenital ZIKV infection? Some of these crucial questions have been answered by phylogenetic studies, which demonstrated how the Brazilian strain of the ZIKV (ZIKVBR) was genotypically similar in 99% of cases to that isolated in French Polynesia ([7](#)). Nonetheless, although a large and rapidly growing number of microcephaly cases were recorded in women with suspected congenital ZIKV infection, serologic demonstration of the virus was only reported in a small subset of mothers ([8](#)) due to lack of laboratory tests at the time of the first Brazilian outbreak and availability of such tests in a low-resource clinical setting.

The present review aims to sum up historical and recent insights into the understanding of this severe congenital infection, from epidemiology to diagnosis, prognosis and prevention.

Particular results are reported about antenatal and postnatal neuroimaging findings occurring in pregnancy after intrauterine ZIKV infection.

[Go to:](#)

Etiology

The ZIKV is wrapped by a hicosaedryc capsid where the genome is formed by a single positive RNA helix of 10.794 nucleotides in length. It belongs to the *Flaviviridae* family, *Flavivirus* genus, which includes the yellow fever virus, dengue virus (DENV), and West Nile virus (WNV).

ZIKV virions are approximately 40-60 nm in size (9) and the viral genome encodes for a single polyprotein of approximately 3400 amino acids, which is further processed into ten different proteins consisting of three structural and seven non-structural proteins (10). It was first identified in a rhesus monkey in 1947 in the Zika forest in Uganda (11). Phylogenetic studies indicate the existence of two strains of the virus: Asian and African. The virus was first detected in humans in Nigeria in 1952 (12). In the following 60 years, benign and sporadic isolated cases of infection in humans were reported in Africa and Southeast Asia. The first outbreak of the disease occurred in the Yap Islands in 2007 where 49 confirmed and 59 suspected cases of ZIKV infections were detected. However, it was estimated that approximately 73% of the population was infected during this outbreak (13). Between 2013 and 2014, more than 28.000 suspected cases of infection were reported in French Polynesia and other Pacific islands. The ZIKV then spread into Brazil, Suriname, and Colombia *via* the Pacific Ocean. Genetic analysis revealed that the virus identified in Brazil belongs to an Asian lineage and originated from the strains from French Polynesia and the nearby islands (14,15). It has been demonstrated that the ZIKVBR in humans may be able to infect the neural progenitor cells (NPCs) causing cell death by inducing apoptosis and autophagy and disrupting the cortical layers leading to microcephaly (7). The history of the ZIKV is summarized in [Table 1](#).

Table 1

Place of discovery and epidemic outbreak of Zika virus

1947	Discovery of the Zika virus	Uganda	
1952	First human infection	Nigeria	
2007	First epidemic outbreak	Yap Islands	49 cases
2013	Second epidemic outbreak	French Polynesia	>400 cases
2015	Third epidemic outbreak	South America	>1.5 million cases in Brazil (according to the Brazilian Ministry of Health)

Transmission

As with other *Flaviviruses*, the transmission cycle of ZIKV between primates and mosquitoes is complex, and man is the occasional unintentional host. The intrinsic period of incubation of ZIKV in human hosts is 4-5 days. During this period, the virus infects other vectors that feed on infected blood, and after an extrinsic incubation period of 8-12 days, the virus is transmitted *via* vector saliva to other hosts (16). The virus is transmitted by mosquitoes of the *Aedes aegypti* species, which are also responsible for transmitting yellow fever, DENV, and chikungunya (CHIKV) fever. ZIKV has also been identified in *Aedes albopictus* mosquitoes (12).

It is noteworthy that *Arboviruses* (mosquito-borne viruses) usually replicate in the cytoplasm of dendritic cells (17), although a different replication mechanism has been hypothesized for ZIKV because its antigens have been observed within cell nuclei (18). It is interesting that the association between intrauterine ZIKV infection and microcephaly/GBS may be the result of the replication of ZIKV in a population with a high *Flavivirus* background- like pre-exposure to DENV infection (19).

The first case to suggest potential sexual transmission of the disease was reported in 2011. In 2015, the second case was reported, and in February 2016, the Centers for Disease Control in the United States recognized sexual transmission as a cause of ZIKV infection. Interestingly, ZIKV RNA can be identified in semen for up to 62 days, although the disease usually develops within 19 days following sexual intercourse (20).

Maternal–fetal transmission is one of the major concerns because ZIKV can cross the placenta at any stage of gestation, causing teratogenic effects (21). It has been confirmed that intrauterine infection occurring during the first trimester of pregnancy is associated with multiple congenital anomalies, mainly affecting the developing brain. The microcephaly risk due to ZIKV infection in the first trimester of pregnancy was estimated as 0.88 to 13.2% in cases of viral infection in the first trimester of pregnancy (22). ZIKV has been detected in the amniotic fluid, placenta, fetal tissues, and abortuses (23). The risk of transmission *via* blood transfusion from infected individuals was confirmed when the ZIKV outbreak occurred in French Polynesia (24).

[Go to:](#)

Clinical presentations

ZIKV infection is asymptomatic in most cases. The rate of symptomatic individuals among those infected during the Yap Island outbreak in 2007 was 18% (13). There is no difference in the clinical presentation of pregnant and non-pregnant women infected by the virus, and individuals of all age groups are susceptible to the infection. Clinically, the symptoms appear a few days after being bitten by the mosquitoes and are characterized by generalized maculopapular rash, low intermittent fever, conjunctivitis, arthralgia, headache, myalgia, and asthenia. The symptoms have a short duration (2-7 days) and are usually self-limiting; the need for hospitalization is rare (25). In countries where ZIKV has active transmission, an increased incidence of neurologic syndromes, including encephalitis, meningoencephalitis, myelitis, acute flaccid paralysis, and GBS have been recorded (26).

Although ZIKV infection in the mother is accompanied by mild and less severe symptoms, it may cause multiple congenital malformations in the form of prematurity, placental insufficiency, and fetal growth restriction, which may progress to intrauterine fetal demise.

Moreover, ZIKV intrauterine infection is associated with an increased number of spontaneous abortions (27).

[Go to:](#)

Laboratory diagnosis

Laboratory diagnosis is based on the detection of ZIKV RNA using real-time reverse-transcriptase polymerase chain reaction (rRT-PCR) of serum within 5 days from the onset of symptoms. rRT-PCR of serum should be performed after the onset of symptoms because viremia is limited and the decrease in the viral load in maternal blood is very rapid after the onset of rash. The short-term positivity in serum and limited access to tests were the primary contributors to the difficulty in diagnosing the disease during the ZIKV outbreak in Brazil. ZIKV RNA can also be detected in urine with higher titers and for a longer period than in blood (usually within 20 days from the onset of symptoms). ZIKV has also been detected in saliva, semen, and cervical and uterine secretions. However, the suppression period has not yet been determined, and the virus may remain in the urine and semen for several months (11). rRT-PCR can also identify viral RNA in amniotic and cerebrospinal fluids (28).

Serum immunoglobulin (Ig) M antibodies produced by ZIKV infection may be detected from the fifth day from infection using ELISA or immunofluorescence; however, these tests are not specific for ZIKV. Cross-reactivity with other *Flaviviruses* is common and precludes diagnosis in individuals with previous infections including DENV and CHIKV, and those vaccinated against yellow fever (16). Positive IgM antibody tests for ZIKV should be confirmed using the plaque-reduction neutralization test (PRNT), which is specific for ZIKV infection. Currently, this test is not available in Brazil. Although the conventional PRNT test provides a diagnosis of ZIKV infection within 7 days, a recent study reported the development of a rapid PRNT that may provide a diagnosis within 48 hours, without reducing the specificity of the PRNT test (29).

[Go to:](#)

The disease in Brazil

ZIKV was first diagnosed in Brazil in the State of Bahia in 2015 based on the test results of serum from patients with DENV-like symptoms, including rash, fever, myalgia, arthralgia, and conjunctivitis (30). Later in September, a study reported a significant increase in the number of cases of microcephaly in newborns in northeastern Brazil and later in southeastern Brazil (31). ZIKV RNA was isolated from the amniotic fluid of pregnant women carrying fetuses with confirmed microcephaly and from the brains of fetuses with central nervous system (CNS) malformations (21).

In 2014, 147 cases of microcephaly were reported in Brazil, and in November 2015, the Brazilian Ministry of Health declared a public health emergency of national importance [Emergência em Saúde Pública de Importância Nacional (ESPIN)] because of changes in the pattern of occurrence of microcephaly in Brazil. Between 2015 and 2016, 10,232 cases of changes in the growth and development of newborns possibly due to ZIKV infection and/or overlapping infections were reported. However, the World Health Organization (WHO) did not recognize ESPIN until February 2016. Since March 2016, the number of reported cases of ZIKV intrauterine infection has significantly decreased in Brazil, partly due to the application of a “Rapid Action Strategy” [Estratégia de Ação Rápida (EAR)]. This program strengthens both healthcare and social protection for children with microcephaly. Additional federal funds

were allocated to Brazilian States and municipalities to ensure access to diagnostic tests and monitoring the growth and development of these children. The cases of microcephaly registered by EAR were mainly concentrated in the northeast region of Brazil (67.0%), followed by the southeast (20.2%), midwest (5.1%), north (5.0%), and south (2.0%) regions. The States with the highest number of postnatally confirmed cases of microcephaly were Pernambuco (392 cases), Bahia (335 cases), and Rio de Janeiro (234 cases) State (32). In 2016, 215,319 probable cases of fever caused by ZIKV infection were reported in Brazil. Eight neonatal deaths due to ZIKV infection were confirmed through laboratory examination—four in Rio de Janeiro, two in Espírito Santo, one in Maranhão, and one in Paraíba. Although Rio de Janeiro and Piauí State did not report any suspected cases (3), 2347 newborns with microcephaly have been recorded in Brazil as of January 2017.

In 2017, 1653 probable cases of intrauterine ZIKV infection were reported, confirmed postnatally in 275 newborns. The incidence in the northern region of Brazil was higher than that in the other areas. As of February 2017, no cases of neonatal death due to ZIKV infection were confirmed in laboratory examinations (32).

[Go to:](#)

Fetal infection

The mechanism by which ZIKV crosses the placenta is still unclear, but its neurotropism (6) and ability to destroy neural cells have been clearly studied (33). ZIKV infection induces abnormal mitotic and apoptotic cell death of human NPCs, causing disruptive lesions in the fetal CNS (34). NPCs are the primary target of the ZIKV, and this may partly explain the high number of abnormalities seen in the CNS and detected by neuroimaging examinations (35). The abnormalities affecting the developing brain are often diagnosed during the third trimester of pregnancy (36,37,38) or after birth. The teratogenic effects to the embryo, fetus, and newborn caused by ZIKV constitute what has been referred to as congenital ZIKV syndrome. These abnormalities include CNS disorders, impaired development of the eyes and ears, and arthrogryposis (39,40). The most common findings affecting the CNS are microcephaly, ventriculomegaly, brain calcifications, midline echo, and cerebellar defects. When microcephaly is considered, the most severe forms are those following congenital ZIKV infection occurring in the first trimester of pregnancy (41).

Microcephaly is a congenital malformation caused by impaired growth of the fetal brain, which leads to a decrease in the head circumference (HC). The Brazil Ministry of Health recommends an occipito-frontal circumference (OFC) of 32 cm or 2 standard deviation (SD) below the Fenton reference (42,43) for the diagnosis of microcephaly, whereas “severe microcephaly” is defined by an OFC of <3 SD (43,44,45,46). The reference ranges for HC most commonly used in Brazil are those reported in the InterGrowth chart (45,46), although the use of InterGrowth standards reduced the detection of microcephaly compared with Fenton growth chart (43). On November 18th, 2015, the Brazilian Ministry of Health defined newborns with gestational age (GA) of at least 37 weeks with HC smaller than 33 cm at birth as having microcephaly, for which registration is mandatory. However, due to the high numbers of false-positive cases, this cut-off value was reduced to 32 cm on December 9th, 2015 (32).

[Go to:](#)

The role of ultrasound antenatal management

The International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology recommends the following ultrasound (US) monitoring protocols (47):

- a) Confirmation of GA preferably before 14 weeks of pregnancy by measuring the crown–rump length;
- b) Basic US: basic biometry with evaluation of fetal anatomy and growth rate;
- c) Subsequent US: pregnant women with a clinical history of rashes, with or without serologic confirmation, should be scanned every 4-6 weeks;
- d) In cases where US shows either fetal HC with 2 SD below the mean expected value for GA and sex or CNS malformations, the mother should be referred to a tertiary care center. A thorough neuroimaging examination should address morphology, integrity, and degree of skull ossification; presence of the cerebral midline echo throughout the length of the skull; and symmetry of the intracranial structures, such as lateral ventricles, cavum septum pellucidum, thalami, cerebellum, and cisterna magna. If available, magnetic resonance imaging (MRI) should be planned to search for other abnormalities affecting the corpus callosum, neural migration, and reduced gyration and sulcation. Other causes of overlapping infections should be discarded. Pregnant woman should be informed of the benefits and risks of amniocentesis to detect ZIKV RNA by rRT-PCR in amniotic fluid.

[Go to:](#)

Prenatal radiological findings

Detailed knowledge of possible neuroimaging findings in newborns following congenital ZIKV infection is crucial for correct diagnosis, and enhancing parent counseling about the prognosis of the affected child (35).

Ultrasound: US is the method of choice for monitoring pregnant women living in areas at increased risk of congenital ZIKV infection. HC is easy to measure, and microcephaly is the most common finding in cases of congenital ZIKV infection. Studies conducted in Brazil to monitor fetal microcephaly using US indicated that microcephaly was severe in 73.7% of patients with HC <5 SD below the mean expected value for GA. Only 10.5% of fetuses had microcephaly alone, whereas 89.5% of fetuses had additional CNS malformations, including periventricular or parenchymal calcifications (63.2%), symmetrical or asymmetrical ventriculomegaly (47.4%), cerebellar abnormalities (42.1%), and cortical atrophy (15.8%). Doppler findings of the umbilical artery of these fetuses were unremarkable (48). Other abnormalities seen were craniofacial disproportion, agenesis or hypoplasia of the corpus callosum, congenital clubfoot, oligohydramnios, cardiac calcification, hepatomegaly, hyperflexion of the second and third fingers, and arthrogryposis. It is important to note that in almost all cases, the US findings were unremarkable until weeks 24, *i.e.*, pathologic findings are usually diagnosed only after GA of 24 weeks. Therefore, a normal morphologic examination *per se* does not rule out the possibility of congenital infection (48). For this reason, pregnant women with proven or suspected congenital ZIKV infection should be followed up with US until delivery (Figure 1).

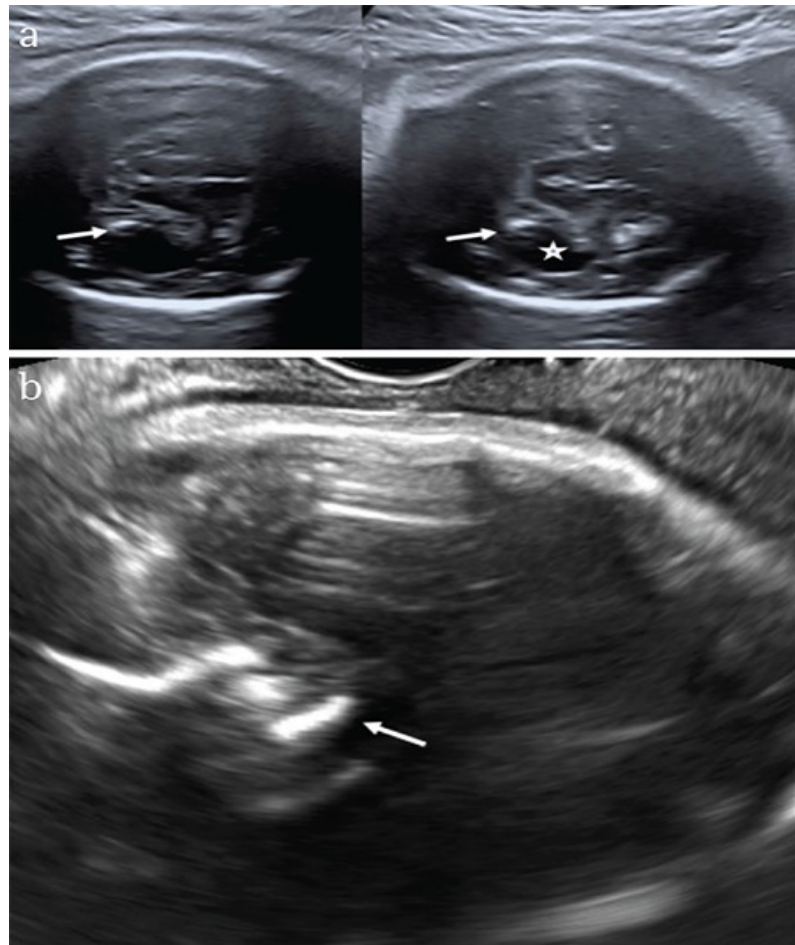


Figure 1

Prenatal ultrasound showing calcifications (arrows), ventricular dilatation (*) and microcephaly. Transabdominal axial plane (34 weeks) (a), ultrasound imaging of the fetal brain during third trimester of pregnancy is hindered by the ossified skull base. Axial plane obtained by means of transvaginal probe (b) brain calcifications are more visible (arrow)

Magnetic resonance imaging: The MRI findings in fetuses with congenital ZIKV infections are similar to those reported with US. However, brain abnormalities such as polymicrogyria, lissencephaly, pachygyria, abnormal myelination, and changes to white matter and the cerebral cortex, are best evaluated using MRI. However, the sensitivity of MRI in the detection of intraparenchymal brain calcifications is lower than that reported using US ([Figure 2](#)) ([35](#)).

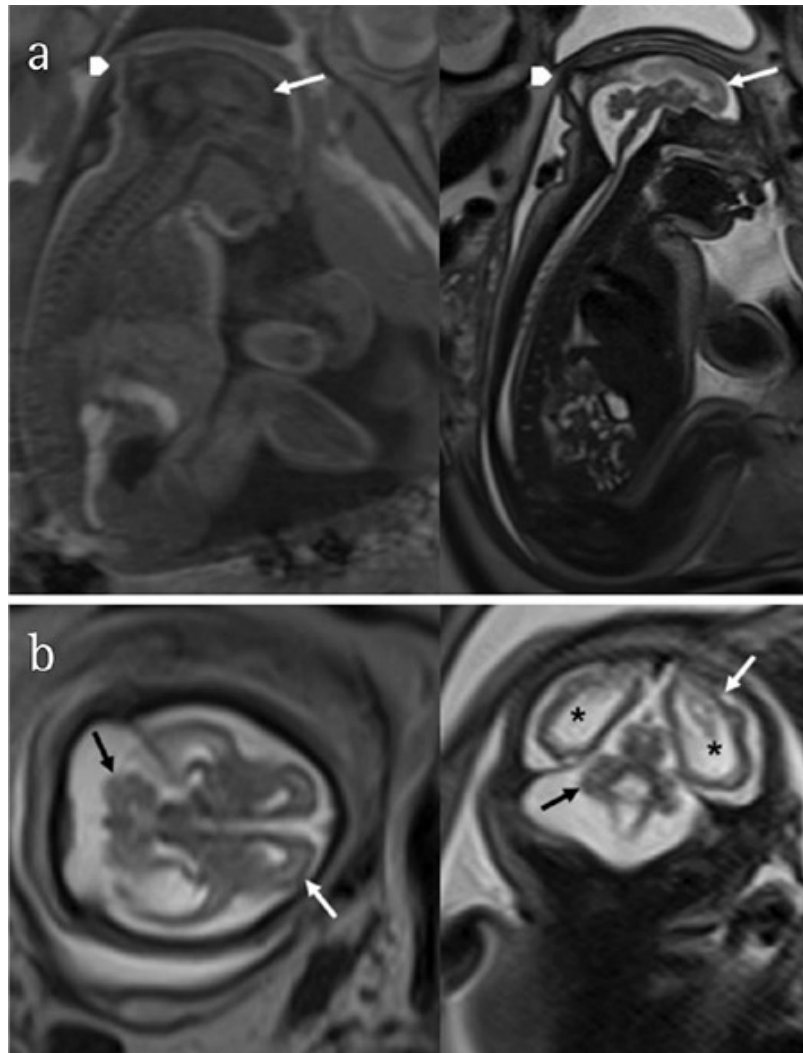


Figure 2

T1- and T2-weighted magnetic resonance imaging in sagittal plane (37 weeks). Note microcephaly and smoothness of the brain surface (arrow) and redundant skin fold (arrow head) (a), axial and coronal planes showed cortical atrophy (white arrow), ventricular dilatation (*) and cerebellar hypoplasia (black arrow) (b)

Postnatal radiologic findings

Ultrasound: Transfontanellar US is the examination of choice for the assessment of newborns because of its safety, ease of use, and low cost. It provides adequate visualization of the brain parenchyma and of the ventricular system. US is accurate in the evaluation of the location of cerebral calcifications, and is diagnostic in detecting ventriculomegaly, dysgenesis of the corpus callosum, subependymal cysts, malformations of cortical development, cerebellar and hypoplasia and brain stem (35). Small fontanels or premature closure of cranial sutures as well as bony structures of the skull are common findings in infected children and these factors may hinder US accuracy (Figure 3).

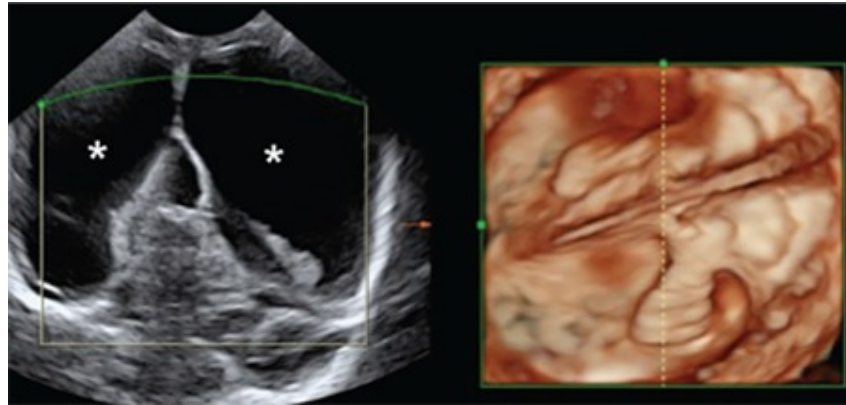


Figure 3

Postnatal transfontanellar ultrasound performed with three-dimensional volume reconstruction showing ventricular dilatation (*)

Computed tomography: Computed tomography (CT) scans provide excellent sensitivity in the assessment of parenchymal calcifications and skull bone deformities, particularly in cases where a three-dimensional reconstruction is used. Intracranial calcifications are clearly identified in CT scans; calcifications may be punctate or coarse and usually located in the corticomedullary junction or immediately below this junction in the frontal and parietal lobe or in the periventricular lobe. Calcifications may rarely occur in the basal ganglia, thalami and cerebellum. Other phenotypic anomalies include craniofacial disproportion, depression of the frontal and parietal bones, overriding of sutures, small fontanels, demyelination, and abnormal density of white matter. Deformities of the cranial bones are secondary to acute cerebral atrophy and reduced intracranial pressure; these findings are commonly seen in infected children (49). The disadvantage of CT, compared with US and MRI, is the increased exposure to radiation (Figure 4).

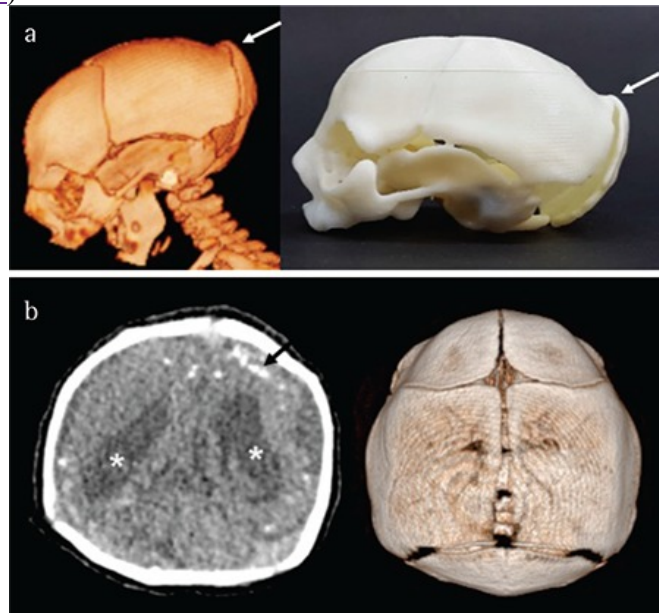


Figure 4

Three-dimensional sagittal reconstruction from computed tomography scan and corresponding three-dimensional printing. The skull has collapsed appearance (arrow) (a), axial plane shows frontal lobe calcifications (arrow), ventricular dilatation (*) with three-dimensional axial reconstruction (b)

Magnetic resonance imaging: The quality of MRI in neuroimaging makes it the first choice in the evaluation of children with congenital ZIKV infection. MRI offers high sensitivity and specificity to detecting brain pathology in fetuses and newborns. Defects in the development of the cerebral cortex are associated in almost all cases of microcephaly and are characterized by cortical atrophy and abnormalities in the pattern of the brain gyri (polymicrogyria) and sulci. Demyelination or delayed myelination causes changes in the brain mantle in 88-100% of cases. Moderate-to-severe ventriculomegaly occurs in 85-100% of cases and usually affects the entire ventricular system. Interventricular septa are found in 10-30% of cases, and changes in the corpus callosum (agenesis or atrophy) may affect up to 94% of newborns. Cerebellar hypoplasia may be unilateral or bilateral and affects 27-82% of infected newborns (35). Congenitally-infected children often have sleep disturbances and restlessness requiring sedation before undergoing MRI (Figure 5).

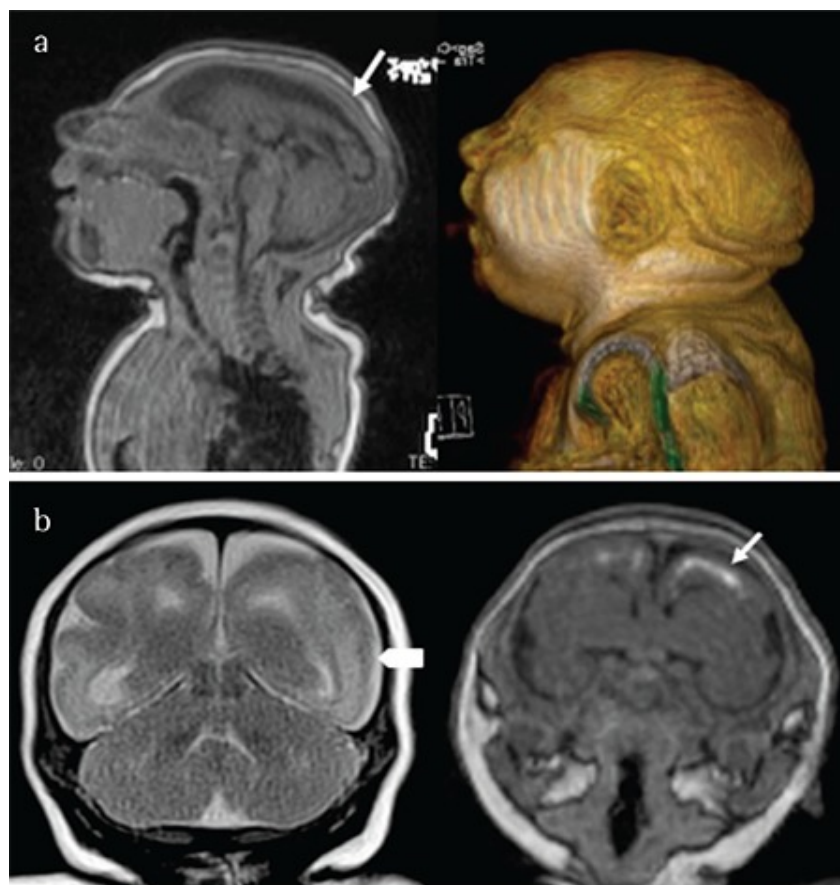


Figure 5

Postnatal T1-weighted magnetic resonance imaging in sagittal plane showing cortical atrophy (arrow) and three-dimensional reconstruction showing microcephaly (a), coronal T2- and T1-weight images showing smoothness of the brain (arrow head) and calcifications (arrow) (b)

Congenital infection without microcephaly

Congenital microcephaly may be a marker of intrauterine ZIKV infection but the disease may not always be detected at birth. A Brazilian study involving 13 newborns with congenital ZIKV infection but born without microcephaly documented the presence of other CNS abnormalities, including ventriculomegaly, cerebral atrophy, subcortical calcifications, and cortical malformations, underlining the need to use neuroimaging in these assessments. In

these clinical series, the development of microcephaly only presented after birth and was accompanied by severe neurologic disorders, including hypertension, hemiparesis, dystonia, dysphagia, epilepsy, and the persistence of primitive reflexes. These symptoms did not differ from those found in children where microcephaly was detected at birth. However, children born without microcephaly showed better social interaction and made and maintained eye contact and social smiles. However, in this group, 60% of the children had epilepsy and all presented with neuromotor disorders (50).

[Go to:](#)

Prevention

The most effective prevention strategy is vector control, either by integrated insect management or personal prevention with repellents, long-sleeved clothes, and cooled air. The WHO has also proposed the possibility of using genetically modified mosquitoes to control the populations of *Aedes aegypti*. Since March 2016, academic and pharmaceutical institutions have been working on the development of various types of vaccines against ZIKV, which include the use of live and attenuated viruses (16).

[Go to:](#)

Treatment

Treatment primarily consists of supportive measures and rest because ZIKV is usually a self-limiting infection, although long maternal viremia has been reported (33). To date, no drugs have been approved for the treatment of ZIKV or other *Flavivirus* infections. A recent *in vitro* study suggested that ZIKV infection could respond to treatment with interferon. However, more studies are needed to confirm this finding (16).

[Go to:](#)

Prognosis

The biologic effects of ZIKV infection are variable in degree and severity, with different clinical manifestations. The more severe the case of microcephaly, the worse the prognosis is. Early diagnosis allows for early encouragement and improvement of neuromotor performance in children with ZIKV infection.

In conclusion, the outbreak of ZIKV as seen in Brazil in the last two years has contributed to increased numbers of notified cases of microcephaly in newborns; when microcephaly was diagnosed antenatally it was usually at the time of the third trimester scan, and was confirmed, in the vast majority of cases, postnatally by means of CT scans or MRI; antenatal and postnatal diagnosis of microcephaly should be performed according to specific constructed US reference curves; primary microcephaly should be excluded by genetic testing; ZIKV infection as well as overlapping viral infectious diseases (yellow fever, WNV, DENV and CHIKV) and TORCH should be investigated and excluded with diagnostic laboratory testing; amniocentesis to search for viral ZIKV RNA should be recommended after 14-16 weeks in all pregnant women with proven intrauterine ZIKV infection; a thorough US examination, especially a neuroscan, should be performed by expert sonographers in tertiary care centers and fetal MRI incorporated as a complementary neuroimaging investigation; ZIKV has high neurotropism and causes teratogenic effects in the fetus mainly affecting the developing brain; the most severe forms of ZIKV-related congenital infections are associated with prolonged viral shedding and direct placental action is also hypothesized; in targeted cases the ZIKV

genome should be sought and isolated from the placenta, and brain tissue and phylogenetic studies should be conducted to investigate the different ZIKV strains; newborns with ZIKV-associated microcephaly should undergo neurodevelopmental outcomes. Although ongoing research is trying to develop specific vaccines against ZIKV, appropriate counselling is advised to prevent congenital infection in pregnant women, especially for those living in epidemic areas of the virus.

[Go to:](#)

Footnotes

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Contributed by

Author Contributions: Concept - A.M.P., D.L.M.M., H.W.; Design - A.M.P., P.D., H.W.; Supervision - H.W., E.A.J.; Materials - T.F., B.G.; Writer - A.M.P., G.T., A.B.P., E.A.J.

Conflict of Interest: No conflict of interest is declared by the authors.

Financial Disclosure: The authors declared that this study received no financial support.

[Go to:](#)

References

1. Zanluca C, Melo VC, Mosimann AL, Santos GI, Santos CN, Luz K. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2015;110:569–72. [[PMC free article](#)][[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
2. Campos GS, Bandeira AC, Sardi SI. Zika Virus Outbreak, Bahia, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2015;21:1885–6. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
3. Schuler-Faccini L, Ribeiro EM, Feitosa IM, Horovitz DD, Cavalcanti DP, Pessoa A, et al. Possible Association Between Zika Virus Infection and Microcephaly - Brazil, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2016;65:59–62. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
4. Vogel G. Emerging Diseases. A race to explain Brazil's spike in birth defects. *Science*. 2016;351:110–1. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
5. Ios S, Mallet HP, Leparac Goffart I, Gauthier V, Cardoso T, Herida M. Current Zika virus epidemiology and recent epidemics. *Med Mal Infect*. 2014;44:302–7. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
6. Mlakar J, Korva M, Tul N, Popović M, Poljšak-Prijatelj M, Mraz J, et al. Zika Virus Associated with Microcephaly. *N Engl J Med*. 2016;374:951–98. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
7. Cugola FR, Fernandes IR, Russo FB, Freitas BC, Dias JL, Guimarães KP, et al. The Brazilian Zika virus strain causes birth defects in experimental models. *Nature*. 2016;534:267–71. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

8. Sharma A, Lal SK. Zika Virus: Transmission, Detection, Control, and Prevention. *Front Microbiol.* 2017;8:110. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
9. Daep CA, Muñoz-Jordán JL, Eugenin EA. Flaviviruses, an expanding threat in public health: focus on dengue, West Nile, and Japanese encephalitis virus. *J Neurovirol.* 2014;20:539–60. [[PMC free article](#)][[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
10. Saiz JC, Vázquez-Calvo Á, Blázquez AB, Merino-Ramos T, Escribano-Romero E, Martín-Acebes MA. Zika Virus: the Latest Newcomer. *Front Microbiol.* 2016;7:496. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
11. Dick GW, Kitchen SF, Haddow AJ. Zika virus. I. Isolations and serological specificity. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1952;46:509–20. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
12. Macnamara FN. Zika virus: a report on three cases of human infection during an epidemic of jaundice in Nigeria. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1954;48:139–45. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
13. Duffy MR, Chen TH, Hancock WT, Powers AM, Kool JL, Lanciotti RS, et al. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N Engl J Med.* 2009;360:2536–43. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
14. Cao-Lormeau VM, Roche C, Teissier A, Robin E, Berry AL, Mallet HP, et al. Zika virus, French polynesia, South pacific, 2013. *Emerg Infect Dis.* 2014;20:1085–6. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
15. Musso D. Zika Virus Transmission from French Polynesia to Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2015;21:1887.[[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
16. Abushouk AI, Negida A, Ahmed H. An updated review of Zika virus. *J Clin Virol.* 2016;84:53–8.[[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
17. Diamond MS, Shrestha B, Mehlhop E, Sitati E, Engle M. Innate and adaptive immune responses determine protection against disseminated infection by West Nile encephalitis virus. *Viral Immunol.* 2003;16:259–78. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
18. Buckley A, Gould EA. Detection of virus-specific antigen in the nuclei or nucleoli of cells infected with Zika or Langkat virus. *J Gen Virol.* 1988;69:1913–29. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
19. Priyamvada L, Quicke KM, Hudson WH, Onlamoon N, Sewatanon J, Edupuganti S, et al. Human antibody responses after dengue virus infection are highly cross-reactive to Zika virus. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2016;113:7852–7. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
20. D'Ortenzio E, Matheron S, Yazdanpanah Y, de Lamballerie X, Hubert B, Piorkowski G, et al. Evidence of Sexual Transmission of Zika Virus. *New Engl J Med.* 2016;374:2195–8. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
21. Oliveira Melo AS, Malinge G, Ximenes R, Szejnfeld PO, Alves Sampaio S, Bispo de Filippis AM. Zika virus intrauterine infection causes fetal brain abnormality and microcephaly: tip of the iceberg? *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016;47:6–7. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

22. Johansson MA, Mier-y-Teran-Romero L, Reefhuis J, Gilboa SM, Hills SL. Zika and the Risk of Microcephaly. *N Engl J Med*. 2016;375:1–4. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
23. Martines RB, Bhatnagar J, Keating MK, Silva-Flannery L, Muehlenbachs A, Gary J, 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*. 2016;65:150–60. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
24. 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 Surveil*. 2014;19:20761. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
25. Meaney-Delman D, Rasmussen SA, Staples JE, Oduyebo T, Ellington SR, Petersen EE, et al. Zika Virus and Pregnancy: What Obstetric Health Care Providers Need to Know. *Obstet Gynecol*. 2016;127:642–8. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
26. Cao-Lormeau VM, Blake A, Mons S, Lastere S, Roche C, Vanhomwegen J, et al. Guillain-Barré Syndrome outbreak associated with Zika virus infection in French Polynesia: a case-control study. *Lancet*. 2016;384:1531–9. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
27. Brasil P, Pereira JP Jr, Moreira ME, Ribeiro Nogueira RM, Damasceno L, Wakimoto M, et al. Zika Virus Infection in Pregnant Women in Rio de Janeiro. *N Engl J Med*. 2016;375:2321–34. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
28. Calvet G, Aguiar RS, Melo ASO, Sampaio SA, 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. *Lancet Infect Dis*. 2016;16:653–60. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
29. Shan C, Xie X, Ren P, Loeffelholz MJ, Yang Y, Furuya A, et al. A Rapid Zika Diagnostic Assay to Measure Neutralizing Antibodies in Patients. *EBioMedicine*. 2017;17:157–62. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
30. Campos GS, Bandeira AC, Sardi SI. Zika Virus Outbreak, Bahia, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2015;21:1885–6. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
31. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico da Secretaria de Vigilância em Saúde. 2017; 48. Assessed March 27, 2017. [[Internet](#)] http://combateaedes.saude.gov.br/images/pdf/2017-Dengue_Zika_Chikungunya-SE4.pdf.
32. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico da Secretaria de Vigilância em Saúde. 2017; 47. Assessed February 06, 2016. [[Internet](#)] <http://combateaedes.saude.gov.br/images/pdf/2016-006-Dengue-SE5.pdf>.
33. Driggers RW, Ho CY, Korhonen EM, Kuivanen S, Jääskeläinen AJ, Smura T, et al. Zika Virus Infection with Prolonged Maternal Viremia and Fetal Brain Abnormalities. *N Engl J Med*. 2016;374:2142–51. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
34. Souza BS, Sampaio GL, Pereira CS, Campos GS, Sardi SI, Freitas LA, et al. Zika virus infection induces mitosis abnormalities and apoptotic cell death of human neural progenitor cells. *Sci Rep*. 2016;23:39775. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

35. Zare Mehrjardi M, Poretti A, Huisman TA, Werner H, Keshavarz E, Araujo Júnior E. Neuroimaging findings of congenital Zika virus infection: a pictorial essay. *Jpn J Radiol.* 2017;35:89–94. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
36. Werner H, Fazecas T, Guedes B, Lopes Dos Santos J, Daltro P, Tonni G, et al. Intrauterine Zika virus infection and microcephaly: correlation of perinatal imaging and three-dimensional virtual physical models. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016;47:657–60. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
37. Carvalho FH, Cordeiro KM, Peixoto AB, Tonni G, Moron AF, Feitosa FE, et al. Associated ultrasonographic findings in fetuses with microcephaly because of suspected Zika virus (ZIKV) infection during pregnancy. *Prenat Diagn.* 2016;36:882–7. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
38. Werner H, Sodr e D, Hygino C, Guedes B, Fazecas T, Nogueira R. First-trimester intrauterine Zika virus infection and brain pathology: prenatal and postnatal neuroimaging findings. *Prenat Diagn.* 2016;36:785–9. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
39. Ventura CV, Maia M, Dias N, Ventura LO, Belfort R Jr. Zika: neurological and ocular findings in infant without microcephaly. *Lancet.* 2016;387:2502. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
40. van der Linden V, Filho EL, Lins OG, van der Linden A, Arag o Mde F, Brainer-Lima AM, et al. Congenital Zika syndrome with arthrogryposis: retrospective case series study. *BMJ.* 2016;354[[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
41. Pomar L, Malinger G, Benoist G, Carles G, Ville Y, Rousset D, et al. Association between Zika virus and fetopathy: a prospective cohort study in French Guiana. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2017;49:729–36. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
42. Panchaud A, Stojanov M, Ammerdorffer A, Vouga M, Baud D. Emerging Role of Zika Virus in Adverse Fetal and Neonatal Outcomes. *Clin Microbiol Rev.* 2016;29:659–94. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
43. Fenton TR, Kim JH. A systematic review and meta-analysis to revise the Fenton growth chart for preterm infants. *BMC Pediatr.* 2013;13:59. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
44. Ashwal S, Michelson D, Plawner L, Dobyns WB Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the Practice Committee of the Child Neurology Society. Practice parameter: Evaluation of the child with microcephaly (an evidence-based review): report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the Practice Committee of the Child Neurology Society. *Neurology.* 2009;73:887–97. [[PMC free article](#)] [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
45. Villar J, Cheikh Ismail L, Victora CG, Ohuma EO, Bertino E, Altman DG, et al. International standards for newborn weight, length, and head circumference by gestational age and sex: the Newborn Cross-Sectional Study of the INTERGROWTH-21st Project. *Lancet.* 2014;384:857–68. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
46. Victora CG, Schuler-Faccini L, Matijasevich A, Ribeiro E, Pessoa A, Barros FC. Microcephaly in Brazil: how to interpret reported numbers? *Lancet.* 2016;387:621–4. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

47. Papageorghiou AT, Thilaganathan B, Bilardo CM, Ngu A, Malinger G, Herrera M, et al. ISUOG Interim Guidance on ultrasound for Zika virus infection in pregnancy: information for healthcare professionals. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2016;47:530–2. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
48. Carvalho FH, Cordeiro KM, Peixoto AB, Tonni G, Moron AF, Feitosa FE, et al. Associated ultrasonographic findings in fetuses with microcephaly because of suspected Zika virus (ZIKV) infection during pregnancy. *Prenat Diagn.* 2016;36:882–7. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
49. Cavalheiro S, Lopez A, Serra S, Da Cunha A, da Costa MD, Moron A, et al. Microcephaly and Zika virus: neonatal neuroradiological aspects. *Childs Nerv Syst.* 2016;32:1057–60. [[PMC free article](#)][[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
50. van der Linden V, Pessoa A, Dobyys W, Barkovich AJ, Júnior HV, Filho EL, et al. Description of 13 Infants Born During October 2015-January 2016 With Congenital Zika Virus Infection Without Microcephaly at Birth - Brazil. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2016;65:1343–8. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]

Articles from Journal of the Turkish German Gynecological Association are provided here courtesy
of **Turkish German Gynecological Association**