

INSTITUTO DE MEDICINA INTEGRAL PROF. FERNANDO FIGUEIRA – IMIP  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* DO IMIP  
FACULDADE DE CIÊNCIA MÉDICAS DE CAMPINA GRANDE – FCM  
MINTER EM SAÚDE MATERNO-INFANTIL IMIP/FPS

**MARIANNY ASSIS COSTA**

**DESFECHOS GESTACIONAIS E PERINATAIS DOS CASOS DE SÍNDROME DE ZIKA  
CONGÊNITA ACOMPANHADOS EM UM SERVIÇO DE REFERÊNCIA DO NORDESTE  
DO BRASIL**

**RECIFE – PE**

**2019**

INSTITUTO DE MEDICINA INTEGRAL PROF. FERNANDO FIGUEIRA – IMIP  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* DO IMIP  
FACULDADE DE CIÊNCIA MÉDICAS DE CAMPINA GRANDE – FCM  
MINTER EM SAÚDE MATERNO-INFANTIL IMIP/FPS

**DESFECHOS GESTACIONAIS E PERINATAIS DOS CASOS DE SÍNDROME DE ZIKA  
CONGÊNITA ACOMPANHADOS EM UM SERVIÇO DE REFERÊNCIA DO NORDESTE  
DO BRASIL**

Dissertação apresentada no Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (IMIP) como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Saúde Materno Infantil.

**Autor:** Marianny Assis Costa

**Orientadora:** Profa. Dra. Melania Maria Ramos de Amorim

**Coorientadora:** Profa. Dra. Adriana Suely de Oliveira Melo

**Coorientadora:** Prof. Dra. Jousilene Mendes

**Linha de Pesquisa:** Estudos epidemiológicos, clínicos e translacionais no pré-natal, parto e puerpério

**RECIFE – PE**

**2019**

Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira – IMIP  
Ficha Catalográfica BAB-010/2020  
Elaborada por Túlio Revoredo CRB-4/2078

---

C836d Costa, Marianny Assis

Desfechos gestacionais e perinatais dos casos de síndrome de zika congênita acompanhados em um serviço de referência do nordeste do Brasil / Marianny Assis Costa. Orientadora: Melania Maria Ramos de Amorim. Coorientadoras: Adriana Suely de Oliveira Melo; Jousilene Mendes – Recife: Do Autor, 2019.

129 f.: il.

Dissertação (Mestrado Interinstitucional em Saúde Materno Infantil) – Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira / Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande, 2019.

1. Zika vírus. 2. Microcefalia. 3. Gestantes. I. Amorim, Melania Maria Ramos de: orientadora. II. Melo, Adriana Suely de Oliveira: coorientadora. III. Mendes, Jousilene: coorientadora. IV. Título.

CDD 616.858844

---

**DESFECHOS GESTACIONAIS E PERINATAIS DOS CASOS DE SÍNDROME DE ZIKA CONGÊNITA ACOMPANHADOS EM UM SERVIÇO DE REFERÊNCIA DO NORDESTE DO BRASIL**

Dissertação de Mestrado em Saúde Materno infantil do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Saúde Materno Infantil do Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira – IMIP, submetida à defesa pública e \_\_\_\_\_ pela Banca Examinadora em 30 de abril de 2019.

**Banca Examinadora:**

---

**Profa. Dra. Gláucia Lins Guerra (membro da banca examinadora)**

---

**Profa. Dra. Maria do Carmo Menezes Bezerra Duarte (membro da banca examinadora)**

---

**Profa. Dra. Melania Amorim (Orientadora e Presidente da banca examinadora)**

## **DEDICATÓRIA**

*A Deus, força presente por todo o caminho, aquele que conduz, modifica e aprimora.*

*A minha família por toda base, parceria e paciência.*

*A minha Orientadora e às Coorientadoras pela paciência, pelos ensinamentos e pelo incentivo.*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, que está presente em todos os momentos da minha vida, guiando e fortalecendo em cada direcionamento importante.

A minha família, base sustentadora. Ao meu esposo e incentivador em todo o desenvolvimento deste trabalho e às minhas filhas, por todo o amor que me faz seguir em frente.

Ao Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira, ao programa de Mestrado Interinstitucional em Saúde Materno-infantil e a Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande (FCM).

À minha orientadora, Prof. Dra. Melania Amorim, por todos os ensinamentos e condução na realização desta dissertação, sendo pessoa fundamental para meu crescimento. Às minhas coorientadoras Prof. Dra. Adriana Melo e Prof. Dra. Jousilene Mendes, essenciais para a construção e conclusão deste trabalho.

“Nada é pequeno se feito com amor”.

(Santa Terezinha)

## RESUMO

**Introdução:** no Brasil, foi vivenciado um rápido processo de dispersão de dois novos arbovírus para as Américas: o vírus Chikungunya, introduzido em julho/agosto de 2014, e o Zika vírus (ZIKV), possivelmente introduzido no mesmo período durante a Copa do Mundo Brasil 2014. Na Paraíba, o aumento dos casos de microcefalia reportados no final do mês de outubro do 2015, despertou o interesse pelas pesquisas sobre o vírus, suas manifestações clínicas, a relação com outras doenças semelhantes e os desfechos materno-fetais decorrentes da infecção por ZIKV. **Objetivo:** descrever os desfechos gestacionais e perinatais em casos de Síndrome Congênita de Zika (SCZ). **Métodos:** estudo de coorte prospectivo e retrospectivo envolvendo 102 pares de mães e fetos/crianças com SCZ. Foi realizada pesquisa do Zika em líquido amniótico, urina e/ou sangue materno, sangue do cordão e fragmento de placenta do recém-nascido (RN), além de exames de neuroimagem. Foi realizada a análise descritiva das variáveis, o teste qui-quadrado foi utilizado para comparar a presença de sintomas entre o braço prospectivo e o retrospectivo e o teste de Mann-Whitney foi usado para comparar o número de ultrassonografias obstétricas realizadas quando o diagnóstico intrauterino foi ou não realizado. **Resultados:** a maioria das gestantes tinha baixa condição socioeconômica e cerca de 82% eram atendidas no serviço público de saúde. Quase todas conheciam o Zika antes de engravidar e tinham criadouros do mosquito nos arredores da residência, com contato com mosquito e a maioria tinha exantema presente no primeiro trimestre (68,5%). O diagnóstico intrauterino foi realizado em 52,9% e amniocentese foi realizada em 19 gestantes. A RT-PCR foi positiva 57,9% dos casos em que foi realizada amniocentese. O diagnóstico materno de Zika foi presumido em 59,8% dos casos. O diagnóstico intrauterino através da ultrassonografia obstétrica foi realizado 57,2% das mulheres. O principal achado ultrassonográfico durante a gestação foi a ventriculomegalia, seguido por microcefalia,

calcificações subcorticais e/ou em núcleos da base, alterações de fossa posterior, artrogripose e disgenesia de corpo caloso. A infecção urinária foi a morbidade mais observada na gestação, seguida da anemia e hipertensão. Parto vaginal foi a via de nascimento mais frequente com 53,9% das mulheres. Todos os bebês nasceram vivos, a mediana de idade gestacional ao nascer foi 39 semanas, porém houve 15,7% de prematuridade. A média do perímetro cefálico foi de  $30,0 \pm 2,3$  cm, com 66% dos casos sendo classificados como microcefalia e artrogripose foi observada em 10 casos (9,8%). Complicações neonatais foram encontradas em 28,4% dos casos, sendo o desconforto respiratório observado em 23,3%, com 3,9% dos casos necessitando de manobras de ressuscitação e 15,7% de internação em unidade de terapia intensiva (UTI). Houve nove óbitos neonatais (8,8%). **Conclusão:** caracteriza-se uma coorte de gestantes de baixa renda, atendida pelo sistema público de saúde, em que o diagnóstico de SCZ foi na maior parte dos casos presumido pelos achados ultrassonográficos. A frequência de prematuridade e de complicações neonatais foi elevada. Apesar de apresentar uma frequência alta, a microcefalia não esteve presente em todos os casos de SCZ, devendo o diagnóstico da síndrome levar em consideração os achados intracranianos. A mortalidade neonatal foi elevada, quase 10%.

**Palavras-chave:** zika vírus, infecção por zika vírus, anormalidades congênitas, gravidez, dano cerebral, microcefalia.

## **ABSTRACT**

**Introduction:** In Brazil, a rapid dispersal process of two new arboviruses was observed in the Americas: the Chikungunya virus, introduced in July / August 2014, and the Zika virus (ZIKV), possibly introduced in the same period during the World Cup Brazil 2014. In Paraíba, the increase in cases of microcephaly reported at the end of October 2015 aroused interest in research on the virus, its clinical manifestations, its relationship with other similar diseases and the maternal-fetal outcomes resulting from the infection by ZIKV. **Objective:** to describe gestational and perinatal outcomes in cases of Congenital Zika Syndrome (CZS). **Methods:** prospective and retrospective cohort study involving 102 pairs of mothers and fetuses / children with CZS. Zika's research was performed on amniotic fluid, urine and / or maternal blood, cord blood and placenta fragment from the newborn (RN), as well as neuroimaging tests. A descriptive analysis of the variables was performed, the chi-square test was used to compare the presence of symptoms between the prospective arm and the retrospective arm, and the Mann-Whitney test was used to compare the number of obstetric ultrasonograms performed when the intrauterine diagnosis was or not performed. **Results:** most of the pregnant women had low socioeconomic status and about 82% were attended to in the public health service. Almost all of them knew Zika prior to becoming pregnant and had mosquito breeding sites in the vicinity of the house, with mosquito contact and most had rash present in the first trimester (68.5%). Intrauterine diagnosis was performed in 52.9% and amniocentesis was performed in 19 pregnant women. RT-PCR was positive in most cases where amniocentesis was performed (57,9%). The maternal diagnosis of Zika was generally presumed (59,8%). Intrauterine diagnosis through obstetric ultrasonography was performed in most women (57,2%). The main ultrasonographic findings during pregnancy were ventriculomegaly, followed by microcephaly, subcortical and / or basal nuclei calcifications, posterior fossa alterations, arthrogyrosis, and corpus callosum dysgenesis. Urinary tract

infection was the most observed morbidity during pregnancy, followed by anemia and hypertension. Vaginal birth was the most frequent mode of delivery (53,9%). All the babies were born alive, the median gestational age at birth was 39 weeks, but there was 15.7% of prematurity. The mean head circumference was  $30.0 \pm 2.3$  cm, with 66% of the cases classified as microcephaly and arthrogyriposis was observed in 10 cases (9.8%). Neonatal complications were found in 28.4%, with respiratory discomfort observed in 23.3%, 3.9% of the cases requiring neonatal resuscitation and 15.7% hospitalization in an intensive care unit. There were nine neonatal deaths (8.8%). Conclusion: a cohort of low-income pregnant women, assisted by the public health system, is characterized in which the diagnosis SCZ was in most cases presumed by ultrasonographic findings. The frequency of prematurity and neonatal complications was high. In spite of presenting a high frequency, microcephaly was not present in all cases of CZS, and the diagnosis of the syndrome should take into account intracranial findings. Neonatal mortality was high, almost 10%.

Key-Words: zikaVirus, zika virus Infection, congenital abnormalities, pregnancy, brain injuries, microcephaly

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CZS	Congenital Zika Syndrome
DENV	Dengue
FCM	Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande
IPESQ	Instituto Paraibano de Pesquisa Professor Joaquim Amorim Neto
OMS	Organização Mundial da Saúde
PC	Perímetro Cefálico
RM	Ressonância Magnética
RN	Recém-nascido
RT-PCR	Reação de transcriptase reversa
SCZ	Síndrome de Zika Congênita
TALE	Termo de Assentimento Livre e Esclarecido
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TNT	Tecido Não Tecido
TC	Tomografia Computadorizada
USG	Ultrassonografia
ZIKV	Zika Vírus

## SUMÁRIO

	Página
I. INTRODUÇÃO .....	1
II. OBJETIVOS .....	14
2.1. Objetivo Geral .....	14
2.2. Objetivos Específicos .....	14
III. MÉTODOS .....	16
3.1. Desenho do Estudo .....	16
3.2. Local do Estudo .....	16
3.3. Período de Coleta de Dados.....	16
3.4. População do Estudo .....	17
3.4. Amostra .....	17
3.5. Critérios e Procedimentos para Seleção dos Participantes .....	17
3.6. Fluxograma de Captação e Acompanhamento das Participantes .....	20
3.7. Variáveis de análise .....	21
3.8. Definição de Termos, Variáveis e dos Critérios para Seleção dos Participantes	23
3.9. Procedimentos, Testes, Técnicas e Exames.....	33
3.10. Coleta de dados.....	36
3.11. Processamento e Análise dos Dados .....	36
3.12. Aspectos Éticos.....	37
IV. RESULTADOS .....	39
4.1. Artigo para publicação.....	40
V. CONCLUSÕES .....	69
VI. SUGESTÕES E RECOMENDAÇÕES .....	72

VI. REFERÊNCIAS .....	73
APÊNDICES .....	80
Apêndice 1 – Lista de checagem .....	80
Apêndice 2 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (responsáveis).....	81
Apêndice 3-Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	85
Apêndice 5 – Formulário de Pesquisa .....	89
ANEXOS.....	82
Anexo 1 – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) .....	94
Anexo 2 –Aprovacao do Projeto através do EDITAL Zika nº 14/2016 e processo de número 440488/2016-8 . 118.....	102
Anexo 3 – Termo de Parceria entre IMIP e IPESq.....	109
Anexo 4 - Normas de publicação periódico Internacional Journal of Gynaecology and Obstetrics (IJGO) .....	110

## **LISTA DE TABELAS**

**Tabela 1.** Características biológicas, sociodemográficas, antecedentes obstétricos e hábitos das mulheres com SCZ

**Tabela 2.** Avaliação do pré-natal, contato com o mosquito, histórico de parceiro com Zika, sintomas do ZIKV, diagnóstico materno e intrauterino de infecção por ZKV

**Tabela 3.** Desfechos gestacionais em casos de SCZ

**Tabela 4.** Desfechos perinatais em casos de SCZ

## **LISTA DE FIGURAS**

**Figura 1.** Fluxograma

**Figura 2.** Achados neurossonográficos de SCZ

## I. INTRODUÇÃO

---

No Brasil, foi vivenciado um rápido processo de dispersão rumo célere ao endemismo de dois novos arbovírus para as Américas, porém, velhos conhecidos na África e Ásia: o vírus chikungunya, introduzido em julho/agosto de 2014, e o Zika vírus (ZIKV), em novembro de 2014<sup>1,2</sup>. No segundo semestre de 2014, uma nova doença febril foi registrada em algumas cidades do Nordeste brasileiro<sup>2</sup>. As manifestações clínicas não preenchiam os critérios para doenças exantemáticas clássicas, como sarampo, rubéola, escarlatina ou exantema súbito<sup>3</sup>. Apesar de a região Nordeste ser uma área endêmica para o vírus da dengue (DENV), algumas avaliações sorológicas foram negativas<sup>2,3</sup>.

O primeiro caso confirmado de infecção pelo Zika (ZIKV) nas Américas foi no Nordeste brasileiro em maio de 2015, embora estudos filogenéticos indiquem a introdução de vírus já em 2013<sup>4</sup>. O Zika se espalhou rapidamente pelo Brasil e por mais de 50 outros países e territórios no continente americano. A epidemia explosiva emergente teve diversos impactos sobre a saúde da população, coincidindo com casos da Síndrome de Guillain-Barré e uma inesperada epidemia de recém-nascidos com microcefalia e outras deficiências neurológicas<sup>2</sup>. Isso levou o Brasil a declarar uma emergência de saúde pública nacional em novembro de 2015, seguida por uma decisão semelhante da Organização Mundial da Saúde (OMS) três meses depois<sup>4</sup>.

O ZIKV é um arbovírus da família Flaviviridae, isolado pela primeira vez de um macaco Rhesus da floresta de Zika, Uganda, em 1947. Esse arbovírus está relacionado com o vírus da dengue, possuindo epidemiologia semelhante e ciclo de transmissão em ambientes urbanos. Em 2007, foram evidenciados casos de ZIKV fora da Ásia e da África pela primeira vez, causando um surto na região da Micronésia, que foi seguido por uma grande epidemia na

Polinésia Francesa em 2013 e 2014<sup>3</sup>. Posteriormente, o ZIKV se espalhou por vários países da Oceania<sup>5</sup>, voltado finalmente para o local de partida, a África<sup>6</sup>.

A infecção pelo Zika vírus é uma doença exantematosa aguda transmitida pelos mesmos vetores que algumas das doenças virais mais importantes transmitidas por artrópodes no mundo, incluindo dengue, chikungunya e febre amarela<sup>2,3</sup>. É transmitido principalmente pelos mosquitos *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, existindo a possibilidade de transmissão pela via sexual, por transfusão sanguínea e neonatal, embora não se saiba o real protagonismo dessas vias de transmissão na propagação da infecção<sup>2,4</sup>.

O período de incubação do ZIKV é desconhecido, porém estima-se que oscila entre alguns dias a duas semanas<sup>2,5</sup>. Até 80% dos infectados mantêm-se assintomáticos.<sup>5</sup> Os pacientes sintomáticos habitualmente apresentam manifestações moderadas que incluem febre de baixo grau, eritema maculopapular, conjuntivites, mialgia, artralgia, fadiga e dor de cabeça<sup>2,5</sup>. Os sintomas têm duração de dois a sete dias<sup>2</sup>.

A transmissão perinatal de arboviroses foi relatada para o DENV<sup>7</sup>, para o chikungunya (CHIKV)<sup>8,9</sup> e o vírus da febre amarela<sup>10</sup>, além da difusão do DENV através do leite materno<sup>11</sup>. Os primeiros casos de transmissão vertical do Zika confirmada através do exame Reverse Transcription – polymerase chain reaction (RT-PCR) – coletada quatro dias após o nascimento dos conceptos, foram relatados em 2013 na Polinésia Francesa. No primeiro caso, a mãe apresentou exantema dois dias antes do parto e o recém-nascido foi amamentado, apresentando teste da saliva positivo para a infecção, apesar de não ter desenvolvido sintomatologia. No segundo caso, o exantema cutâneo materno aconteceu três dias após o parto, juntamente com febre, e a criança tendo recebido, inicialmente, fórmula infantil, apresentou exantema apenas após ter sido amamentada, na mesma época da infecção materna. O leite materno foi testado e foi encontrada elevada carga de RNA viral. Os autores

concluíram que recém-nascidos filhos de mães infectadas no período perinatal pelo ZIKV devem ser acompanhados<sup>12</sup>.

A partir de setembro de 2015, os órgãos de vigilância epidemiológica do Brasil notificaram a detecção de um aumento anormal de casos de microcefalia tanto em estabelecimentos públicos de saúde quanto em privados, nos estados do nordeste do Brasil, especialmente em Pernambuco. Em comum, esses casos pareciam ter uma história pregressa de doença exantemática das mães dessas crianças<sup>13</sup>.

Em novembro de 2015, pesquisadores do Instituto Paraibano de Pesquisa Professor Joaquim Amorim Neto (IPESQ), na cidade de Campina Grande, no estado da Paraíba, coletaram líquido amniótico de duas gestantes, cujos fetos foram diagnosticados com alterações cerebrais<sup>2</sup>. Os achados ultrassonográficos incluíam calcificações subcorticais, atraso no desenvolvimento cortical, disgenesia de corpo caloso, ventriculomegalia, hipoplasia do vermis cerebelar. Apenas um dos casos apresentava microcefalia. A análise foi realizada no Laboratório de Flavivírus do Instituto Oswaldo Cruz do Rio de Janeiro, sendo detectada a presença de ZIKV através de RT-PCR. Os achados dos dois primeiros casos confirmados de transmissão fetal do vírus foram publicados em janeiro de 2016<sup>14</sup>e mostraram dois padrões distintos.

No caso 1, ultrassonografia fetal com 30 semanas encontrou anormalidades limitadas ao cérebro como atrofia e calcificações na substância branca do lobo frontal, incluindo lobo caudado, cerebelo, núcleo lenticuloestriado, assim como disgenesia do corpo caloso e vermis cerebelar. O caso 2 apresentava ultrassonografia com 29 semanas de gestação constatando assimetria dos hemisférios cerebrais com uma grave ventriculomegalia unilateral, além de alterações no desenvolvimento do tálamo, falha ao visualizar o corpo caloso, calcificações cerebrais mais sutis do que no caso 1 e, somado a isso, ambos os olhos eram acometidos por

catarata e calcificações intra-oculares. Esse artigo chamou atenção para o fato de a microcefalia ser apenas a ponta do iceberg<sup>14</sup>.

Em relação às gestantes, a paciente 1 apresentou rash cutâneo e prurido nas mãos e nas costas na 18<sup>a</sup> semana de gestação, sendo que as primeiras alterações fetais foram detectadas na 21<sup>a</sup> semana: microcefalia fetal com moderada ventriculomegalia e agenesia parcial do vermis cerebelar. Ultrassonografia realizada com 27 semanas confirmou microcefalia com relevante dilatação dos ventrículos, assimetria dos hemisférios e hipoplasia cerebelar com ausência completa do vermis cerebelar. Com 40 semanas de gestação, o feto apresentava microcefalia com áreas de calcificação e circunferência cefálica de 29 cm visto por ultrassonografia antes do nascimento<sup>14</sup>.

A paciente 2 referiu sintomas na 10<sup>a</sup> semana, com ultrassonografia morfológica revelando hipoplasia do vermis cerebelar na 22<sup>a</sup> semana de gestação. Uma segunda ultrassonografia, realizada na 25<sup>a</sup> semana, demonstrou uma hipoplasia mais grave do vermis cerebelar, aumento da fossa posterior e microcefalia<sup>15</sup>. O neonato apresentou grave ventriculomegalia, microftalmia, catarata, além de acentuada artrogripose em pernas e braços<sup>15</sup>.

Em março de 2016 foi publicado o primeiro resultado de autópsia do sistema nervoso central do natimorto, com estudo por microscopia eletrônica e imunofluorescência indireta. O caso relatou a história de mulher europeia de 25 anos que desde dezembro de 2013 morava e trabalhava em Natal, capital do Rio Grande do Norte, Brasil. Na 13<sup>a</sup> semana de gestação, apresentou febre, dor músculo-esquelética e retro-ocular, prurido e exantema maculopapular generalizado. Retornou à Europa com 28 semanas de gestação, com ultrassonografia realizada uma semana depois que identificou os primeiros sinais de anomalias fetais. Ultrassonografia de 32 semanas confirmou restrição de crescimento fetal, circunferência cefálica abaixo do segundo percentil, moderada ventriculomegalia e diâmetro transcerebelar abaixo do segundo

percentil e calcificações cerebrais, sem nenhuma outra alteração nas outras partes do corpo. A gestante solicitou que a gestação fosse interrompida, o que aconteceu na 32ª semana<sup>16</sup>.

Na imunofluorescência, a aparência morfológica das calcificações indicava uma possível localização do vírus em neurônios. Na microscopia, os dados também eram consistentes com detecção do ZIKV no cérebro fetal. Densas partículas do vírus foram vistas no retículo endoplasmático danificado. Grupos de estruturas envelopadas com o interior brilhante assemelhavam-se a restos de complexos de replicação característicos de flavivírus. Microscopia eletrônica sugeriu possível persistência do ZIKV no cérebro, possivelmente por ser um ambiente imunologicamente seguro para o vírus<sup>16</sup>.

Em junho de 2016, Calvet et al conseguiram sequenciar o genoma completo do ZIKV no líquido amniótico do caso 2<sup>14</sup>, que apresentava alta carga viral, demonstrando uma semelhança com o vírus que tinha circulado na Ásia, porém diferente do vírus originário da África<sup>15</sup>.

Estudo publicado em dezembro de 2016 cunhou o termo SCZ em substituição à microcefalia, uma vez que a doença era bem mais abrangente e apesar de a microcefalia ser o principal sinal da doença, nem sempre estava presente<sup>16</sup>. No mesmo período foram publicados os resultados de caso-controle realizado em Pernambuco confirmando a associação entre a microcefalia e o Zika vírus<sup>17</sup>.

Em paralelo a esses acontecimentos, as autoridades de saúde da Polinésia Francesa, após o alerta emitido pelo Brasil, realizaram estudo retrospectivo e relataram um aumento incomum de malformações do sistema nervoso central em fetos e recém-nascidos durante 2014-2015, coincidindo com os surtos de ZIKV nas ilhas. Dentre 17 malformações registradas, 12 foram malformações cerebrais fetais ou síndromes polimalformativas, incluindo lesões cerebrais, e cinco foram disfunção do tronco encefálico e ausência de deglutição. Nenhuma das mulheres grávidas tinham apresentado sinais clínicos de ZIKV, mas

quatro mulheres testadas foram positivas de acordo com ensaios sorológicos para flavovírus IgG, o que sugere uma possível infecção assintomática do vírus<sup>18</sup>.

Com base na correlação temporal desses casos com a epidemia de Zika, as autoridades de saúde da Polinésia Francesa levantaram a hipótese de que a infecção por ZIKV pode ser associada com anormalidades no caso de as mães serem infectadas durante o primeiro ou segundo trimestre de gravidez<sup>19</sup>.

Além da microcefalia, diversos estudos foram publicados demonstrando associação da infecção por ZIKV com outros desfechos neonatais negativos, como outras malformações do sistema nervoso central, artrogripose, alterações auditivas e visuais, convulsões neonatais, atraso do desenvolvimento neuropsicomotor<sup>20</sup> e sequelas diversas nos primeiros anos de vida. No entanto, as repercussões da infecção por ZIKV, suas prováveis complicações e sequelas para o feto e o neonato precisam ser devidamente investigadas para que medidas efetivas sejam adotadas. Entretanto, fica claro que não se pode mais falar somente em microcefalia, mas sim em uma síndrome de infecção congênita por Zika, ou síndrome de Zika congênita (SCZ)<sup>21,22</sup>.

O último boletim epidemiológico divulgado em março de 2019 pelo Ministério da Saúde do Brasil indicava um total de 17.041 casos suspeitos desde o início das investigações, em outubro de 2015, sendo que 7.835 foram descartados. Confirmaram-se 3.332 casos de microcefalia e outras alterações do sistema nervoso sugestivas de infecção congênita e outros 2.612 estão em fase de investigação. Do total de casos confirmados, 2.122 estão na região Nordeste. A Paraíba é o quarto estado com maior número de casos confirmados (1137 casos suspeitos notificados, com 212 casos em investigação, 198 confirmados, 11 casos prováveis, 576 descartados, um inconclusivo e 139 excluídos)<sup>23</sup>.

## **Infeções virais e microcefalia**

A associação entre infecções virais, microcefalia e malformações fetais tem sido objetivo de vários estudos. Em relação ao acometimento fetal, ainda existem dúvidas em relação à passagem transplacentária e à duração da viremia fetal. Depois da epidemia em 1964, o vírus da rubéola foi isolado na faringe, no líquido amniótico, na placenta e em outros tecidos relacionados aos fetos infectados, concluindo-se que a doença não se tratava de manifestação aguda isolada, mas de infecção persistente meses após o nascimento<sup>24</sup>. Os fetos com menos de doze semanas de idade gestacional mostraram-se mais susceptíveis, enquanto que as infecções contraídas durante o segundo trimestre apontaram maior tenacidade. Quando a infecção ocorre nas primeiras cinco semanas de gestação, há relato de catarata congênita, persistência do canal arterial, microcefalia e retardo mental, além de outras malformações menos frequentes, como hipospádia, microftalmia, lesão de retina, equinovaro, fenda palatina, anormalidades dentárias e diplegia. Considerando o sistema nervoso, as manifestações mais comuns incluem microcefalia, retardo mental, hidrocefalia e meningoencefalite<sup>25</sup>.

O citomegalovírus, por sua vez, é um vírus de DNA envelopado, que parece ter diferentes variantes genômicas infectando os pacientes<sup>26</sup>. Quando adquirido nas primeiras 20 semanas de gestação, é considerado grave e apresenta como manifestação mais frequente a microcefalia. Outros sintomas podem ser menos óbvios do que aqueles encontrados na rubéola, incluindo hepatoesplenomegalia, petéquias, calcificações intracerebrais periventriculares, danos motores e retardo mental<sup>24,26,27</sup>.

Nas duas infecções anteriores, os principais danos são cerebrais com diâmetro cefálico reduzido, sem provas de restabelecimento de função após alguns anos da infecção, mesmo em casos leves e moderados<sup>28</sup>. Outras alterações neurológicas, como anencefalia e retardo mental foram encontradas em vítimas de infecção por herpes vírus, coxsackie e influenza<sup>20</sup>.

Além das infecções por citomegalovírus e rubéola, pesquisas com animais, realizadas na Austrália, demonstraram infecções pelo vírus Akabane levando a artrogripose, hidranencefalia e microcefalia. O Akabane é da família Bunyaviridae dos Arbovírus e seus vetores são o *Aedes vexans* e o *Culex tritaeniorhynchus*. Os defeitos relacionados incluem redução de tamanho do encéfalo, bulbo e cerebelo. Histopatologicamente, as meninges fundidas apresentaram áreas de necrose, além de redução da mielina nas fibras e de neurônios do corno ventral, com pequenas áreas de cavitação. As alterações observadas mostraram associação com a idade gestacional na época da infecção, 30 a 36 dias, com variedade de modificações combinadas a dificuldade imunológica de resposta. Dois picos séricos de anticorpos neutralizadores deste vírus foram detectados, com cinco dias e quatro semanas da infecção<sup>29</sup>. O *Aedes* e o *Anopheles* são vetores para dois vírus do gênero dos bunyavírus (Cache Vírus e Tensaw vírus) encontrados na América do Norte e México. O Tensaw vírus é agente etiológico de micro e macrocefalia, enquanto o Cache vem sendo relacionado apenas com casos de macrocefalia<sup>25</sup>.

Uma revisão sistemática publicada em 2015 demonstrou o desafio que é o reconhecimento de casos com associação estabelecida entre a infecção viral e as manifestações clínicas e aqueles em que a exposição não determina o desenvolvimento da doença. Nesse estudo, a microcefalia foi evidenciada em bovinos infectados pelo vírus da diarreia bovina, Schmallenberg, o vírus da língua azul, Akabane e Aino. Nos casos de infecção pelo vírus da diarreia bovina, foram observados abortos em decorrência da infecção nos primeiros seis meses e efeitos teratogênicos entre 79 a 150 dias de gestação, afetando, principalmente, sistema nervoso central. Esse vírus destrói os neurônios e as células da glia, ainda imaturos, induzindo à destruição do parênquima, o que leva a formação de cavitações, porencefalia e hidranencefalia, também afetando cerebelo. A hipoplasia cerebelar foi a principal alteração encontrada nestes casos<sup>30</sup>.

Esse mesmo padrão de lesões foi visto em um estudo realizado em Mazandaran, uma província do Iran, em 2012 e 2013. Foram estudados abortos de 793 ovelhas e evidenciou-se a possibilidade de associação com qualquer infecção viral ou, especialmente, por estirpes Bunyavirus e Flavivírus que, extensivamente, compartilham lesões comuns com Cache Vírus e Akabane<sup>31</sup>. A família Flaviviridae, à qual pertence o vírus da diarreia bovina, engloba cerca de 70 tipos de vírus, dos quais aproximadamente 40 são responsáveis por doenças que acometem humanos. Outro membro dessa família é o Vírus da Febre do Nilo, transmitido pelo mosquito *Culex*, que pode levar a quadros neurológicos como encefalite, meningite e paralisia flácida aguda<sup>32</sup>.

Um estudo transversal desenvolvido na França, entre 2005 e 2006, com 1.400 gestantes, sendo 628 não infectadas e 658 infectadas pelo CHIKV, 27 antes de engravidar e 87 em data desconhecida, indicou índices de prematuros, malformações, hemorragias, natimortos e peso ao nascer semelhantes entre os grupos<sup>8</sup>. Contrariamente, um estudo de coorte francês recentemente comparou neurocognição em 33 crianças, cujas mães foram confirmadamente infectadas pelo CHIKV no período perinatal, com 135 não infectadas e relatou atrasos cognitivos específicos na coordenação, linguagem, sociabilidade e movimento/postura, avaliados pela escala de desenvolvimento psicomotor de Brunet-Lezine. Dos doze casos de encefalopatia neonatal pelo vírus, cinco desenvolveram microcefalia<sup>28</sup>.

A CHIKV apresenta como vetor o mosquito da espécie *Aedes aegypti*, que também transmite DENV e ZIKV, considerados problemas de saúde pública atuais. No Brasil, foi comprovada a circulação do ZIKV em 2014 e em 2015, com presença de sintomas<sup>33</sup>.

A hipótese mais plausível de patogênese das complicações neurológicas relacionadas ao ZIKV sugere que a colonização placentária e a lesão após a infecção materna levam à transmissão do vírus ao cérebro fetal, onde o ZIKV infecta preferencialmente as células progenitoras neurais<sup>4</sup>. Como resultado, esse arbovírus interrompe o crescimento, a migração,

a proliferação e a diferenciação neuronal, causando, desse modo, afinamento do córtex, sinais macroscópicos da microcefalia e comprometimento do desenvolvimento normal do cérebro no feto. Essa hipótese também aventa a possibilidade de que o processo inflamatório placentário contribua para o desenvolvimento das complicações neurológicas mencionadas<sup>34</sup>.

Diversas consequências neonatais podem ser observadas em virtude de um agravo no período fetal, o qual é crítico para o desenvolvimento de órgãos e tecidos. Piores condições de crescimento fetal estão associadas com primiparidade, baixo índice de massa corpórea, tabagismo materno e doenças como pré-eclâmpsia<sup>35</sup>. Tamanho e proporções corporais do feto podem ainda ser influenciados por variação genética e resposta individual, quando o feto é submetido a uma situação adversa durante uma “janela de oportunidade” para o crescimento<sup>35.36</sup>.

Agravos que comprometem a qualidade de vida do concepto podem resultar em alteração da estrutura ou da função de órgãos fetais. Dentre as estruturas atingidas, o cérebro também pode ser alvo, com alteração no tamanho ou na formação. A redução no tamanho do cérebro é manifestada através da redução do perímetro cefálico, condição conhecida como microcefalia<sup>35.37</sup>. A definição mais comum para microcefalia é a de perímetro cefálico abaixo de dois desvios-padrão quando comparado com população de mesma idade, gênero e idade gestacional, sendo o termo microcefalia grave utilizado para mais de três intervalos de diferença de acordo com o Intergrowth<sup>36</sup>. A microcefalia que ocorre antes e após o nascimento é denominada primária e secundária, respectivamente<sup>38</sup>.

Causas infecciosas para a gênese da microcefalia primária são estudadas há algum tempo, tanto em animais quanto em humanos<sup>20,25</sup>. No entanto, o conceito que indica as infecções virais como as principais responsáveis por malformações fetais não é ratificado pelos testes virológicos, que falham ao apontar os vírus como importantes agentes etiológicos da condição, com exceção da rubéola e da citomegalovírus, para as quais existem resultados

conclusivos. É importante salientar que os processos infecciosos podem ter consequências mínimas para as mães e catastróficas, paradoxalmente, para o feto<sup>25,27</sup>.

A “sequência de ruptura cerebral” caracterizada por microcefalia grave, suturas sobrepostas, proeminência do osso occipital e excesso de couro cabeludo foi descrita nos casos de microcefalia associada ao Zika. Uma das explicações seria a destruição cerebral parcial com consequente redução da pressão hidrostática intracraniana e subsequente colapso do crânio fetal<sup>39</sup>. Além disso, estudos realizados com modelos animais sugerem que o vírus causa infecção placentária persistente que leva à vasculite uterina e placentária levando a uma diminuição da permeabilidade ao oxigênio das vilosidades placentárias<sup>40</sup>.

### **Síndrome de Zika Congênita: desfechos gestacionais e perinatais**

Em relação ao diagnóstico da SCZ, podemos dividir em casos confirmados, quando o teste RT-PCR é positivo, suspeito nos casos de sorologia positiva e casos presumidos de acordo com os achados de neuroimagem. A presença de calcificações subcorticais e/ou em núcleos da base associadas com algum grau de atraso no desenvolvimento cortical, variando de simplificação giral a agiria, só foi descrita até o momento nos casos de infecção por Zika vírus<sup>29</sup>.

Algumas coortes envolvendo gestantes sintomáticas foram realizadas na América Latina, nos territórios franceses nas Américas, nos Estados Unidos e na Espanha. O estudo da Espanha envolveu 72 grávidas com sintomas de Zika, sendo 10 casos confirmados através de RT-PCR, com três desfechos indesejáveis: um aborto e dois fetos com SZC<sup>41</sup>. A coorte do México avaliou 103 gestantes com sintomas de Zika, com 25 casos apresentando RT-PCR positiva, sem nenhum desfecho desfavorável<sup>42</sup>.

Uma coorte envolvendo gestantes colombianas (80) e americanas (duas) avaliou achados pós-natais de 53 crianças através de ressonância magnética, com sete (13%)

apresentando alterações leves. Ultrassonografia transfontanela foi realizada em 57 neonatos, com 37% apresentando alterações cisto de plexo coroide, cisto subependimario e/ou calcificações<sup>43</sup>.

Uma outra coorte colombiana seguiu 86 gestantes com Zika confirmada através de RT-PCR, sendo microcefalia observada em 2,4% dos recém-nascidos, entretanto nenhuma outra alteração do sistema nervoso foi detectada, incluindo calcificações. Um recém-nascido apresentou fenda palatina e outro, ectopia renal bilateral<sup>44</sup>. Um terceiro estudo realizado na Colômbia envolveu 214 gestantes com sintomas de Zika, com 12 gestantes apresentando confirmação laboratorial, com os fetos apresentando malformações fetais; redução do volume (92%), calcificações (92%), anormalidades de corpo caloso (100%), alterações no desenvolvimento cortical (89%), ventriculomegalia (92%) e microcefalia (78%)<sup>45</sup>.

Na Guiana Francesa, 300 gestantes foram seguidas prospectivamente, sendo a transmissão fetal documentada em 26% da amostra, complicações ao nascer em 45%, sinais de SCZ em 21% e perda fetal em 14%<sup>46</sup>. Outro estudo realizado nos territórios franceses nas Américas acompanhou 546 gestantes com sintomas de Zika, sendo microcefalia detectada em 32 fetos e crianças (5,8%)<sup>47</sup>.

A primeira coorte brasileira com resultados publicados foi realizada no Rio de Janeiro. O estudo avaliou 345 gestantes com sintomas de Zika, sendo o diagnóstico laboratorial positivo para o Zika em 182 mulheres (53%). Microcefalia foi observada em quatro crianças<sup>48</sup>.

Todavia, muitas perguntas persistem sem respostas, porquanto pouco se conhece sobre o impacto da infecção materna por Zika vírus e a magnitude das complicações relacionadas tanto durante a gravidez como na vida pós-natal. Embora diversos estudos tenham sido publicados sobre o impacto da infecção por Zika vírus na gravidez, há muito pouco descrito sobre os efeitos da infecção por Zika na evolução da gestação e em relação aos desfechos

perinatais muito mais ênfase tem sido dada à presença de malformações do que às complicações neonatais propriamente ditas.

Um estudo publicado no JAMA avaliou 92 pares de mulheres e seus conceptos e procurou testar a associação entre desfechos neonatais adversos e achados ultrassonográficos anormais. Encontrou uma mediana de idade gestacional no parto de 38,6 semanas e o grupo com achados ultrassonográficos anormais teve risco maior de admissão em UTI neonatal (31% vs. 13%). A frequência de desfecho neonatal composto adverso foi 49%, sendo mais frequente no grupo com ultrassonografia anormal (OR ajustada =20,5). Houve dois casos de morte perinatal<sup>49</sup>.

Diante do exposto, o objetivo do estudo é descrever os desfechos gestacionais e perinatais dos casos de Síndrome de Zika Congênita acompanhados em um serviço de referência do Nordeste do Brasil.

## II. OBJETIVOS

### 2.1. OBJETIVO GERAL

Descrever os desfechos gestacionais e perinatais dos casos de síndrome de Zika congênita acompanhados em um serviço de referência do Nordeste do Brasil

### 2.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

*Em uma coorte de mulheres grávidas com síndrome de Zika congênita presumida ou confirmada*

1. Descrever as características biológicas (idade, altura, peso materno, estado nutricional), sociodemográficas (cor, procedência, anos de estudo, ocupação – trabalho remunerado, companheiro, renda per capita, contato com o *Aedes aegypti*, logradouro, etilismo, tabagismo), obstétricas (número de gestações, paridade, idade gestacional no parto, prematuridade, indicação de antecipação de parto, motivo da antecipação de parto), da assistência pré-natal (realização de pré-natal e número de consultas) e pertinentes à infecção por Zika vírus (conhecia a Zika antes da gravidez, havia focos de mosquito no domicílio ou próximo da área de trabalho, uso do repelente, sintomas de Zika, trimestre dos sintomas, amniocentese).
2. Determinar a frequência de exantema e com que idade gestacional ocorreu.
3. Determinar a frequência dos casos de síndrome de Zika congênita presumida vs. confirmada.
4. Determinar a frequência dos casos com diagnóstico confirmado intrauterino.

5. Descrever os desfechos gestacionais: restrição do crescimento fetal, complicações gestacionais (síndromes hipertensivas, hemorragia, infecção urinária, trabalho de parto prematuro, encurtamento cervical, polidrâmnio, oligo-hidrâmnio), número de ultrassonografias realizadas, realização de amniocentese, resultado da RT-PCR, idade gestacional no parto, óbito fetal e tipo de nascimento (normal ou cesariana).
6. Descrever os desfechos perinatais: nascido vivo ou natimorto, sexo, comprimento ao nascer, classificação do comprimento, peso ao nascer, adequação do peso para a idade gestacional, perímetro cefálico, frequência de microcefalia, classificação da microcefalia ao nascer, acinesia fetal-artrogripose, malformações associadas, escores de Apgar, necessidade de reanimação neonatal, admissão em UTI neonatal, complicações neonatais, permanência hospitalar em dias, morte neonatal precoce, condições de egresso (alta ou óbito).
7. Descrever os achados de imagem fetal: calcificações subcorticais, calcificações em núcleos da base, calcificações do cerebelo, atraso no desenvolvimento cortical, ventriculomegalia, disgenesia de corpo caloso, alterações de fossa posterior (hipoplasia de cerebelo e do vermis cerebelar, megacisterna magna)

### III. MÉTODOS

#### 3.1. Desenho do estudo

Estudo de coorte prospectivo e retrospectivo de gestantes expostas ao Zika vírus cujos fetos apresentavam achados compatíveis com SCZ (braço prospectivo) e crianças com SCZ (braço retrospectivo).

Este estudo faz parte de um amplo estudo epidemiológico intitulado “Associação entre Infecção Viral por Zika na Gravidez e Infecção Congênita em Campina Grande-Paraíba” (ANEXO 1), incluído por sua vez no estudo “Epidemiologia e Vigilância da Síndrome de Zika Congênita em Campina Grande”, projeto aprovado pelo Edital Zika nº 14/2016 e processo de número 440488/2016-8 (ANEXO 2).

O grande projeto âncora foi desenvolvido em parceria do Instituto Paraibano de Pesquisa Professor Joaquim Amorim Neto (IPESQ) com o Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira (IMIP) (ANEXO 3).

#### 3.2. Local do estudo

Ambulatório especializado em arboviroses do Instituto de Pesquisa Professor Joaquim Amorim Neto (IPESQ), na cidade de Campina Grande. O ambulatório é referência no Nordeste do Brasil em atendimentos e acompanhamento de Crianças com SCZ. Os exames laboratoriais foram realizados na Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande. Atualmente atende cerca de 130 crianças de sete estados brasileiros.

#### 3.3. Período de coleta de dados

O estudo foi realizado no período entre outubro de 2015 e dezembro de 2017.

### 3.4. População do estudo

Gestantes expostas ao Zika vírus cujos fetos e/ou crianças apresentavam achados compatíveis com SCZ.

### 3.5. Amostra

A amostra foi obtida por conveniência de maneira consecutiva e não probabilística, envolvendo as gestantes assistidas em Centro Especializado (IPESQ) e os recém-nascidos dessas mulheres já incluídas no estudo, além de mulheres cujos filhos são portadores de SCZ que chegaram ao serviço após o parto.

### 3.6. Critérios e procedimentos para seleção das participantes.

#### 3.6.1. Critérios de Seleção

##### 3.6.1.1. Critérios de Inclusão

- ✓ Gestação tópica (intrauterina);
- ✓ Encaminhamento por exantema ou achados ultrassonográficos característicos para o serviço de referência (braço prospectivo);
- ✓ Diagnóstico de SCZ confirmado através de RT-PCR, ou diagnóstico presumido a partir de ultrassonografia obstétrica (neurosonografia fetal) e/ou tomografia computadorizada realizada no período neonatal com achados característicos.

##### 3.6.1.2. Critérios de Exclusão

- ✓ Perda do seguimento por mudança ou não comparecimento às consultas;
- ✓ Não conseguir recuperar dados do prontuário.

### 3.6.2. Procedimentos para captação dos dados e acompanhamento das participantes

No braço prospectivo as gestantes foram atendidas no IPESQ por equipe transdisciplinar composta por obstetra, especialista em medicina fetal, virologistas, enfermeira e psicóloga. O acompanhamento pré-natal foi realizado na atenção básica obedecendo à rotina pré-natal preconizada pelo Ministério da Saúde para assistência pré-natal<sup>40</sup>. Foi coletada urina e/ou sangue materno para pesquisa de arboviroses, sendo realizadas ao menos duas ultrassonografias: a primeira entre 20 e 24 semanas e uma segunda entre 28 e 32 semanas.

Em todos os casos era aplicada uma lista de checagem (Apêndice 1) para verificação dos critérios de inclusão e exclusão das participantes na pesquisa. Todas as pacientes novas incluídas no estudo foram informadas em detalhes sobre a pesquisa e convocadas a participar, sendo solicitada a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE para sua inclusão (Apêndice 2). bem como a assinatura do Termo de Assentimento Livre e Esclarecido – TALE (Apêndice 3).

Em seguida, era preenchido o formulário de coleta de dados (Apêndice 4).

Em casos de achados ultrassonográficos suspeitos foi realizada amniocentese guiada por ultrassonografia para pesquisa do Zika Vírus no líquido amniótico. Foram coletados ainda fragmentos de placenta e sangue do cordão umbilical logo após o parto para análise de arboviroses. Todas as mulheres foram acompanhadas até o final da gravidez e os bebês até o egresso hospitalar, quando então foram encaminhados para seguimento no IPESQ.

O braço retrospectivo foi realizado no IPESQ no setor de atenção à criança com Zika Congênita e incluiu mulheres cujas crianças não tinham diagnóstico confirmado de SCZ através de RT-PCR, mas que apresentaram achados radiológicos (tomografia computadorizada e/ou ressonância magnética) típicos de infecção por Zika vírus, sendo então as crianças classificadas como SCZ presumida. Foram considerados achados típicos de SCZ a

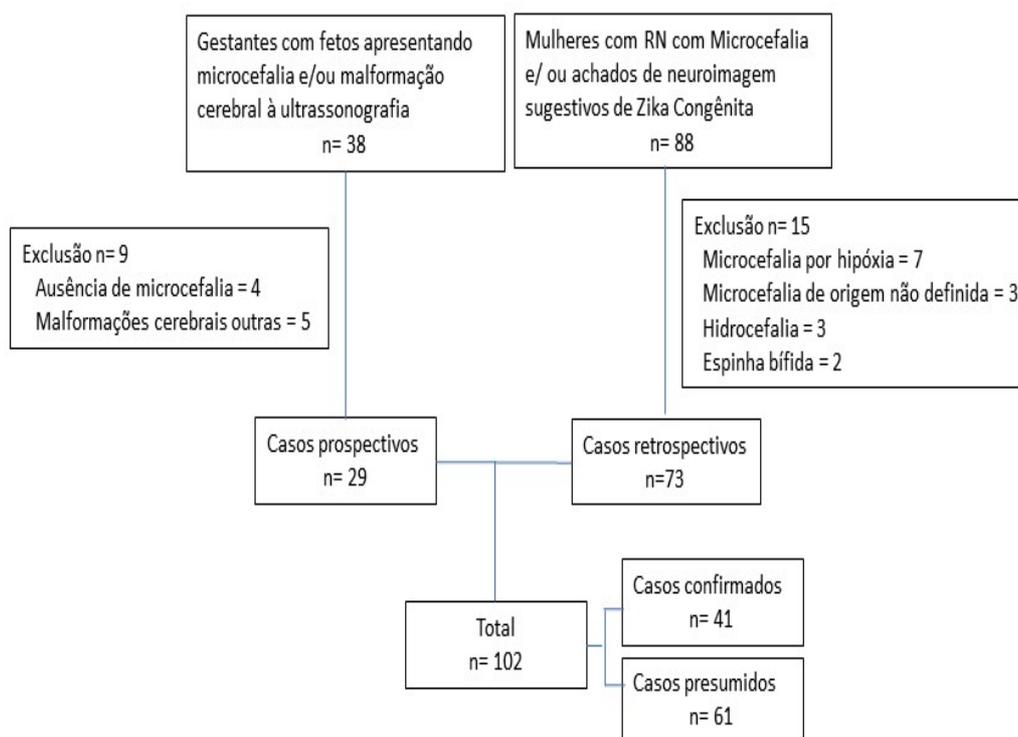
presença de calcificações subcorticais e/ou em núcleos da base associadas a algum grau de alterações no desenvolvimento cortical<sup>50</sup>. Até o momento esses achados só foram descritos em portadores de SCZ<sup>51</sup>.

Todas as mulheres foram convidadas a participar da pesquisa, assinando também o termo de consentimento livre e esclarecido. Sangue e urina da mãe e da criança foram coletados e dados referentes à gravidez e parto foram obtidos a partir do cartão pré-natal e da criança, os prontuários dos pacientes também foram consultados para elucidação de dúvidas sobre as variáveis de análise.

Todos os fetos/crianças foram submetidos a pelo menos um método de neuroimagem, incluindo neurossonografia, tomografia computadorizada ou ressonância magnética. Uma equipe formada por especialistas de medicina fetal e radiologistas especialistas em neuroimagem avaliaram achados radiológicos com o intuito de detectar os sinais radiológicos da SCZ.

Foram aplicados questionários nos dois braços da pesquisa objetivando coletar os dados sociodemográficos, morbidades, características biológicas e bioquímicas.

### 3.7. Fluxograma de captação dos participantes



**Figura 1.** Fluxograma de captação das participantes

### **3.8. Variáveis de análise**

#### **3.8.1. Variáveis Descritivas**

#### **3.8.2. Variáveis Biológicas**

- ✓ Idade;
- ✓ Cor/Raça;
- ✓ Altura;
- ✓ Peso;
- ✓ Índice de Massa Corpórea (IMC).

#### **3.8.3 Variáveis Sociodemográficas**

- ✓ Procedência;
- ✓ Estado conjugal;
- ✓ Escolaridade;
- ✓ Trabalho remunerado;
- ✓ Renda Familiar *per capita*.

#### **3.8.4 Hábitos**

- ✓ Consumo de Álcool;
- ✓ Consumo de Tabaco;
- ✓ Outras Drogas.

#### **3.8.5 Variáveis Obstétricas e de Infecção pelo Zika vírus**

- ✓ Idade Gestacional;

- ✓ Número de Gestações;
- ✓ Número de Partos;
- ✓ Número de Abortos;
- ✓ Idade gestacional na primeira consulta de pré-natal;
- ✓ Número de consultas de pré-natal;
- ✓ Local do pré-natal;
- ✓ Morbidade na gestação;
- ✓ Orientação pré-natal contra o mosquito;
- ✓ Uso de repelente na gravidez;
- ✓ Sintomas do ZIKV;
- ✓ Trimestre dos sintomas do ZIKV;
- ✓ Doença febril provocada pelo ZIKV em sangue materno.
- ✓ Conhecimento anterior do ZIKV;
- ✓ Diagnóstico materno e intrauterino de Zika das pacientes;
- ✓ Óbito fetal;
- ✓ Amniocentese.

### **3.8.6 Desfechos gestacionais e perinatais**

- ✓ Tipo de parto;
- ✓ Idade gestacional ao nascer;
- ✓ Prematuridade;
- ✓ Indicação de antecipação do parto.
- ✓ Motivo da antecipação do parto;
- ✓ Nascido vivo;
- ✓ Sexo;

- ✓ Comprimento ao nascer;
- ✓ Peso ao nascer;
- ✓ Perímetro Cefálico ao Nascer;
- ✓ Microcefalia ao nascer;
- ✓ Classificação da microcefalia ao nascer;
- ✓ Acinesia fetal/Artrogripose;
- ✓ Malformações associadas;
- ✓ Complicações neonatais;
- ✓ Admissão em Unidade de Terapia Intensiva (UTI) neonatal;
- ✓ Escores de Apgar no primeiro e quinto minutos;
- ✓ Permanência hospitalar em dias;
- ✓ Condições de egresso (alta ou óbito);

### **3.8.7. Variáveis ultrassonográficas**

- ✓ Calcificações subcorticais
- ✓ Calcificações em núcleos da base
- ✓ Calcificações do cerebelo
- ✓ Atraso no desenvolvimento cortical
- ✓ Ventriculomegalia
- ✓ Disgenesia de corpo caloso
- ✓ Alterações de fossa posterior (hipoplasia de cerebelo e do vermis cerebelar, mega cisterna magna)

## **3.9. Definição de termos, critérios e variáveis**

### **3.9.1. Definição dos Critérios de Inclusão**

- ✓ Gestação tópica (intrauterina): gestação confirmada no interior da cavidade uterina, através de ultrassonografia.
- ✓ Encaminhamento por exantema ou achados ultrassonográficos característicos para o serviço de referência (braço prospectivo):
  - Presença de exantema por relato da gestante ou avaliação de profissional de saúde (médico, enfermeiro, técnico em enfermagem) ou achados ultrassonográficos suspeitos em exame pré-natal, quais sejam: achado ultrassonográfico de feto com circunferência craniana aferida menor que dois desvios padrões abaixo da média para a idade gestacional acompanhada ou não de outras alterações do SNC, excluídas outras possíveis causas infecciosas e não infecciosas ou com diagnóstico laboratorial conclusivo para vírus Zika, achado ultrassonográfico de feto com alteração no Sistema Nervoso Central sugestivo de infecção congênita, com relato de exantema na mãe durante a gestação, excluídas outras possíveis causas infecciosas e não infecciosas ou com diagnóstico laboratorial conclusivo para vírus Zika (MS,2015)
- ✓ Diagnóstico de SCZ confirmado através de RT-PCR, ou diagnóstico presumido a partir de ultrassonografia obstétrica (neurosonografia fetal) e/ou tomografia computadorizada realizada no período neonatal com achados característicos:
  - SCZ confirmada: RT-PCR positiva para Zika Vírus no líquido amniótico, no sangue ou na urina do conceito;
  - Achados neurosonográficos e/ou tomográficos característicos:
    - Calcificações subcorticais;
    - Calcificações em núcleos da base;
    - Alterações no desenvolvimento cortical;

### 3.9.3. Definição dos Critérios de Exclusão

- ✓ Pacientes com prontuário com dados inconsistentes ou incompletos – ausência das informações de interesse nos prontuários.

### 3.9.4. Definição das variáveis do estudo

- ✓ Idade: expressa em anos completos, conforme informação da paciente, durante a avaliação, ou através de um documento de identificação. Variável numérica, discreta,
- ✓ Altura: altura do paciente em centímetros. Variável numérica.
- ✓ Peso: medida estimada em quilogramas no momento da avaliação da paciente. variável numérica.
- ✓ Índice de massa corpórea (IMC): índice utilizado para avaliação do nível de gordura do indivíduo. É determinado pela razão do peso (kg) pelo quadrado da estatura (m). Variável numérica, contínua.
- ✓ Cor/Raça: registrado o dado que se encontrava no prontuário. Foi classificada em branca, parda, negra, amarela ou outras .Variável categórica e policotômica.
- ✓ Procedência: refere-se ao local de origem da paciente, de acordo com a informação do prontuário ou da paciente. Categorizada em “Campina Grande, Região Metropolitana, Outras Regiões”. Variável categórica, policotômica.
- ✓ Nível de Escolaridade: refere-se ao número de anos completos de estudo, baseado na última série concluída. Variável quantitativa, numérica, discreta.
- ✓ Trabalho remunerado: considerado se a paciente trabalhava fora de casa e recebia rendimentos por isso. Em caso de resposta afirmativa, era registrado qual o trabalho

realizado – variável qualitativa nominal. Variável categórica e dicotômica do tipo sim ou não.

- ✓ Estado conjugal: obtida através da resposta da gestante ou da mãe da criança (no caso da coleta de dados retrospectiva) quando questionada se vivia com companheiro no momento da pesquisa. Variável categórica e dicotômica, do tipo sim ou não.
- ✓ Renda Familiar *per capita*: refere-se à renda por pessoa em cada domicílio. Obtida através do somatório da renda individual dos moradores do mesmo domicílio dividido pelo número dos mesmos. Variável numérica e contínua.
- ✓ Contato com o *Aedes aegypti*: refere-se ao toque, convivência, proximidade, influência ou relacionamento, de uma população saudável com a presença e identificação do mosquito *Aedes aegypti* numa determinada área. Variável nominal e dicotômica do tipo sim ou não.
- ✓ Consumo de álcool: questionamento quanto ao hábito de ingerir bebida alcoólica, em qualquer quantidade, durante a gravidez. Variável nominal e dicotômica do tipo sim ou não.
- ✓ Consumo de tabaco: questionamento quanto ao hábito de fumar, em qualquer quantidade, durante a gravidez. Variável nominal e dicotômica do tipo sim ou não.
- ✓ Outras drogas: questionamento quanto ao uso de outras drogas, em qualquer quantidade, durante a gravidez. Variável nominal e dicotômica do tipo sim ou não.
- ✓ Número de Gestações: quantidade de gestações, contando com a atual, apresentada pela paciente. Variável numérica, discreta.
- ✓ Número de Partos: número de nascimentos de conceptos com peso maior ou igual a 500g, por via vaginal ou cesariana, conforme informação da paciente. Variável numérica, discreta.

- ✓ Número de Abortos: quantidade de abortos (perdas gestacionais com conceptos pesando menos de 500g) que a paciente sofreu, de acordo com sua informação. Variável numérica, discreta.
- ✓ Idade gestacional na primeira consulta de pré-natal: idade gestacional em semanas completas no momento da primeira consulta do acompanhamento pré-natal, conforme registrada no cartão de assistência pré-natal. Variável numérica e discreta.
- ✓ Número de consultas de pré-natal: número de consultas de acompanhamento pré-natal até o momento da avaliação, verificada no cartão de assistência pré-natal. Variável numérica e discreta.
- ✓ Idade gestacional ao nascer: medido em semanas completas, decorrido desde a data de início da última menstruação (DUM) ou avaliada por ultrassonografia (USG) de primeiro trimestre quando DUM não conhecida ou não confiável até o momento do parto. Variável numérica e discreta tempo.
- ✓ Tipo de parto: Variável qualitativa e nominal, dicotômica, expressando a via de nascimento, normal ou cesariana.
- ✓ Sexo do recém-nascido: masculino e feminino. Variável nominal e dicotômica.
- ✓ Prematuridade: a Organização Mundial da Saúde (OMS) define como pré-termo toda criança nascida antes de 37 semanas. Sendo assim, inclui todo recém-nascido (RN) vivo com menos de 37 semanas completas de gestação (<259 dias), contadas a partir do primeiro dia do último período menstrual. Quando a DUM não era conhecida, utilizou-se para cálculo da idade gestacional a primeira ultrassonografia (USG), realizada preferentemente no primeiro trimestre de gravidez. Variável nominal e dicotômica do tipo sim ou não.
- ✓ Indicação de antecipação do parto: se houve necessidade de antecipação do parto. Variável categórica e dicotômica do tipo sim ou não.

- ✓ Motivo da antecipação do parto: razão pela qual o profissional de saúde indicou a antecipação do parto. Cada motivo corresponde a uma variável categórica dicotômica do tipo sim ou não,
- ✓ Conhecimento anterior do ZIKV: se a mulher já tinha ouvido falar do ZIKV anteriormente. Variável categórica, do tipo sim ou não.
- ✓ Uso de repelente na gravidez: existe recomendação da Anvisa (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) sobre a utilização de repelentes de uso tópico em pacientes grávidas, aplicado na pele, fazendo parte dos cuidados contra dengue, chikungunya e Zika. A recomendação da Anvisa é clara: não há qualquer impedimento para a utilização desses produtos por mulheres grávidas, desde que os repelentes estejam devidamente registrados na Agência. Foi perguntado às mulheres se tinham usado ou não o repelente conforme as recomendações da ANVISA. Variável categórica, do tipo sim ou não
- ✓ Trimestre dos sintomas do ZIKV: período gestacional da gravidez no qual se manifestaram os sintomas de ZIKV e se expressaram fenômenos clínicos subjetivos em paciente grávida atingida por doença febril provocada pelo ZIKV em sangue materno: primeiro, segundo ou terceiro trimestre da gravidez, conforme informação da gestante, dados do cartão e do prontuário. Variável categórica policotômica.
- ✓ Amniocentese: punção da cavidade amniótica que tem por finalidade a obtenção do líquido amniótico. Variável categórica e dicotômica do tipo sim ou não.
- ✓ Sintomas do ZIKV: manifestações de fenômenos subjetivos (dor, mal-estar etc.) referidas por paciente com diagnóstico de síndrome febril atribuídas à presença de ZIKV e confirmados por exame de laboratório. Variável categórica e dicotômica do tipo sim ou não.

- ✓ Diagnóstico materno de infecção por Zika vírus: casos confirmados por RT-PCR. Variável categórica e dicotômica do tipo sim ou não
- ✓ Diagnóstico intrauterino de ZIKV: casos confirmados por ultrassonografia obstétrica, ressonância magnética fetal e exames laboratoriais, do tipo punção de líquido amniótico. Variável categórica e dicotômica do tipo sim ou não.
- ✓ Número de ultrassonografias realizadas durante a gestação: variável numérica, discreta.
- ✓ Restrição do crescimento fetal: diagnóstico anotado no cartão de pré-natal e no prontuário, confirmado por exames de ultrassonografia obstétrica, referindo-se ao peso fetal abaixo do percentil 10<sup>51</sup>. Variável categórica e dicotômica do tipo sim ou não.

### **Desfechos gestacionais**

- ✓ Complicações gestacionais: comorbidades que acometeram a mulher durante a gravidez (ameaça de abortamento, febre não esclarecida, anemia, infecção urinária, hemorragia, hipertensão gestacional, encurtamento cervical, polidrâmnio, oligohidrâmnio, trabalho de parto prematuro, diabetes clínico, diabetes gestacional, pneumonia, placenta prévia). Cada uma dessas complicações corresponde a uma variável categórica dicotômica do tipo sim ou não.
- ✓ Óbito fetal: morte do concepto intrauterina, confirmada por exame ultrassonográfico. Variável categórica dicotômica (sim ou não).
- ✓ Resultados de RT-PCR: correspondendo a dois resultados, positiva ou negativa. Variável categórica.
- ✓ Idade gestacional no parto: tempo, medido em semanas completas, decorrido desde a data de início da última menstruação (DUM) da paciente até o momento do parto.

Quando a DUM não era conhecida ou confiável a idade gestacional foi avaliada pela ultrassonografia de primeiro trimestre. Variável numérica e discreta.

- ✓ Tipo de nascimento: representando o nascimento por via vaginal ou cesariana. Variável categórica.
- ✓ Nascido vivo: representando um bebê que ao nascimento apresenta sinais de vida. Variável categórica e dicotômica do tipo sim ou não.
- ✓ Sexo: feminino/masculino. Variável categórica e dicotômica.
- ✓ Comprimento ao nascer: estatura do bebê mensurada logo após o nascimento. Variável numérica.
- ✓ Peso ao nascer: definido como a primeira medida de peso do feto ou recém-nascido obtida após o nascimento<sup>36</sup>. Variável numérica contínua expressa em gramas. O peso estimado logo após o nascimento é classificado de acordo com a idade gestacional, como variável categórica policotômica:
  - PIG: peso ao nascer abaixo do percentil 10 para idade gestacional;
  - AIG: peso ao nascer entre o percentil 10 e 90 para idade gestacional;
  - GIG: peso ao nascer acima do percentil 90 para idade gestacional;
- ✓ Perímetro Cefálico ao Nascer: medida da circunferência da cabeça do bebê mensurada logo após o nascimento. Variável quantitativa contínua.
- ✓ Microcefalia ao nascer: foi definida através da circunferência cefálica de acordo com o Intergrowth-21<sup>st</sup> z-scores. Variável categórica e dicotômica do tipo sim ou não. sendo classificada como leve (dois desvios-padrões da média para idade ao nascer e sexo) e grave (três desvios-padrões da média para idade ao nascer e sexo). Variável categórica e dicotômica do tipo microcefalia leve/microcefalia grave.
- ✓ Acinesia fetal/artrogripose: contratura de pelo menos duas ou mais articulações desde o nascimento<sup>29</sup>. Variável categórica e dicotômica do tipo sim e não.

- ✓ Malformações associadas: qualquer outra malformação diagnosticada na criança. Variável categórica dicotômica do tipo sim ou não.
- ✓ Complicações ao nascer: qualquer uma das seguintes complicações (variável categórica dicotômica do tipo sim ou não): febre, convulsões, infecções, icterícia, internação em UTI, apneia, síndrome do desconforto respiratório do RN, necessidade de ventilação mecânica, oxigenoterapia, entre outras, conforme registro em prontuário hospitalar. Cada uma dessas variáveis corresponde a uma variável categórica dicotômica do tipo sim ou não.
- ✓ Admissão em UTI neonatal: variável categórica e dicotômica do tipo sim ou não.
- ✓ Escore de Apgar: método de avaliação sistemática do recém-nascido (RN) realizado logo após do parto, avalia as condições fisiológicas e a capacidade de resposta e serve para identificar aqueles que precisam de reanimação ou cuidados especiais. Avaliado no primeiro e no quinto minuto em uma escala variando de zero a 10. Variável ordinal.
- ✓ Permanência hospitalar em dias: número de dias que a mãe e o bebê permaneceram no hospital desde o dia do parto até a alta. Variável numérica, discreta.
- ✓ Condições da criança no egresso: correspondendo a dois possíveis desfechos, alta ou óbito. Variável categórica.
- ✓ Óbito neonatal precoce: óbito da criança nos primeiros sete dias de vida. Variável categórica e dicotômica do tipo sim ou não.
- ✓ Achados da tomografia computadorizada: descrição dos achados da imagem. Variável categórica e dicotômica do tipo achados típicos de SCZ, sim ou não.
- ✓ Achados da ressonância magnética: achados típicos de SCZ, sim ou não. Variável categórica e dicotômica.
- ✓ Calcificações subcorticais: as calcificações intracranianas são relativamente comuns e podem ser fisiológicas ou associadas a várias doenças do sistema nervoso central

(SNC) como infecções, anomalias congênitas, distúrbios metabólicos ou processos tumorais, entre outras, e são visualizadas nos exames de tomografia computadorizada de crânio (TC) como áreas de alta densidade<sup>52</sup>. Variável categórica e dicotômica do tipo sim ou não.

- ✓ Calcificações em núcleos da base: calcificações intracranianas patológicas associadas com microcefalia e defeitos da organogênese cerebral, com fortes indícios de infecção congênita do sistema nervoso central por agentes virais, de predomínio subcortical<sup>52</sup>. Variável categórica e dicotômica do tipo sim ou não.
- ✓ Calcificações do cerebelo: calcificações comuns em crianças acometidas por ZIKV<sup>29</sup>. Variável categórica e dicotômica do tipo sim ou não.
- ✓ Calcificações do tronco cerebral: calcificações: comuns em crianças acometidas por ZIKV<sup>29</sup>. Variável categórica e dicotômica do tipo sim ou não.
- ✓ Desenvolvimento cortical: anormalidades do desenvolvimento cortical, geralmente com achados de agiria e paquigiria, descritos nos achados da imagem<sup>29,52</sup>. Variável categórica, policotômica.
- ✓ Ventriculomegalia: é uma dilatação dos ventrículos cerebrais de causas variadas, entre elas malformação cerebral, lesão degenerativa ou infecção. Quando mais grave, hipertensiva, chamamos de hidrocefalia<sup>29,52</sup>. Variável categórica e dicotômica do tipo sim ou não.
- ✓ Corpo caloso: é uma estrutura do cérebro localizada na fissura longitudinal que conecta os hemisférios cerebrais direito e esquerdo. É a maior estrutura de substância branca no cérebro. Descrição dos achados da imagem. Pode apresentar hipoplasia, disgenesia e agenesia na microcefalia por ZIKV<sup>29,52</sup>. Cada uma dessas é uma variável categórica dicotômica do tipo sim ou não.

- ✓ Achados cerebelares: o cerebelo é uma massa de matéria nervosa que forma a parte posterior do cérebro do homem e de outros vertebrados, situada anteriormente e acima da medula; dividido em dois hemisférios, é especialmente responsável pela coordenação muscular e pela manutenção do equilíbrio. Pode apresentar disgenesia e calcificações na microcefalia por ZIKV<sup>29,52</sup>. Cada uma dessas é uma variável categórica dicotômica do tipo sim ou não.
- ✓ Vermis cerebelar: localizado na zona medial córtico-medular do **cerebelo**, na região da fossa posterior do crânio. A fissura primária do **vermis** se curva ventrolateralmente para a superfície superior do **cerebelo**, dividindo-o em dois lobos: anterior e posterior, podendo apresentar disgenesia na microcefalia por ZIKV<sup>39,41</sup>. Variável categórica dicotômica – hipoplasia sim ou não.
- ✓ Megacisterna magna: é definida como uma **cisterna magna** maior que 10 mm de diâmetro, sem alterações no verme do cerebelo. Variável categórica e dicotômica do tipo sim ou não.

### 3.10. Procedimentos, testes, técnicas e exames

Os pesquisadores realizaram o registro das informações listadas no formulário/questionário, recorrendo, para tanto, à paciente e/ou buscando nos prontuários, cartões da gestante e serviço de saúde, no caso de necessidade de complementar os dados. Todos os prontuários da pesquisa foram identificados mediante etiquetas ou carimbos específicos.

Após o preenchimento, os formulários foram revisados pelo pesquisador. Posteriormente, os formulários eram armazenados em pastas específicas da pesquisa, antes e depois da digitação e análise, sob responsabilidade do próprio pesquisador.

A avaliação antropométrica foi realizada por antropometristas treinados pela equipe de especialistas do Instituto de Pesquisa Professor Joaquim Amorim Neto (IPESQ). As avaliações foram realizadas conforme a seguinte descrição:

- **Peso e altura**

Para aferição do peso corporal (kg), foi utilizada balança digital com capacidade de até 140 Kg com escala de 100 g. A gestante era avaliada em pé e descalça usando batatas de TNT (Tecido Não Tecido); o avaliador ficava de frente para a avaliada, que deveria subir na plataforma da balança cuidadosamente, colocando um pé de cada vez, posicionando-se no centro da mesma. Foi realizada apenas uma medida.

Para verificação da altura (m), foi utilizado estadiômetro fixo. A medida foi realizada com a gestante em bipedestação, com pés descalços e unidos e braços relaxados ao longo do corpo. A região posterior do calcanhar, cintura pélvica, cintura escapular e região occipital deveriam estar alinhadas e em contato com o instrumento de medida. O avaliador permaneceu em pé, ao lado da gestante.

- ***Acompanhamento pré-natal e assistência ao parto***

No braço prospectivo as mulheres foram atendidas por equipe transdisciplinar composta por obstetra, especialista em medicina fetal, virologistas, enfermeiro e psicóloga. O acompanhamento pré-natal foi realizado na atenção básica obedecendo à rotina pré-natal preconizada pelo Ministério da Saúde para assistência pré-natal<sup>51</sup>.

Coletou-se urina e/ou sangue materno para pesquisa de arboviroses e foram realizadas ao menos duas ultrassonografias: a primeira entre 20 e 24 semanas e uma segunda entre 28 e 32 semanas, utilizando-se aparelho de ultrassonografia Sansung WS80 Elite - Samsung

Medison, Seoul, Republic of Korea). Avaliação neurosonográfica foi realizada por médica especialista em Medicina Fetal através de sonda vaginal (3-10 Mhz).

Em casos de achados ultrassonográficos suspeitos foi realizada amniocentese guiada por ultrassonografia para pesquisa do Zika Vírus no líquido amniótico. Ressonância magnética fetal foi realizada nos casos confirmados em aparelho 1.5-T Espree (Siemens Healthcare).

Foram coletados ainda fragmentos de placenta e sangue do cordão umbilical logo após o parto para análise de arboviroses.

A assistência ao parto na maioria dos casos foi realizada no Instituto de Saúde Elpídio de Almeida (ISEA) seguindo as normas e rotinas da Instituição. Os neonatos também foram assistidos conforme os protocolos assistenciais da Unidade de Neonatologia da instituição e aqueles que tiveram alta foram encaminhados para o seguimento no setor de atenção à criança com Zika Congênita do IPESQ.

- ***Procedimentos para obtenção dos dados no braço retrospectivo***

O braço retrospectivo foi realizado no IPESQ no setor de atenção à criança com Zika Congênita. Sangue e urina da mãe e da criança foram coletados e dados referentes à gravidez e parto foram recuperados a partir do cartão pré-natal e da criança. Também foram procurados e recuperados os prontuários hospitalares para complementação das informações.

Todas as crianças foram submetidas a tomografia computadorizada ou ressonância magnética para estudo de neuroimagem. A tomografia computadorizada (TC) do crânio e cérebro foi realizada em aparelho de 16 canais (Somatom Sensation 16; Siemens Healthcare, Alemanha). A ressonância magnética foi realizada em aparelho 1.5-T Espree (Siemens Healthcare).

Foram ainda aplicados questionários nos dois braços da pesquisa objetivando coletar os dados sociodemográficos, morbidades, características biológicas e bioquímicas.

### **3.11. Critérios para descontinuação do estudo**

Verificadas as condições logísticas e de acessibilidade as fontes da pesquisa, não foram considerados nenhum tipo de critérios para a paralização ou abandono do projeto

### **3.12. Coleta de dados**

#### **3.12.1 Instrumento para coleta de dados**

Para coleta de dados foi utilizado formulário padrão elaborado pela equipe de pesquisadores, pré-codificado para entrada de dados no computador (Apêndice 4).

#### **3.12.2. Procedimentos para coleta de dados**

A coleta de dados foi realizada de segunda à sexta-feira no horário de 7 às 12h, no IPESQ, pela própria pesquisadora e outros participantes da equipe de pesquisa, que se encarregaram de todos os procedimentos mencionados e do preenchimento do formulário de coleta de dados. A equipe foi devidamente treinada para todos os procedimentos envolvidos na coleta de dados. Essa equipe também foi responsável pela aplicação da lista de checagem (Apêndice2) para inclusão das participantes.

### **3.13. Processamento e análise dos dados**

#### **3.13.1. Processamento dos dados**

O Banco de dados específico foi criado no REDCap. Esse banco foi utilizado para análise estatística.

### **3.13.2. Análise dos dados**

A análise estatística foi realizada no Medcalc (Medcalc Software bvba, Ostend, Belgium), versão 18.11.6. Medidas de distribuição de frequência foram obtidas para as variáveis categóricas e medidas de tendência central e dispersão para as variáveis numéricas (média e desvio padrão para variáveis contínuas, mediana e intervalo interquartil para variáveis discretas e ordinais). O teste qui-quadrado de associação foi utilizado para comparar a presença de sintomas entre o braço prospectivo e retrospectivo e o teste de Mann-Whitney foi usado para comparar o número de ultrassonografias obstétricas realizadas quando o diagnóstico intrauterino foi ou não realizado. Foi adotado o nível de significância de 5%.

### **3.14. Aspectos éticos**

Esta pesquisa atende aos requisitos éticos contidos na resolução 466/12 do Conselho Nacional de Pesquisa. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética local, sob C.A.A.E de número 52888616.4.0000.5693(Anexo 1) e somente teve início após sua aprovação.

Os pesquisadores se comprometeram em manter o sigilo e confidencialidade das participantes do estudo.

#### **3.14.1. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

Todas as pacientes ou responsáveis foram devidamente esclarecidos acerca dos objetivos do estudo, bem como dos procedimentos a serem realizados e para aquelas que aceitaram participar, foi solicitada a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido

(Apêndice 2), autorizando sua inclusão na pesquisa, bem como o Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (Apêndice 3).

#### **3.14.2. Conflito de interesses**

Não há conflitos de interesses. Os autores da pesquisa se comprometem a publicar os resultados do estudo em revista médica internacional indexada ao PubMed.

#### **3.15. Financiamento**

Este estudo foi iniciado com recursos próprios, porém recebeu posteriormente financiamento através do Edital nº 14/2016 do CNPQ. A mestranda recebeu uma bolsa por esse mesmo Edital.

## **IV. RESULTADOS**

Os resultados são apresentados em formato de artigo científico, a ser submetido ao periódico *International Journal of Gynaecology and Obstetrics (IJGO)*, indexado ao PubMed com a seguinte qualificação:

**Fator de Impacto (FI): 2,17**

**Qualis Capes 2013-2016 (Medicina II): B1**

As normas de publicação estão disponíveis no Anexo 4

## **Desfechos gestacionais e perinatais dos casos de Síndrome de Zika Congênita acompanhados em um serviço de referência do Nordeste do Brasil**

Marianny Assis, MD<sup>1,2</sup>, Adriana Melo, MD, PhD<sup>1,2,3</sup>; Jousilene de Sales Tavares, PhD<sup>1</sup>, Renato Santana Aguiar, PhD<sup>4</sup>; Bruno Luiz Schamber-Reis, PhD<sup>2</sup>, Amilcar Tanuri, MD, PhD<sup>4</sup>, Melania Maria Ramos Amorim, MD, PhD<sup>1,2,3,5</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Pesquisa Professor Amorim Neto (IPESQ), Campina Grande, Paraíba, Brazil

<sup>2</sup>UNIFACISA, Campina Grande, Paraíba, Brazil

<sup>3</sup>Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campina Grande, Paraíba, Brazil

<sup>4</sup> Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

<sup>5</sup>Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP), Recife, Pernambuco, Brazil

### ***Autor correspondente:***

Adriana Melo

Rua Salvino de Oliveira Neto, 87

58402-040 Campina Grande, Paraíba, Brazil

E-mail: [asomelo@gmail.com](mailto:asomelo@gmail.com)

Telephone: +55 83 3201 0402

**Sinopse:** desfechos perinatais variáveis são observados na Síndrome de Zika Congênita, podendo ocorrer microcefalia e outros achados radiológicos, óbito neonatal e até mesmo ausência de sinais clínicos da doença.

**Tipo de Artigo:** Clinical Article

**Total de Palavras:** 3434

## RESUMO

**Objetivo:** descrever os desfechos gestacionais e perinatais em casos de Síndrome Congênita de Zika Vírus . **Métodos:** realizou-se estudo de coorte prospectivo e retrospectivo envolvendo 102 pares de mães e fetos/crianças com SCZ. Foi realizada pesquisa do Zika Vírus em líquido amniótico, urina e sangue materno, sangue do cordão e fragmento de placenta do recém-nascido. neurosonografia na gestante e tomografia computadorizada neonatal. Analisaram-se características maternas, desfechos gestacionais, achados de neuroimagem e desfechos perinatais. **Resultados:** caracterizou-se uma coorte de mulheres de baixa renda, a maioria atendida no serviço público de saúde. O diagnóstico intrauterino foi realizado em 52,9% e amniocentese foi realizada em 19 gestantes. A mediana de idade gestacional no parto foi 39 semanas, com 15,7% de prematuridade. Infecção urinária foi a morbidade associada mais frequente. A média do perímetro cefálico foi de  $30,0 \pm 2,3$  cm, com 66% dos casos sendo classificados como microcefalia e artrogripose foi observada em 10 casos (9,8%). Não houve óbitos fetais e foram contabilizados nove óbitos neonatais (8,8%). **Conclusão:** apesar de apresentar uma frequência alta, a microcefalia não esteve presente em todos os casos de SCZ, devendo o diagnóstico da síndrome levar em consideração os achados intracranianos. A mortalidade neonatal foi elevada, quase 10%.

**Palavras-chave:** zika vírus, infecção por zika vírus, anormalidades congênicas, gravidez, dano cerebral, microcefalia

## **Introdução**

O Brasil enfrentou no final de 2015 uma situação crítica caracterizada por um aumento alarmante dos casos de microcefalia ao nascer inicialmente descrito no estado de Pernambuco<sup>1</sup>. Ao mesmo tempo, na Paraíba observou-se um aumento dos casos de fetos com danos cerebrais graves, caracterizados por microencefalia, microcefalia, calcificações corticais e em núcleo da base, ventriculomegalia e hipoplasia do vermis cerebelar e do cerebelo, sendo a presença do Zika vírus detectada no líquido amniótico<sup>2,3</sup>. Ainda em 2016, foi descrita a Síndrome de Zika Congênita (SCZ)<sup>4</sup>.

Vários estudos foram publicados em 2016 e 2017 caracterizando a SCZ, descrevendo outros achados como alterações visuais, auditivas, motores, incluindo a artrogripose, digestivas (disfagia), dentre outros<sup>5-9</sup>. Entretanto, vale salientar que a dificuldade do diagnóstico da infecção ainda na gestação também é uma limitação para o entendimento da epidemia e a caracterização completa da síndrome<sup>10</sup>.

Outro aspecto que dificulta o melhor conhecimento da magnitude da doença foi a redução rápida do número de casos<sup>11</sup>. As primeiras epidemias ocorreram na Yap Island em 2007, seguindo-se a Polinésia Francesa, até alcançar o Brasil no final de 2014<sup>3</sup>, outros países das Américas em 2016 e o continente africano em 2018<sup>12</sup>. A maioria dos estudos concentraram-se na descrição dos achados em fetos e nas crianças, sendo relativamente pouco discutidas as implicações da infecção por Zika vírus durante a gravidez<sup>7,8,9</sup>.

O objetivo principal deste estudo é descrever os desfechos gestacionais e perinatais dos casos de síndrome de Zika congênita acompanhados em um serviço de referência do Nordeste do Brasil.

## **Materiais e métodos**

Trata-se de uma coorte prospectiva e retrospectiva de gestantes expostas na epidemia do Zika vírus, cujos fetos apresentavam achados compatíveis com SZC (braço prospectivo) e mulheres cujas crianças com SZC são acompanhadas no Instituto de Pesquisa Professor Joaquim Amorim Neto (IPESQ) (braço retrospectivo), no período entre 2015 e 2017, na cidade de Campina Grande, Paraíba, Brasil. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética sob o número CAAE 52888616.4.0000.5693, e todas as mulheres concordaram em participar e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido.

### *Participantes e acompanhamento*

Nos casos acompanhados prospectivamente, gestantes com suspeita clínica eram encaminhadas ao IPESQ. Coletou-se urina e/ou sangue materno para pesquisa de arbovírus (DENV, CHIK e ZIKA) e foram realizadas pelo menos duas ultrassonografias por especialista em Medicina Fetal: a primeira entre 20 e 24 semanas e uma segunda entre 28 e 34 semanas, utilizando-se aparelho de ultrassonografia Samsung WS80 Elite - Samsung Medison, Seoul, República da Coreia).

Em casos de achados ultrassonográficos suspeitos foi realizada amniocentese para pesquisa do Zika vírus no líquido amniótico. Foram coletados ainda fragmentos de placenta e sangue do cordão umbilical logo após o parto.

O braço retrospectivo foi realizado no IPESQ, que recebeu crianças já com diagnóstico de microcefalia. Sangue e urina da mãe e da criança foram coletados e dados referentes à gravidez e parto foram obtidos do cartão pré-natal e da criança. Prontuários hospitalares também foram consultados.

De acordo com o protocolo da instituição, todas as crianças foram submetidas a tomografia computadorizada (TC) do crânio e cérebro em aparelho de 16 canais (Somatom Sensation 16; Siemens Healthcare, Alemanha) e/ou ressonância magnética (RM) em aparelho 1.5-T Espree (Siemens Healthcare). O exame foi realizado no período neonatal com o objetivo de identificar achados radiológicos típicos da SCZ<sup>13,14</sup>. Todos os fetos/crianças foram submetidos a pelo menos um método de neuroimagem incluindo neurosonografia, TC e/ou RM.

A amostra foi obtida por conveniência de maneira consecutiva e não probabilística, envolvendo as gestantes/fetos assistidas no IPESQ e seus recém-nascidos, além de mulheres cujas crianças eram portadoras de SCZ que chegaram ao serviço. Foi considerado como critério de inclusão: diagnóstico de SCZ confirmado através de RT-PCR ou diagnóstico presumido a partir de neuroimagem.

SZC presumida foi baseada no achado de calcificações localizadas na junção substância branca/cinza e/ou em núcleos da base, associada a algum grau de atraso de desenvolvimento cortical<sup>7,12</sup>.

Microcefalia ao nascer foi definida através da circunferência cefálica de acordo com o Intergrowth-21<sup>st</sup> z-scores, sendo classificada como leve (dois desvios-padrões da média para idade ao nascer e sexo) e grave (três desvios-padrões da média para idade ao nascer e sexo)<sup>13</sup>.

Os dados biológicos, sociodemográficos e obstétricos maternos (idade, peso, altura, presença de companheiro, escolaridade, ocupação, renda familiar *per capita*, cor, procedência, paridade, local de assistência pré-natal, número de consultas, número de ultrassonografias, amniocentese, diagnóstico intrauterino de Zika congênita, tabagismo, etilismo, uso de drogas ilícitas e morbidades) foram coletados através de entrevistas. Os sintomas de ZIKV durante a

gestação (presença e idade gestacional), contato com o *Aedes aegypti* e conhecimento sobre a infecção por Zika vírus também foram coletados através de entrevistas.

Os dados de morbidade materna e nascimento das crianças foram extraídos do cartão de saúde e dos prontuários das mães e das crianças (idade gestacional, peso, perímetro cefálico (PC), escores de Apgar no primeiro e no quinto minuto, necessidade de manobras de ressuscitação, internação em UTI, complicações neonatais e malformações associadas). Também se pesquisou a ocorrência de morte neonatal precoce (até sete dias de vida) e a presença de Síndrome de Acinesia Fetal/Artrogripose.

#### *Análise estatística*

Banco de dados específico foi criado no RedCap. A análise estatística foi realizada no Medcalc (Medcalc Software bvba, Ostend, Belgium), versão 18.11.6. Medidas de distribuição de frequência foram obtidas para as variáveis categóricas e medidas de tendência central e dispersão para as variáveis numéricas (média e desvio-padrão para variáveis contínuas, mediana e intervalo interquartil para variáveis discretas e ordinais). O teste qui-quadrado de associação foi utilizado para comparar a presença de sintomas entre o braço prospectivo e retrospectivo e o teste de Mann-Whitney foi usado para comparar o número de ultrassonografias obstétricas realizadas quando o diagnóstico intrauterino foi ou não realizado. Foi adotado o nível de significância de 5%.

## Resultados

Dentre os casos acompanhados, 28,7% foram acompanhados desde a gravidez (braço prospectivo) e 71,3% iniciaram o seguimento após o nascimento da criança (braço retrospectivo).

Em relação às características biológicas, sociodemográficas e hábitos das mulheres, observou-se que a idade média foi de  $26,5 \pm 6,2$  anos, sendo 5,9% adolescentes. A mediana de número de gestações foi de duas variando de uma a oito, sendo 41,1% primíparas. A média de anos de estudos foi de  $10,3 \pm 3,3$  anos, variando de zero a 18 anos (sete mulheres, 6,9%, com ensino superior completo e duas, 2,0%, sem nenhuma escolaridade), sendo a maioria (75,5%) pardas/negras (Tabela 1).

A maioria das mulheres referiu companheiro presente (69,6%) e eram procedentes de cidades do interior (83,3%), sendo 85% da zona urbana. A renda *per capita* média foi de R\$  $93,9 \pm 0,2$  (variando de 8,8 a 395,7), com 7,8% trabalhando até o momento. (Tabela 1).

Em relação aos hábitos de vida, 4,9% das mulheres referiram etilismo, 1% tabagismo e nenhuma uso de drogas ilícitas. O peso materno médio foi de  $63,8 \pm 12,5$ kg, variando de 35 a 99 quilos e altura de  $1,6 \pm 0,096$ m variando entre 1,3m e 1,7m (Tabela 1).

A maioria recebeu assistência pré-natal em serviço público (89,2%). A média do número de consultas pré-natais foi de oito variando de um a 17. Apenas 2,9 % tinha ouvido falar do Zika vírus antes de engravidar, com 59,8% referindo presença de criadouros do mosquito *Aedes aegypti* nos arredores da residência e 67,6% aludindo contato com o mosquito. Em relação ao uso do repelente, 14,7% referiam o uso. A presença de exantema foi relatada por 90,2% das mulheres, com a média da idade gestacional dos sintomas de  $12 \pm 0,5$  semanas variado de seis a 34 semanas. Não houve diferença na frequência de sintomas

quando comparamos o braço prospectivo com o retrospectivo (89,7% vs. 90,3%,  $p=0,93$ ) (Tabela 2).

Morbidade na gestação foi encontrada em 63,7%, sendo a infecção urinária (27,7%), a anemia (10,8%) e a hipertensão (8,7%) as morbidades mais frequentes. O diagnóstico intrauterino foi realizado em 52,9% através de ultrassonografia obstétrica. A mediana de exames ultrassonográficos foi de três (variando de um a seis) para o grupo que não teve diagnóstico intrauterino vs. quatro (variando de dois a 10) para o grupo que teve diagnóstico,  $p<0,001$ . O diagnóstico materno de Zika foi confirmado através de RT-PCR em 41 casos (40,2%) e presumido em 61 casos (59,8%). Amniocentese foi realizada em 19 gestantes (braço prospectivo), sendo o RT-PCR positiva em 11 casos (57,9%). Nenhum caso de óbito fetal foi observado (Tabela 3).

Dentre os achados ultrassonográficos durante a gestação, ventriculomegalia foi o principal achado (43,1%), seguido por microcefalia (42,2%), calcificações subcorticais e/ou em núcleos da base (30,4%), alterações de fossa posterior (22,5%), artrogripose (7,8%) e disgenesia de corpo caloso (5,9%). Os gráficos da Figura 1 demonstram as diferentes evoluções da circunferência cefálica durante a gestação, iniciando dentro do esperado para a idade gestacional, com casos evoluindo para microcefalia, casos mantendo-se dentro da normalidade, casos evoluindo para microcefalia e depois alcançando perímetro cefálico dentro do normal e até casos que finalizaram com perímetro cefálico aumentado para a idade gestacional (Figura 1)

O parto vaginal foi mais frequente (53,9%), sendo em 16,7% dos casos indicada a antecipação do parto, com a hipertensão sendo a principal indicação. A mediana da idade gestacional ao nascer foi de 39 semanas, variando entre 32 a 42 semanas de gestação, com 15,7% de prematuridade (Tabela 3).

A média do peso ao nascer foi de  $2.721,9 \pm 491,0$  gramas, sendo 9% dos neonatos considerados Pequenos para a Idade Gestacional (PIG) e 2% Grandes para a Idade Gestacional (GIG). A média do comprimento ao nascer foi de  $45,7 \pm 2,9$ cm, sendo 31,3% classificados como baixa estatura e 1% estatura acima do esperado, e a média do perímetro cefálico foi de  $30,0 \pm 2,3$  cm (variando de 23 a 36,5), com 66% sendo classificados como microcefalia. Dos bebês, 51% eram do sexo feminino e 49% do sexo masculino (Tabela 4)

A mediana do escore de Apgar no primeiro minuto foi de oito (variando de um a nove) e de nove (variando de zero a 10) no quinto minuto. Complicações neonatais foram encontradas em 28,4%, sendo o desconforto respiratório observado em 23,3%, com 3,9% dos casos necessitando de manobras de ressuscitação e 15,7% de internação em unidade de terapia intensiva (UTI). Artrogripose foi observada em 10 casos (9,8%) e malformações associadas em 17 casos (16,7%), sendo a criptorquidia a malformação associada mais frequente (64,7%). Foram contabilizados nove óbitos no período neonatal (8,8%), com a média de dias de internação dos recém-nascidos de  $5,5 \pm 5,3$  (Tabela 4).

## **Discussão**

No presente estudo avaliamos uma coorte de mulheres de baixa renda, a maioria atendida no serviço público de saúde, com 53% de diagnóstico intrauterino, sendo a maior parte dos casos de SZV presumida pelos achados ultrassonográficos/tomográficos. A morbidade na gravidez foi alta e encontrou-se elevada frequência de prematuridade e complicações neonatais. Microcefalia esteve presente em 66% dos casos e artrogripose em 10%. Não houve óbitos fetais e ocorreram nove óbitos neonatais (8,8%).

A maioria das mulheres eram pardas, com idade entre 19 e 35 anos, procedentes das periferias da zona urbana de pequenas cidades do interior da Paraíba. Apenas cerca de 7% da

amostra concluiu o ensino superior e a média da renda *per capita* foi baixa. Quase 30% das mulheres, apesar de grávidas ou recentemente paridas estavam sem companheiro. O perfil descrito caracteriza uma população de baixa renda exposta a péssimas condições sanitárias. Achados semelhantes já foram descritos em um estudo realizado em Pernambuco em 2018<sup>15</sup> que evidenciou que o extrato mais alto em relação às condições de vida apresentou a menor taxa de prevalência de microcefalia, concluindo que aqueles que residem em áreas com condições de vida precárias apresentaram maior prevalência de microcefalia<sup>15</sup>. Essa relação também acontece nos casos de dengue, transmitido pelo mesmo vetor, com estudo recente mostrando uma relação direta entre a baixa condição socioeconômica e o aumento de risco da doença<sup>16</sup>. Corroborando esses dados, apenas 10,8% dos nossos casos foram provenientes da clínica privada.

Outro fator preocupante é que a maioria da amostra (cerca de 60%) referiu presença de criadouros próximos às residências e quase 70% das mulheres referiram ter sido picadas pelo mosquito. Sabemos que o período da epidemia de Zika coincidiu com uma longa falta de chuvas em alguns estados da região Nordeste, dentre eles, a Paraíba. Portanto, a interação de fatores sociais, ambientais, sanitários e climáticos podem facilitar a exposição humana a doenças transmitidas pelos mosquitos<sup>16</sup>. Entretanto, outros fatores como predisposição genética, imunidade materna e fetal, cargas virais, dentre outros fatores complexos, devem ser mais bem estudados.

A presença de sintomas, representados pelo exantema, foi bem superior aos relatados nos estudos iniciais que descreveram a infecção por Zika vírus, realizados na Micronésia e Polinésia Francesa<sup>17,18</sup>. Como o exantema pode ser rápido e discreto e como as epidemias ocorreram antes da propagação dos conhecimentos sobre os sintomas da doença, talvez a sintomatologia tenha passado despercebida. Não observamos diferença estatisticamente significativa na frequência de sintomas entre as mulheres acompanhadas desde a gestação ou

que iniciaram o seguimento após o parto. Os nossos resultados não podem ser extrapolados, uma vez que acompanhamos apenas casos de SZC, diferentes dos estudos relatados acima, que consideraram a doença clínica Zika e não apenas aquelas que culminaram em Zika congênita. Uma das justificativas pode ser que a presença de sintomas traduza uma gravidade maior da doença e conseqüentemente um risco maior de SZC.

O alto percentual de casos sem diagnóstico intrauterino (47,1%) foi outro resultado preocupante. Esse resultado pode ter algumas justificativas: primeiro, o fato de se tratar de uma doença nova e nesses casos espera-se que haja uma curva de aprendizado; segundo, o acesso a exames ultrassonográficos ainda é um problema em países em desenvolvimento como é o caso do Brasil. Na época da epidemia, o sistema público autorizava um único exame de rotina realizado em torno da 20<sup>a</sup> semana de gestação. No nosso estudo, os casos diagnosticados durante a gestação tiveram número de exames maior do que os que não tiveram diagnóstico intrauterino. Porém, esse maior número de exames pode ter correspondido a exames realizados depois do diagnóstico, para acompanhamento fetal.

Uma terceira justificativa pode ser a grave microcefalia com desabamento dos ossos do crânio e fechamento precoce das suturas e fontanelas, dificultando a passagem do som e a adequada avaliação do cérebro (Figura 1). Além disso, mesmo nos casos em que o diagnóstico foi suspeitado, a magnitude do dano cerebral não foi na maioria das vezes descrita, mesmo em casos graves, sendo na maioria dos casos a ventriculomegalia a única alteração descrita.

Estudos ultrassonográficos realizados em 2016 e 2017 evidenciaram resultados diferentes<sup>19,20</sup>, entretanto vale salientar que a maioria dos casos do presente estudo são oriundos da população normal (apenas 28,7% foram seguidas desde a gestação), na maioria advindas de pequenas cidades do interior, com exames realizados fora de centros especializados e estiveram grávidas no final do primeiro e no início do segundo semestre de 2015, quando a SZC ainda não tinha sido descrita. Atualmente a maioria das diretrizes

recomendam, nos casos suspeitos de infecção por Zika vírus durante a gravidez, seguimento do perímetro cefálico a cada quatro a seis semanas, encaminhamento para centro especializado e neurosonografia com sondas de alta resolução, preferencialmente por via transvaginal<sup>21,22</sup>.

Apesar das justificativas, temos que discutir esse alto percentual de casos sem diagnóstico pré-natal, principalmente quando consideramos que calcificações e ventriculomegalia foram observadas em apenas 30,4% e 43,1%, respectivamente, na vida fetal.

Das 29 gestantes seguidas prospectivamente, cujos fetos apresentavam danos neurológicos típicos de infecção por Zika como calcificações subcorticais e/ou núcleos da base, 19 foram submetidas a amniocentese, entretanto traços do vírus só foram encontrados em 11 casos (57,9%). Apesar dos avanços, o diagnóstico do Zika vírus, seja através de RT-PCR ou sorologia, ainda não está bem estabelecido. Fatores como a idade gestacional da coleta (tempo entre infecção e a amniocentese) e a gravidade do dano cerebral, podendo traduzir carga viral maior, bem como a imunidade materna e fetal devem ser estudados.

Um estudo conduzido no Rio de Janeiro realizou amniocentese em 16 gestantes com história de exantema e/ou dano cerebral sugestivo de ZIKV, com sete dos casos (43,8%) tendo RT-PCR positivo para Zika<sup>23</sup>. Nosso percentual de positividade pode ter sido maior devido ao fato de nossa amostra ter sido composta apenas de fetos acometidos. Uma revisão publicada em 2017 sugere que o valor preditivo e negativo da RT-PCR no líquido amniótico ainda não está bem estabelecido<sup>22</sup>.

Um dos fatores que podem dificultar a compreensão desse achado são as lacunas sobre a infecção fetoplacentária. Diferente da persistência viral relativamente bem estabelecida em fluidos como sangue, urina, saliva, dentre outros<sup>24</sup>, a persistência viral nos anexos fetais ainda

não é bem conhecida, com algumas crianças nascendo ainda com traços do vírus no sangue do cordão e na placenta, enquanto outros nascem sem nenhum indício da infecção<sup>4</sup>.

Um estudo realizado em Trinidad Tobago em 2016 avaliou oito casos de SZC, cujos resultados de positividade persistente apoiam a hipótese de manutenção da viremia fetoplacentária<sup>25</sup>, entretanto o tempo não foi estabelecido. O estudo concluiu que apesar da necessidade de estudos de coorte envolvendo gestantes Zika positivo com fetos com e sem alterações cerebrais, a performance da amniocentese nos casos de Zika deve ser similar aos casos de citomegalovírus<sup>25</sup>.

Dentre os desfechos neonatais imediatos destacam-se a ausência de microcefalia em cerca de 34% dos casos. No início da epidemia no Brasil, o termo microcefalia recebeu status de sinônimo da doença, entretanto, o primeiro artigo publicado descrevendo a Zika congênita já chamava a atenção para o fato de a microcefalia ser só a ponta do iceberg<sup>2</sup>. Os artigos subsequentes já descreviam a microcefalia como o principal sinal da doença, associada ou não a diversos achados como calcificações, ventriculomegalia, alterações no desenvolvimento cortical, hipoplasia do vermis cerebelar, dentre outros<sup>4,7,9</sup>.

Analisando a evolução da circunferência cefálica ainda na gestação, evidenciou-se que alguns fetos mantêm a circunferência cefálica dentro do normal durante toda a gestação e outros, apesar de apresentar redução em torno da 28<sup>a</sup> semana, evoluem com normalização ou até perímetro cefálico (PC) acima do esperado para a idade gestacional. Essa “normalização” do PC provavelmente deve-se ao agravamento da ventriculomegalia, entretanto esse resultado merece ser melhor estudado.

A morbidade na gravidez foi alta, com a infecção urinária, a anemia e a hipertensão sendo as doenças mais frequentes. A hipertensão foi a principal indicação de interrupção da gravidez. A prematuridade ocorreu em 15,7% dos nascimentos, percentual mais alto que a

média brasileira (11%)<sup>26</sup>. Esses partos prematuros foram em geral espontâneos, alguns dos quais seguindo-se à ruptura prematura das membranas. É possível que a infecção em atividade possa provocar reação inflamatória e ativar a cascata de mediadores que levam quer ao enfraquecimento e ruptura da bolsa amniótica, quer ao trabalho de parto prematuro. Na coorte do Rio de Janeiro não foi observada aumento na incidência de prematuridade<sup>27</sup>.

O alto percentual de crianças sem microcefalia observado no nosso estudo deve-se à inclusão de casos graves, caracterizados por hipoplasia grave do tronco cerebral, com obstrução do aqueduto, com conseqüente ventriculomegalia grave e até hidrocefalia e de casos leves, caracterizados por sinais discretos como simplificação do padrão giral e focos esparsos de calcificações. O diagnóstico desses casos só foi possível porque acompanhamos mulheres com exantema desde a gravidez e todos os óbitos tinham sido seguidos desde a gestação. O risco de subnotificação de casos com perímetro cefálico normal ou até aumentado, principalmente no início da epidemia quando o foco era microcefalia, deve ser discutido.

A artrogripose e o óbito neonatal, apesar de desfechos menos frequentes, são achados que demonstram a gravidade do dano cerebral causado pelo ZIKV. Artigos que descreveram os achados histopatológicos de neonatos que foram a óbito, alguns deles com artrogripose, evidenciaram tronco cerebral hipoplásico, em alguns casos com a ponte praticamente ausente. Outro achado foi a redução dos cornos ventrais da medula espinhal<sup>27</sup>. Esses achados podem justificar o óbito por insuficiência respiratória e a artrogripose pela redução dos movimentos fetais, culminando em atrofia muscular neurogênica. Não sabemos ainda o papel da inervação periférica nos casos de artrogripose pelo ZIKV, entretanto, as lesões do sistema nervoso central, *per se*, já justificam esse achado.

Como uma das principais limitações do nosso estudo está o fato de a maioria da amostra ter sido composta de forma retrospectiva. Entretanto, controlamos pelo menos

parcialmente esse viés pela admissão no estudo nos primeiros três meses após o parto, com facilidade para obtenção das variáveis de interesse. Como ponto forte destaca-se o tamanho da amostra, além da descrição dos desfechos perinatais e neonatais.

Os resultados aqui demonstrados caracterizam apenas uma pequena amostra de indivíduos vítimas de uma doença ainda pouco conhecida. A realização de outros estudos, principalmente de coortes populacionais, somando dados de estudos realizados em regiões que tiveram uma alta incidência de infecção pelo Zika vírus são necessários para o melhor entendimento da doença.

**Author Contributions:**

AM, MA and MMRA had full access to all the data in the study and take responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis.

**Design:** AM, MA, MMRA

**Planejamento:** AM, MA, JST, MMRA

**Condução:** AM, MA, BLSC, RS, AT

**Análise de dados:** AM, MA

**Redação:** AM, MA, JST, MMRA

**Financiamento:** This study was supported by the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPQ) and by the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES), Decit/SCTIE/MoH under reference numbers 443372/2016-0, 425136/2016-7, 440488/2016-8 and 428837/2016-6.

**Agradecimentos:** CNPq/CAPES/DECIT pelo apoio financeiro e a toda a equipe de pesquisadores do IPESQ.

**Conflitos de interesses:** Não

**Declaration of interests:** None declared.

## Referências

1. Miranda-Filho D de B, Martelli CM, Ximenes RA, Araújo TV, Rocha MA, Ramos RC, Dhália R, França RF, Marques Júnior ET, Rodrigues LC. Initial Description of the Presumed Congenital Zika Syndrome Am J Public Health. 2016;106:598-600.
2. Oliveira Melo AS, Malinger G, Ximenes R, Szejnfeld PO, Alves Sampaio S, Bispo De Filippis AM (2016) Zika vírus intrauterine infection causes fetal brain abnormality and microcephaly: tip of the iceberg? Ultrasound Obstet Gynecol 47:6–7.
3. Brito C. Zika virus: a new chapter in the history of medicine. Acta Med Port 2015; 28: 679–80.
4. Melo AS, Aguiar RS, Amorim MM, Arruda MB, Melo FO, Ribeiro ST, Batista AG, Ferreira T, Dos Santos MP, Sampaio VV, Moura SR, Rabello LP, Gonzaga CE, Malinger G, Ximenes R, de Oliveira-Szejnfeld PS, Tovar-Moll F, Chimelli L, Silveira PP, Delvechio R, Higa L, Campanati L, Nogueira RM, Filippis AM, Szejnfeld J, Voloch CM, Ferreira OC Jr, Brindeiro RM, Tanuri A. Congenital Zika Virus Infection: Beyond Neonatal Microcephaly. JAMA Neurol. 2016;73:1407-1416.
5. Leal MC, Muniz LF, Ferreira TS, Santos CM, Almeida LC, Van Der Linden V, Ramos RC, Rodrigues LC, Neto SS. Hearing loss in infants with microcephaly and evidence of congenital Zika virus infection - Brazil, November 2015-May 2016. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2016;65:917–19.
6. Ventura CV, Maia M, Travassos SB, Martins TT, Patriota F, Nunes ME, Agra C, Torres VL, van der Linden V, Ramos RC, Rocha MÂ, Silva PS, Ventura LO, Belfort R Jr. Risk factors associated with the ophthalmoscopic findings identified

- in infants with presumed Zika Virus congenital infection. *JAMA Ophthalmol* 2016;134:912–18.
7. Soares de Oliveira-Szejnfeld P, Levine D, Melo AS, Amorim MM, Batista AG, Chimelli L, Tanuri A, Aguiar RS, Malinger G, Ximenes R, Robertson R, Szejnfeld J, Tovar-Moll F. Congenital brain abnormalities and Zika virus: what the radiologist can expect to see prenatally and postnatally. *Radiology*. 2016;281:203–218
  8. Leal MC, van der Linden V, Bezerra TP, de Valois L, Borges ACG, Antunes MMC, Brandt KG, Moura CX, Rodrigues LC, Ximenes CR. Characteristics of Dysphagia in Infants with Microcephaly Caused by Congenital Zika Virus Infection, Brazil, 2015. *Emerg Infect Dis*. 2017;23:1253-1259.
  9. Pessoa A, van der Linden V, Yeargin-Allsopp M, Carvalho MDCG, Ribeiro EM, Van Naarden Braun K, Durkin MS, Pastula DM, Moore JT, Moore CA. Motor Abnormalities and Epilepsy in Infants and Children With Evidence of Congenital Zika Virus Infection. *Pediatrics*. 2018;141(Suppl 2):S167-S179.
  10. Eppes C, Rac M, Dunn J, Versalovic J, Murray KO, Suter MA, Sanz Cortes M, Espinoza J, Seferovic MD, Lee W, Hotez P, Mastrobattista J, Clark SL, Belfort MA, Aagaard KM. Testing for Zika virus infection in pregnancy: key concepts to deal with an emerging epidemic. *Am J Obstet Gynecol*. 2017;216:209-225.
  11. Ministério da Saúde – Brasil. Boletim Epidemiológico – Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e doença aguda pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 52 de 2018. 2019; 50(4). Disponível em: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/janeiro/28/2019-002.pdf>
  12. Sassetti M, Zé-Zé L, Franco J, Cunha JD, Gomes A, Tomé A, Alves MJ. First case of confirmed congenital Zika syndrome in continental Africa. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2018;112:458-462.
  13. Soares de Oliveira-Szejnfeld P, Levine D, Melo AS, Amorim MM, Batista AG, Chimelli L, Tanuri A, Aguiar RS, Malinger G, Ximenes R, Robertson R, Szejnfeld J, Tovar-Moll F. Congenital brain abnormalities and Zika virus: what the radiologist can expect to see prenatally and postnatally. *Radiology*. 2016;281:203–218
  14. Melo AS, Aguiar RS, Amorim MM, Arruda MB, Melo FO, Ribeiro ST, Batista AG, Ferreira T, Dos Santos MP, Sampaio VV, Moura SR, Rabello LP, Gonzaga CE, Malinger G, Ximenes R, de Oliveira-Szejnfeld PS, Tovar-Moll F, Chimelli L, Silveira PP, Delvechio R, Higa L, Campanati L, Nogueira RM, Filippis AM, Szejnfeld J, Voloch CM, Ferreira OC Jr, Brindeiro RM, Tanuri A. Congenital Zika Virus Infection: Beyond Neonatal Microcephaly. *JAMA Neurol*. 2016;73:1407-1416.
  15. Levine D, Jani JC, Castro-Aragon I, Cannie M. How Does Imaging of Congenital Zika Compare with Imaging of Other TORCH Infections? *Radiology*. 2017;285:744-61.

16. A.T. Papageorghiou, B. Kemp, W. Stones, E. O. Ohuma, S. H. Kennedy, M. Purwar, L. J. Salomon, D. G. Altman, J. A. Noble, E. Bertino, M. G. Gravett, R. Pang, L. Cheikh Ismail, F. C. Barros, A. Lambert, Y. A. Jaffer, C. G. Victora, Z. A. Bhutta and J. Villar; International Fetal and Newborn Growth Consortium for the 21st Century (INTERGROWTH-21st). International estimated fetal weight standards of the INTERGROWTH-21st Project. Ultrasound Obstet Gynecol2017; 478–86.
17. Souza WV, Albuquerque MFPM, Vazquez E, Bezerra LCA, Mendes ADCG, Lyra TM, Araujo TVB, Oliveira ALS, Braga MC, Ximenes RAA, Miranda-Filho DB, Cabral Silva APS, Rodrigues L, Martelli CMT. Microcephaly epidemic related to the Zika virus and living conditions in Recife, Northeast Brazil. BMC Public Health. 2018 Jan 12;18:130.
18. Farinelli EC, Baquero OS, Stephan C, Chiaravalloti-Neto F. Low socioeconomic condition and the risk of dengue fever: A direct relationship. Acta Trop. 2018;180:47-57.
19. Rodrigues NCP, Daumas RP, de Almeida AS, Dos Santos RS, Koster I, Rodrigues PP, Gomes MF, Macedo AF, Gerardi A, Leite IDC. Risk factors for arbovirus infections in a low-income community of Rio de Janeiro, Brazil, 2015-2016. PLoSOne. 2018 7;13(6):e0198357.
20. Besnard M, Lastere S, Teissier A, Cao-Lormeau V, Musso D. Evidence of perinatal transmission of Zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014. Euro Surveill2014;19:20751.
21. Duffy MR, Chen TH, Hancock WT, Powers AM, Kool JL, Lanciotti RS, Pretrick M, Marfel M, Holzbauer S, Dubray C, Guillaumot L, Griggs A, Bel M, Lambert AJ, Laven J, Kosoy O, Panella A, Biggerstaff BJ, Fischer M, Hayes EB. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. N Engl J Med 2009;360: 2536-43.
22. Parra-Saavedra M, Reefhuis J, Piraquive JP, Gilboa SM, Badell ML, Moore CA, Mercado M, Valencia D, Jamieson DJ, Beltran M, Sanz-Cortes M, Rivera-Casas AM, Yopez M, Parra G, Ospina Martinez M, Honein MA. Association between Zika virus and fetopathy: a prospective cohort study in French Guiana. Ultrasound ObstetGynecol. 2017;49:729-736.
23. Pomar L, Malinger G, Benoist G, Carles G, Ville Y, Rousset D, Hcini N, Pomar C, Jolivet A, Lambert V. Association between Zika virus and fetopathy: a prospective cohort study in French Guiana. Ultrasound Obstet Gynecol. 2017;49:729-736.
24. Papageorghiou AT, Thilaganathan B, Bilardo CM, Ngu A, Malinger G, Herrera M, Salomon LJ, Riley LE, Copel JA. ISUOG Interim Guidance on ultrasound for Zika virus infection in pregnancy: informaion for healthcare professionals. Ultrasound Obstet Gynecol. 2016;47:530.

25. Eppes C, Rac M, Dunn J, Versalovic J, Murray KO, Suter MA, Sanz Cortes M, Espinoza J, Seferovic MD, Lee W, Hotez P, Mastrobattista J, Clark SL, Belfort MA, Aagaard KM. Testing for Zika virus infection in pregnancy: key concepts to deal with an emerging epidemic. *Am J ObstetGynecol.* 2017;216:209-225.
26. Pereira JP Jr, Maykin MM, Vasconcelos Z, Avvad-Portari E, Zin AA, Tsui I. The Role of Amniocentesis in the Diagnosis of Congenital Zika Syndrome. *ClinInfectDis.* 2019 Jan 8.
27. Driggers RW, Ho CY, Korhonen EM, Kuivanen S, Jääskeläinen AJ, Smura T, Rosenberg A, Hill DA, DeBiasi RL, Vezina G, Timofeev J, Rodriguez FJ, Levanov L, Razak J, Iyengar P, Hennenfent A, Kennedy R, Lanciotti R, duPlessis A, Vapalahti O. Zika virus infection with prolonged maternal viremia and fetal brain abnormalities. *N Engl J Med* 2016;374:2142-51.

## **Tabelas e Figuras**

### Tabelas

**Tabela 1.** Características biológicas, sociodemográficas, antecedentes obstétricos e hábitos das gestantes com diagnóstico de SCZ

**Tabela 2.** Avaliação do pré-natal, contato com o mosquito, histórico de parceiro com Zika, sintomas do ZIKV, diagnóstico materno e intrauterino de infecção por ZKV de gestantes com diagnóstico de SCZ

**Tabela 3.** Desfechos gestacionais de mulheres com diagnóstico de SCZ

**Tabela 4.** Desfechos neonatais de pacientes com SCZ

### Figura

**Figura 1.** Achados neurosonográficos dos casos de SCZ

**Tabela 1.** Características biológicas, sociodemográficas, antecedentes obstétricos e hábitos das gestantes com diagnóstico de SZC

<b>Características</b>	<b>N</b>	<b>%/ Média ± DP</b>
<b>Idade materna (anos)</b>		26,5±6,2
Variação		16-46
<b>Número de gestações</b>		
Primigestas	42	41,2
Multigestas	60	57,8
<b>Paridade</b>		
Nulíparas	43	42,2
Multíparas	55	54
Grandes Multíparas	13	3,8
<b>Cor</b>		
Amarela	2	2
Branca	23	22,5
Negra	12	11,8
Parda	65	63,7
<b>Escolaridade (%)</b>		
Sem escolaridade	2	2
Superior	7	7
Fundamental I	13	12,7
Fundamental II	22	21,6
Médio	58	56,9
<b>Anos de estudo (Média ± DP)</b>		10,4±3,3
<b>Procedência (%)</b>	§	
Campina grande	17	16,7
Outras cidades	85	83,3
<b>Logradouro (%)</b>		
Rural	15	14,7
Urbana	87	85,3

**Etilismo (%)**

Sim	5	4,9
Não	97	95,1

**Tabagismo (%)**

Sim	1	1
Não	101	99

**Ocupação (%)**

Não remunerada	94	92,2
Remunerada	8	7,8

**Companheiro (%)**

<b>Sim</b>	71	69,6
<b>Não</b>	31	30,4

**Renda per capita** (Média ± DP) 353,6±252,3

**Altura materna** (Média ± DP) 1,58±0,1

**Peso materno** (Média ± DP) 63,8±12,5

**IMC** (Média ± DP) 25,4±4,5

---

\* Síndrome de Zika Congênita

**Tabela 2.** Avaliação do pré-natal, contato com o mosquito, histórico de parceiro com Zika, sintomas do ZIKV, diagnóstico materno e intrauterino de infecção por ZKV de gestantes com diagnóstico de SZC

<b>Características</b>	<b>n</b>	<b>%/ Média ± DP</b>
<b>Realização de Pré-natal</b>		
Público	91	82,2
Privado	11	10,8
<b>Número de consultas pré-natais</b>		
<6	20	19,6
≥6	82	80,4
<b>Referia o uso de repelente</b>		
Sim	15	14,7
Não	87	85,3
<b>Conhecia o ZIKV antes da gravidez (%)</b>		
Sim	3	2,9
Não	99	97,1
<b>Havia focos do mosquito no domicílio ou próximo ao local de trabalho (%)</b>		
Sim	61	59,8
Não	41	40,2
<b>Teve contato com o <i>Aedes aegypti</i> (%)</b>		
Sim	69	67,6
Não	33	32,4
<b>Gestante apresentou exantema (%)</b>		
Sim	92	90,2
Não	10	9,8
<b>Trimestre dos sintomas (%)</b>		
Primeiro	63	68,5
Segundo	25	27,2
Terceiro	4	4,3
<b>Diagnóstico materno de Zika (%)</b>		

SCZ confirmada	41	40,2
SCZ presumida	61	59,8
<b>Suspeita diagnóstica de infecção intrauterina por ZIKV (%)</b>		
Sim	59	57,2
Não	43	42,2
<b>Número de Ultrassonografias</b>		
Com diagnóstico intrauterino	4	2 - 10
Sem diagnóstico intrauterino	3	1 – 6
<i>P</i>		<0,001
<b>Submetida a amniocentese (%)</b>		
Sim	19	18,6
Não	83	81,4
<b>Resultado da amniocentese (%)</b>		
Negativo	8	42,1
Positivo	11	57,9

---

\* Síndrome de Zika Congênita

**Tabela 3.** Desfechos gestacionais de mulheres com diagnóstico de SCZ

<b>Características</b>	<b>n</b>	<b>%/ Média ± DP</b>
<b>Tipo de parto (%)</b>		
Cesariana	47	46,1
Vaginal	55	53,9
<b>Idade gestacional no parto</b> (Mediana, intervalo interquartil)		39 (38 – 39)
<i>Varição</i>		32-42
<b>Prematuridade (%)</b>		
Sim	16	15,7
Não	86	84,3
<b>Indicação de antecipação do parto (%)</b>		
Sim	17	16,7
Não	85	83,3
<b>Motivo da antecipação do parto (%)</b>		
Hipertensão	6	35,3
Amniorrexe prematura	4	23,5
Oligo-hidrânio	3	17,6
Polidrânio	2	11,8
Descolamento Prematuro de Placenta	1	5,9
Sofrimento fetal	1	5,9
<b>Óbito fetal</b>		
Sim	–	–
Não	102	100

\* Síndrome de Zika Congênita

**Tabela 4.** Desfechos neonatais de pacientes com SCZ

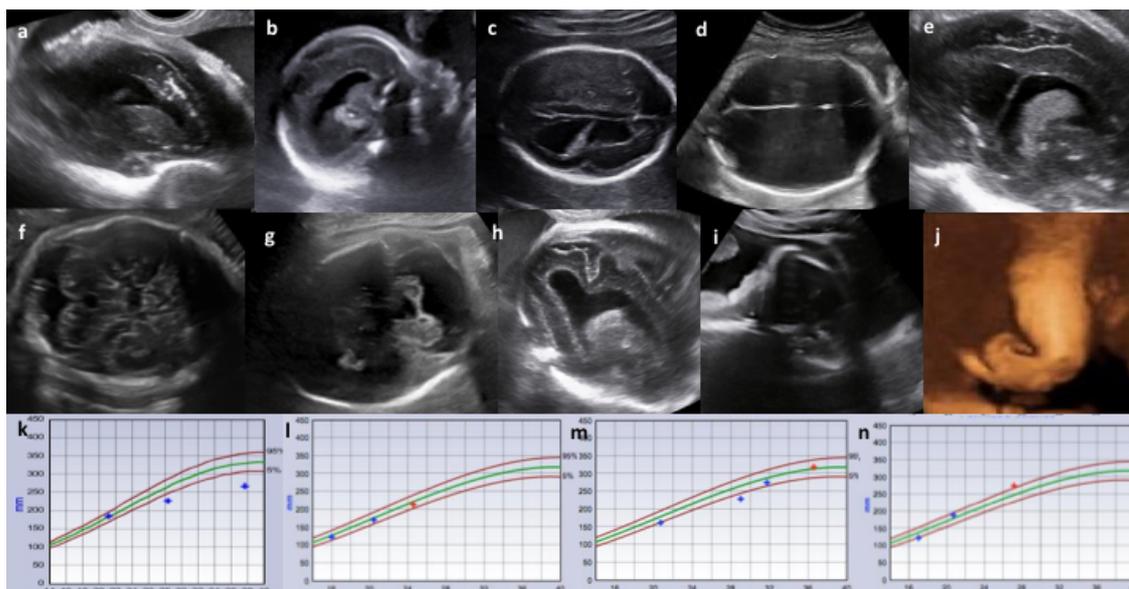
<b>Características</b>	<b>n</b>	<b>%/ Média ± DP</b>
<b>Óbito neonatal (%)</b>		
Sim	9	8,8
Não	93	91,2
<b>Sexo (%)</b>		
Feminino	52	51
Masculino	50	49
<b>Comprimento ao nascer (cm)</b>		
Média ± DP		45,7 ± 2,9
<b>Classificação do comprimento (%)</b>		
Abaixo	31	31,3
Normal	67	67,7
Acima	1	1
<b>Peso ao nascer (gramas)</b>		
Média ± DP		2721,9±492
<b>Adequação do peso ao nascer (%)</b>		
Pequeno para a Idade Gestacional	9	9
Adequado para a Idade Gestacional	89	89
Grande para a Idade Gestacional	2	2
<b>Perímetro Cefálico ao Nascer</b>		
Média ± DP		30,0±2,3
<b>Microcefalia ao nascer (%)</b>		
Sim	66	66
Não	34	34
<b>Classificação da microcefalia ao nascer (%)</b>		
Leve	21	31,8
Grave	45	68,2
<b>Acinesia fetal/Artrogripose (%)</b>		

Sim	10	9,8
Não	92	90,2
<b>Malformações associadas (%)</b>		
Sim	17	16,7
Não	85	83,3
<b>Malformação associadas (%)</b>		
Criptorquidia	11	64,7
Cisto tireoglosso	1	5,9
Ânus imperfurado	1	5,9
Hipospadia	1	5,9
Microftalmia	1	5,9
Pectuscarinatum	1	5,9
Sobreposição de pododáctilos do pé	1	5,9
<b>Complicação ao nascer (%)</b>		
Sim	29	28,4
Não	73	71,6
<b>Complicação ao nascer (%)</b>		
Desconforto respiratório	16	53,3
Icterícia	6	20
Insuficiência respiratória	8	26,6
<b>Reanimação neonatal (%)</b>		
Sim	4	3,9
Não	98	96,1
<b>UTI neonatal</b>		
Sim	16	15,7
Não	86	84,3
<b>Apgar de 1o. minuto</b> (Mediana, intervalo interquartil)		8 (8 – 9)
<i>Variacão</i>		1-9
<b>Apgar de 5o. minuto</b> (Mediana, intervalo interquartil)		9 (9 – 9)

<i>Varição</i>	9-9
<b>Permanência hospitalar em dias</b> (Mediana, intervalo interquartil)	3 (2 – 7)
<i>Varição</i>	1-31

---

\* Síndrome de Zika Congênita



**Figura 2.** Achados neurosonográficos na Síndrome de Zika Congênita (SZC)

a – calcificações subcorticais; b – calcificações nos núcleos da base; c – ventriculomegalia discreta; d – ventriculomegalia severa; e – ventriculomegalia com septo; f – cerebelo normal; g – hipoplasia do vermis cerebelar, do cerebelo, alargamento da fossa posterior; h – atraso do desenvolvimento cortical, ventriculomegalia; i – desabamento dos ossos do crânio; j – artrogrípse; l a n – evolução da circunferência cefálica.

## V. CONCLUSÕES

1. A coorte estudada apresentou características compatíveis com populações de gestantes atendidas por serviços públicos de saúde. Prevaleceu baixo poder aquisitivo, baixa escolaridade com média de anos de estudos de  $10,3 \pm 3,3$ , a maioria multíparas, tiveram seis ou mais consultas pré-natal, e sua maioria no serviço público (89,2%). As mulheres possuíam hábitos de vida saudáveis. Apenas 15% usavam repelente e a maioria (59,8%) possuíam criadouros do mosquito *Aedes aegypti* nos arredores de sua residência e contato com o mosquito (67,6%). A minoria relatava conhecimento sobre a Zika antes da gravidez (2,9%);
2. O exantema esteve presente na maioria das mulheres (90,2%) e os sintomas da doença ocorreram com maior frequência no primeiro trimestre da gestação (68,5%), sem diferenças entres os braços do estudo;
3. O diagnóstico materno de Zika foi em sua maioria presumido (59,8%) e em sua minoria confirmado através de RT-PCR. A RT-PCR foi positiva na maioria (57,9%) dos casos em que se realizou amniocentese;
4. O diagnóstico intrauterino através da ultrassonografia obstétrica foi realizado na maioria das mulheres (57,2%). As mulheres com diagnóstico intrauterino se submeteram a mais de quatro ultrassonografias obstétricas. O principal achado ultrassonográfico durante a gestação foi a ventriculomegalia, seguido por microcefalia, calcificações subcorticais e/ou em núcleos da base, alterações de fossa posterior, artrogripose e disgenesia de corpo caloso.
5. O parto vaginal foi mais frequente, sendo em 16,7% dos casos indicada a antecipação do parto, com a hipertensão sendo a principal indicação. A mediana da idade

gestacional ao nascer foi de 39 semanas, a prematuridade esteve presente em 15,7%.

Não houve óbitos fetais.

6. Todos os fetos nasceram vivos, com mediana de 39 semanas de gestação e quase 16% de prematuridade. A maioria dos fetos nasceu com peso e comprimento adequado para idade gestacional e com microcefalia em relação ao perímetro cefálico (66%), sendo a maioria do sexo feminino. Durante a gravidez, a circunferência cefálica começa dentro do esperado para a idade gestacional, com casos evoluindo para microcefalia, casos mantendo-se dentro da normalidade, casos evoluindo para microcefalia e depois alcançando perímetro cefálico dentro do normal e até casos que finalizaram com perímetro cefálico aumentado para a idade gestacional. A maioria dos recém-nascidos apresentou boa vitalidade, com mediana dos escores de Apgar de oito no primeiro minuto e nove no quinto minuto. Mais de 28% dos recém-nascidos tiveram complicações, sendo o desconforto respiratório a complicação de maior frequência, com 3,9% requerendo manobras de ressuscitação e 15,7% internação em unidade de terapia intensiva (UTI). A duração da internação foi de aproximadamente cinco dias. A artrogripose foi observada em 9,8% dos casos e malformações associadas em 16,7% casos, sendo a criptorquidia a malformação associada mais frequente. Ocorreram nove óbitos neonatais (8,8%).
7. Os achados de tomografia computadorizada e de neurosonografia mostraram que todas os fetos nasceram com diferentes graus de alterações no desenvolvimento cortical. Todas nasceram com calcificações, sendo a maioria encontrada em subcorticais e em núcleos da base. A ventriculomegalia esteve presente na quase totalidade da amostra, a presença de septo em ventrículos e assimetria ventricular foi menos frequente, já disgenesia/agenesia do corpo caloso ocorreram na maioria dos casos. Alterações de fossa posterior, hipoplasia simétrica do cerebelo e assimétrica

foram menos frequentes e megacisterna e hipoplasia do vermis cerebelar apareceram em quase cinquenta por cento da amostra.

## **VI. SUGESTÕES E RECOMENDAÇÕES**

### **6.1. RECOMENDAÇÕES PARA A PRÁTICA**

A descoberta da associação da microcefalia com o Zika Vírus possui aproximadamente quatro anos e sabe-se que o vírus se espalhou não apenas pelo Brasil e sim por mais de 50 países e territórios americanos. A epidemia explosiva emergente teve diversos impactos sobre a saúde da população, coincidindo com os casos da Síndrome de Guillain-Barré e uma inesperada epidemia de recém-nascidos com microcefalia e outras deficiências neurológicas. Isso levou o Brasil a declarar uma emergência de saúde pública nacional em novembro de 2015.

Nessa perspectiva, os estudos envolvendo os desfechos gestacionais, perinatais e neonatais de casos de Zika Congênita são escassos, logo o presente estudo é de suma importância, contribuindo para melhor compreensão da história natural da doença para que os especialistas possam planejar a conduta específica durante a gestação, em caso de emergência de nova epidemia.

### **6.2. RECOMENDAÇÕES PARA A PESQUISA**

A recomendação da continuidade do estudo é imprescindível para conhecer melhor a história natural da doença e nesta perspectiva uma grande coorte multicêntrica envolvendo um maior número de gestantes seria ideal para confirmar ou refutar esses achados. Estudos de coorte de gestantes e de crianças do Brasil já conduzidos/em andamento estão sendo reunidos em uma grande pesquisa financiada pelo CNPq/DECIT, sob a coordenação do grupo de Pernambuco. Por outro lado, os resultados deste e de outros estudos devem ser incorporados

às revisões sistemáticas envolvendo os desfechos gestacionais, perinatais e neonatais de casos de Zika Congênita.

## VII. REFERÊNCIAS

1. Vasconcelos PFdC. Doença pelo vírus Zika: um novo problema emergente nas Américas? *Revista Pan-Amazônica de Saúde*. 2015;6:9-10.
2. Lowe R, Barcellos C, Brasil P, Cruz OG, Honório NA, Kuper H, Carvalho MS. The Zika Virus Epidemic in Brazil: From Discovery to Future Implications. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2018;15:96-9.
3. Luz KG, Santos GIVd, Vieira RdM. Febre pelo vírus Zika. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*. 2015;24:785-8.
4. Nunes ML, Carlini CR, Marinowic D, Kalil Neto F, Fiori HH, Scotta MC, et al. Microcephaly and Zika virus: a clinical and epidemiological analysis of the current outbreak in Brazil. *Jornal de Pediatria*. 2016;92:230-40.
5. Duffy MR, Chen T-H, 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.
6. Organization WH. Zika virus fact sheet. World Health Organization. 2016.
7. Malhotra N, Chanana C, Kumar S. Dengue infection in pregnancy. *Int J Gynaecol Obs*. 2006; 94:131–2.
8. Fritel X. Chikungunya Virus Infection during Pregnancy, Réunion, France, 2006. *Emerg Infect Dis*. 2010; 16: 418-25.
9. Gérardin P, Barau G, Michault A, Bintner M, Randrianaivo H, Choker G, et al. Multidisciplinary prospective study of mother-to-child chikungunya virus infections on the island of La Réunion. *PLoS Med*. 2008; 5:e60.
10. Bentlin MR, Almeida RAMB, Coelho KIR, Ribeiro AF, Siciliano MM, Suzuki A, et al. Perinatal transmission of yellow fever, Brazil, 2009 [letter]. *Emerg Infect Dis*.

- 2011; 17: 1779-80.
11. Barthel A, Gourinat A-C, Cazorla C, Joubert C, Dupont-Rouzeyrol M, Descloux E. Breast milk as a possible route of vertical transmission of dengue virus? *Clin Infect Dis* [Internet]. 2013; 57: 415–7.
  12. Cao-Lormeau V-M, Musso D. Emerging arboviruses in the Pacific. *Lancet*; 384: 1571–2.
  13. Ministério da Saúde – Brasil. INFORME EPIDEMIOLÓGICO Nº 04/2015 – SEMANA EPIDEMIOLÓGICA 49 (06 A 12/12/2015). Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasil, 2015.
  14. Pan American Health Organization – PAHO. Epidemiological Alert: Neurological syndrome, congenital malformations, and Zika virus infection. Implications for public health in the Americas. 1 December 2015.
  15. Calvet G, Aguiar RS, Melo AS, Sampaio SA, de Filippis I, Fabri A, et al. Case Report of detection of Zika virus genome in amniotic fluid of affected fetuses: association with microcephaly outbreak in Brazil. *Lancet Infect Dis*. 2016; 16:653-60.
  16. 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; 160210140106006.
  17. Krauer F, Riesen M, Reveiz L, Oladapo OT, Martínez-Vega R, Porgo TV, Haefliger A, Broutet NJ, Low N; WHO **Zika** Causality Working Group. Zika Virus Infection as a Cause of Congenital Brain Abnormalities and Guillain-Barré Syndrome: Systematic Review. *PLoS Med*. 2017;14: e1002203.
  18. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Rapid Risk Assessment Microcephaly in Brazil potentially linked to the Zika virus epidemic. November 24, 2015.
  19. Pan American Health Organization – PAHO. Epidemiological Alert: Neurological

- syndrome, congenital malformations, and Zika virus infection. Implications for public health in the Americas. 1 December 2015.
20. Calisher CH, Sever JL. Are North American bunyamwera serogroup viruses etiologic agents of human congenital defects of the central nervous system? *Emerg Infect Dis.* 1995;1: 147–51.
  21. Staples JE, Dziuban EJ, Fischer M, Cragan JD, Rasmussen SA, Cannon MJ et al. Interim Guidelines for the Evaluation and Testing of Infants with Possible Congenital Zika Virus Infection - United States, 2016. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2016; 65: 63–67.
  22. Ventura LO, Ventura CV, Lawrence L, van der Linden V, van der Linden A, Gois AL, Cavalcanti MM, Barros EA, Dias NC, Berrocal AM, Miller MT. Visual impairment in children with congenital Zika syndrome. *J AAPOS.* 2017; pii: S1091-8531(17)30311-7.
  23. Ministério da Saúde – Brasil. Boletim Epidemiológico – Monitoramento dos casos de dengue, febre de chikungunya e doença aguda pelo vírus Zika até a Semana Epidemiológica 52 de 2018. 2019; 50(4). Disponível em: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/janeiro/28/2019-002.pdf>
  24. Hospital W. Laboratory diagnosis of rubella : past , present and future. 1991;1–15.
  25. Wright HT. Congenital anomalies and viral infections in infants. The etiologic role of maternal viral infections. *Calif Med.* 1966;105: 345–51.
  26. Orkide O, Koyuncu, Ian B, Hogue, Lynn W, Enquist. Virus Infections in the Nervous System. *Cell Host Microbe.* 2014;13: 379–93.
  27. Silasi M, Cardenas I, Kwon JY, Racicot K, Aldo P, Mor G. Viral infections during pregnancy. *Am J Reprod Immunol.* 2015; 73: 199-213.
  28. Gérardin P, Sampéris S, Ramful D, Boumahni B, Bintner M, Alessandri J-L, et al. Neurocognitive Outcome of Children Exposed to Perinatal Mother-to-Child

- Chikungunya Virus Infection: The CHIMERE Cohort Study on Reunion Island. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014; 8: e2996.
29. Ribeiro BNF, Muniz BC, Gasparetto EL, Ventura N, Marchiori E. Síndrome congênita pelo vírus Zika e achados de neuroimagem: o que sabemos até o momento?. *Radiol Bras*. 2017;50:314-322.
  30. Agerholm JS, Hewicker-Trautwein M, Peperkamp K, Windsor PA. Virus-induced congenital malformations in cattle. *Acta Vet Scand. BioMed Central*; 2015;57: 54.
  31. Javanbakht J, Mardjanmehr SH, Tavasoly A, Nazemshirazi MH. Neuropathological microscopic features of abortions induced by Bunyavirus / or Flavivirus infections. 2014;1-9.
  32. Marka A, Diamantidis A, Papa A, Valiakos G, Chaintoutis SC, Doukas D, et al. West Nile virus state of the Art report of MALWEST project. *Int J Environ Res Public Health*. 2013;10: 6534-610.
  33. Cardoso CW, Paploski IAD, Kikuti M, Rodrigues MS, Silva MMO, Campos GS, et al. Outbreak of Exanthematous Illness Associated with Zika, Chikungunya, and Dengue Viruses, Salvador, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2015;21: 2274-6.
  34. Chimelli L, Melo ASO, Avvad-Portari E, Wiley CA, Camacho AHS, Lopes VS, Machado HN, Andrade CV, Dock DCA, Moreira ME, Tovar-Moll F, Oliveira-Szejnfeld PS, Carvalho ACG, Ugarte ON, Batista AGM, Amorim MMR, Melo FO, Ferreira TA, Marinho JRL, Azevedo GS, Leal JIBF, da Costa RFM, Rehen S, Arruda MB, Brindeiro RM, Delvechio R, Aguiar RS, Tanuri A. The spectrum of neuropathological changes associated with congenital Zika virus infection. *Acta Neuropathol*. 2017;133: 983-999.
  35. Cristina F, Pastich S, Israel P, Lira C De, Eickmann SH. Razão peso / perímetro cefálico ao nascer na avaliação do crescimento fetal. 2015;31(9):1995-2004.

36. Villar J, Giuliani F, Bhutta ZA, Bertino E, Ohuma EO, Ismail LC, et al. Postnatal growth standards for preterm infants: the Preterm Postnatal Follow-up Study of the INTERGROWTH-21st Project. *Lancet Glob Heal*. 2015;3: e681–91.
37. Graf WD, Le Pichon J-B, Bittel DC, Abdelmoity a T, Yu S. 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*. 2010; 74:1080–1.
38. Harris SR. Measuring head circumference. *Can Fam Physician*. 2015; 61:680–4.
39. Miranda-Filho DB, Martelli CMT, Ximenes RAA, Araújo TVB, Rocha MAW, Ramos RCF, et al. Initial description of the presumed congenital Zika syndrome. *Am J Public Health*. 2016;106:598-600.
40. Aparecida GPG, Achiléa LB. Infecções congênicas transplacentárias. *REVINTER.editor*. 1995. 23-27.
41. Rodó C, Suy A, Sulleiro E, Soriano-Arandes A, Maiz N, García-Ruiz I, Arévalo S, Rando A, Anton A, Vázquez Méndez É, Garrido M, Frick A, Rodrigo C, Pumarola T, Carreras E. Pregnancy outcomes after maternal Zika virus infection in a non-endemic region: prospective cohort study. *Clin Microbiol Infect*. 2019 14: S1198-743X(19)30054-0.
42. Del Carpio-Orantes L, Rosas-Lozano AL, García-Méndez S. Zika virus infection in pregnant women in a General Hospital of Veracruz, Mexico. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2019 1:1-5.
43. Mulkey SB, Bulas DI, Vezina G, Fourzali Y, Morales A, Arroyave-Wessel M, Swisher CB, Cristante C, Russo SM, Encinales L, Pacheco N, Kousa YA, Lanciotti RS, Cure C, DeBiasi RL. Sequential Neuroimaging of the Fetus and Newborn With In Utero Zika Virus Exposure. *JAMA Pediatr*. 2019; 173:52-59.

44. Rodriguez-Morales AJ, Cardona-Ospina JA, Ramirez-Jaramillo V, Gaviria JA, González-Moreno GM, Castrillón-Spitia JD, López-Villegas A, Morales-Jiménez E, Ramírez-Zapata V, Rueda-Merchán GE, Trujillo AM, Tabares-Villa FA, Henao-SanMartin V, Murillo-Garcia DR, Herrera-Soto JA, Buitrago-Cañas ML, Collins MH, Sepúlveda-Arias JC, Londoño JJ, Bedoya-Rendón HD, de Jesús Cárdenas-Pérez J, Olaya SX, Lagos-Grisales GJ. Diagnosis and outcomes of pregnant women with Zika virus infection in two municipalities of Risaralda, Colombia: Second report of the ZIKERNCOL study. *Travel Med Infect Dis.* 2018;25:20-25.
45. Sanz Cortes M, Rivera AM, Yopez M, Guimaraes CV, Diaz Yunes I, Zarutskie A, Davila I, Shetty A, Mahadev A, Serrano SM, Castillo N, Lee W, Valentine G, Belfort M, Parra G, Mohila C, Aagaard K, Parra Saavedra M. Clinical assessment and brain findings in a cohort of mothers, fetuses and infants infected with ZIKA virus. *Am J Obstet Gynecol.* 2018;218:440.
46. Pomar L, Vouga M, Lambert V, Pomar C, Hcini N, Jolivet A, Benoist G, Rousset D, Matheus S, Malinger G, Panchaud A, Carles G, Baud D. Maternal-fetal transmission and adverse perinatal outcomes in pregnant women infected with Zika virus: prospective cohort study in French Guiana. *BMJ.* 2018;363:k4431.
47. Hoen B, Schaub B, Funk AL, Ardillon V, Boullard M, Cabié A, Callier C, Carles G, Cassadou S, Césaire R, Douine M, Herrmann-Storck C, Kadhel P, Laouéan C, Madec Y, Monthieux A, Nacher M, Najioullah F, Rousset D, Ryan C, Schepers K, Stegmann-Planchard S, Tressières B, Voluménie JL, Yassinguez S, Janky E, Fontanet A. Pregnancy Outcomes after ZIKV Infection in French Territories in the Americas. *N Engl J Med.* 2018;378:985-994.
48. Brasil P, Pereira JP Jr, Moreira ME, Ribeiro Nogueira RM, Damasceno L, Wakimoto M, Rabello RS, Valderramos SG, Halai UA, Salles TS, Zin AA, Horovitz D, Daltro

- P, Boechat M, Raja Gabaglia C, Carvalho de Sequeira P, Pilotto JH, Medialdea-Carrera R, Cotrim da Cunha D, Abreu de Carvalho LM, Pone M, Machado Siqueira A, Calvet GA, Rodrigues Baião AE, Neves ES, Nassar de Carvalho PR, Hasue RH, Marschik PB, Einspieler C, Janzen C1, Cherry JD, Bispo de Filippis AM, Nielsen-Saines K. Zika Virus Infection in Pregnant Women in Rio de Janeiro. *N Engl J Med*. 2016;375:2321-2334.
49. Pereira JPF, Nielsen-Saines K, Sperling J, Maykin MM, Damasceno L, Cardozo RF, Valle HA, Dutra BRT, Gama HD, Adachi K, Zin AA, Tsui I, Vasconcelos Z, Brasil P, Moreira ME, Gaw SL. Association of prenatal ultrasonographic findings with adverse neonatal outcomes among pregnant women with zika virus infection in Brazil. *JAMA Network Open*. 2018: e186529.
50. Soares OSP, Levine D, Melo AS, et al. Congenital brain abnormalities and Zika Virus: what the radiologist can expect to see prenatally and postnatally. *Radiology* 2016; 281: 203-18.
51. Levine D, Jani JC, Castro-Aragon I, Cannie M. How does imaging of Congenital Zika compare with imaging of other TORCH infections? *Radiology* 2017; 285: 744-61.
52. BRASIL. Ministério da Saúde. Atenção ao pré-natal de baixo risco. Brasília: Ministério da Saúde, 2012. (Cadernos de Atenção Básica, 32).
53. SILVA AF da. Diagnóstico diferencial das calcificações intracranianas patológicas em pacientes com microcefalia relacionada a infecção congênita por vírus Zika. *Radiol Bras*. 2018;51:270-271.

## APÊNDICE 1

---

### LISTA DE CHECAGEM

---

#### ASSOCIAÇÃO ENTRE INFECÇÃO VIRAL POR ZIKA NA GRAVIDEZ E INFECÇÃO CONGÊNITA EM CAMPINA GRANDE – PARAÍBA

Formulário n°.

Pesquisador: \_\_\_\_\_

Data:   /   /

#### IDENTIFICAÇÃO

Nome: \_\_\_\_\_ Registro:

Idade:   anos

- Gestação com parto ou aborto nos anos de 2015 e 2016
- História de exantema e/ou infecção por Zika vírus confirmada durante a gravidez ou puerpério
- Diagnóstico de microcefalia e/ou malformações sugestivas de :Zika congênita
- Atendimento em Campina Grande

#### CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Perda do seguimento por mudança ou não comparecimento às consultas.
- Não conseguiu recuperar dados do prontuário

Elegível

Não elegível

Concorda em participar

Recusa participar

INCLUÍDA

EXCLUÍDA

## APÊNDICE 2

---

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

---

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(De acordo com os critérios da resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde)

Você está sendo convidada como voluntária a participar da pesquisa “Associação entre infecção por Zika vírus na gravidez e síndrome de infecção congênita”, bem como os desfechos gestacionais, perinatais, neonatais e no primeiro ano de vida em Campina Grande-PB”.

#### JUSTIFICATIVA, OS OBJETIVOS E OS PROCEDIMENTOS:

O motivo que nos leva a estudar o problema é o aumento do número de casos microcefalia em bebês cujas mães apresentaram Zika durante a gravidez. Microcefalia é uma cabeça pequena com um cérebro pequeno, que pode cursar com problemas mentais, inclusive de inteligência e de aprendizagem e atraso do desenvolvimento. Outros problemas podem estar associados e nós queremos estudar exatamente quais problemas e complicações podem resultar dessa infecção por Zika, para mães e bebês. Queremos saber também qual o período da gravidez em que o risco de microcefalia é maior, caso a gestante tenha zika.

O(s) procedimento(s) para coleta de dados: se a senhora apresentar exantema (pele vermelha, “pipocada”) em qualquer momento na gravidez, vai ser convidada para participar da pesquisa e caso ainda esteja grávida serão realizados exames de ultrassonografia e em alguns casos ressonância magnética. Também vamos colher seu sangue para exames. Se houver suspeita de complicações para o bebê como microcefalia ou outras malformações, será realizado um teste para ver se existe Zika vírus no líquido amniótico, além de colher exames da placenta, do sangue do cordão umbilical e da urina do bebê. Se por acaso algum bebê morrer dentro da barriga ou depois de nascer e tiver suspeita de infecção por Zika nós também vamos colher pedacinhos de tecido do corpo, que não vão alterar o aspecto do bebê. Para confirmar microcefalia vai ser necessário fazer um exame chamado tomografia no bebê que tiver uma cabeça menor ou igual a 32 centímetros (perímetro cefálico). O bebê que tiver microcefalia terá ainda seu crescimento e seu desenvolvimento acompanhados no primeiro ano de vida. Os bebês que nasceram sem microcefalia também serão acompanhados através

de entrevista por telefone e quando necessário realizaram exames como ultrassonografia transfontanela e abdominal, ecocardiografia, sorologia para Zika, tomografia e/ou ressonância magnética.

#### DESCONFORTOS E RISCOS E BENEFÍCIOS:

Como benefício principal a senhora e o seu bebê serão acompanhados por uma equipe especializada formada por obstetras, fisioterapeutas, pediatras e neurologistas, além do apoio de infectologistas e profissionais que fazem exames de laboratório e de ultrassonografia, ressonância e tomografia. Outros especialistas podem se envolver se houver necessidade. Como desconforto tem a sua ida até o IPESQ para realização dos exames durante a gravidez. Precisaremos do seu sangue para os exames, mais ou menos uns 5ml, o que vai ser obtido por uma punção com agulha que pode doer um pouco e poucas vezes deixar manchas. Ultrassonografia e ressonância na gravidez não envolvem risco para o bebê, mas a ressonância pode incomodar um pouco pelo barulho e por você ficar dentro do aparelho. O exame do líquido amniótico chamado amniocentese pode ter como risco perder o bebê (menos de 1%), mas você terá toda a assistência caso concorde em fazer o exame, que somente será realizado em casos específicos como microcefalia e outras malformações junto com outros exames para avaliar as causas, genéticas ou infecciosas, além do Zika vírus. Colher exame do cordão umbilical não tem risco para o bebê e somente será feito depois de 3min do nascimento para que o sangue dentro da placenta volte para o bebê. Outros exames serão necessários se o bebê tiver suspeita de infecção por Zika como exame do fundo de olho que é feito por um médico oftalmologista e não envolve riscos, apenas um ligeiro desconforto para a senhora segurar o bebê. A tomografia só é realizada se houver suspeita de microcefalia ou algum problema neurológico e aí seu bebê vai ter que receber uma medicação para ficar dormindo um pouco (sedado), e envolve raios-X porém essa dose de radiação é segura.

#### FORMA DE ACOMPANHAMENTO E ASSISTÊNCIA:

A senhora será acompanhada, e também o seu bebê, por uma equipe completa de especialistas, como já explicamos antes, médicos obstetras, pediatras, neurologistas, infectologistas, geneticistas, fisioterapeutas, terapeutas ocupacionais, psicólogos, a depender do caso. Seu pré-natal está garantido seguindo todas as normas do ministério da Saúde e seu parto também deve ser assistido na maternidade de referência. Se os exames não mostrarem

problemas para o bebê ele vai de qualquer jeito ser acompanhado no primeiro ano de vida, e se houver qualquer suspeita ou problema os outros especialistas serão agendados.

#### GARANTIA DE ESCLARECIMENTO, LIBERDADE DE RECUSA E GARANTIA DE SIGILO:

A senhora será esclarecida sobre a pesquisa em qualquer aspecto que desejar. Além disso, é livre para se recusar a participar, retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não irá acarretar qualquer penalidade ou perda de benefícios. A senhora também pode recusar algum teste ou procedimento e mesmo assim continuar na pesquisa se assim desejar.

O(s) pesquisador(es) irá(ão) tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo (segredo). Seu nome ou o material que indique a sua participação não será liberado sem a sua permissão. A senhora não será identificada em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo. Uma cópia deste consentimento informado será arquivada.

#### CUSTOS DA PARTICIPAÇÃO, RESSARCIMENTO E INDENIZAÇÃO POR EVENTUAIS DANOS:

A participação no estudo não acarretará custos para a senhora. Para ir para ao IPESQ a senhora receberá vale-transporte.

#### DECLARAÇÃO DA PARTICIPANTE OU DO RESPONSÁVEL PELA PARTICIPANTE:

Eu, \_\_\_\_\_ fui informada (o) dos objetivos da pesquisa acima, de maneira clara e detalhada, e esclareci minhas dúvidas. Sei que em qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão, se assim o desejar. As pesquisadoras Adriana Suely de Oliveira Melo e Melania Maria Ramos de Amorim certificaram-me de que todos os dados desta pesquisa serão confidenciais.

Também sei que caso existam gastos adicionais, serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa. Em caso de dúvidas poderei chamar as pesquisadoras pelo telefone (83) 3321-0607. Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

---

Nome	Assinatura do Participante	Data
------	----------------------------	------

---

Nome	Assinatura do Pesquisador	Data
------	---------------------------	------

---

Nome	Assinatura da Testemunha	Data
------	--------------------------	------

## APÊNDICE 3

IPESQ

**TERMO DE ASSENTIMENTO INFORMADO  
PARA PACIENTES COM IDADES MENORES DE DEZOITO ANOS**

---

Este formulário de assentimento informado é para pacientes com idades menores de dezoito anos, atendidas no ISEA, que participarão como sujeitos da pesquisa intitulada: **ASSOCIAÇÃO ENTRE INFECÇÃO VIRAL POR ZIKA NA GRAVIDEZ E INFECÇÃO CONGÊNITA EM CAMPINA GRANDE – PARAÍBA.**

**Coordenador geral do projeto:** Profa. Dra. Melania Maria Ramos de Amorim

**Local de realização:** IPESQ (Campina Grande – PB)

**Nome da paciente:** \_\_\_\_\_

Fazemos parte da Pós-Graduação (Mestrado) do IMIP e o motivo que nos leva a estudar o problema é o aumento do número de casos microcefalia em bebês cujas mães apresentaram Zika durante a gravidez. Microcefalia é uma cabeça pequena com um cérebro pequeno, que pode cursar com problemas mentais, inclusive de inteligência e de aprendizagem e atraso do desenvolvimento. Outros problemas podem estar associados e nós queremos estudar exatamente quais problemas e complicações podem resultar dessa infecção por Zika, para mães e bebês. Queremos saber também qual o período da gravidez em que o risco de microcefalia é maior, caso a gestante tenha Zika.

O(s) procedimento(s) para coleta de dados: se a senhora apresentar exantema (pele vermelha, “pipocada”) em qualquer momento na gravidez, vai ser convidada para participar da pesquisa e caso ainda esteja grávida serão realizados exames de ultrassonografia e em alguns casos ressonância magnética. Também vamos colher seu sangue para exames. Se houver suspeita de complicações para o bebê como microcefalia ou outras malformações, será realizado um teste para ver se existe Zika vírus no líquido amniótico, além de colher exames da placenta, do sangue do cordão umbilical e da urina do bebê. Se por acaso algum bebê morrer dentro da barriga ou depois de nascer e tiver suspeita de infecção por Zika nós também vamos colher pedacinhos de tecido do corpo, que não vão alterar o aspecto do bebê. Para

confirmar microcefalia vai ser necessário fazer um exame chamado tomografia no bebê que tiver uma cabeça menor ou igual a 32 centímetros (perímetro cefálico). O bebê que tiver microcefalia terá ainda seu crescimento e seu desenvolvimento acompanhados no primeiro ano de vida. Os bebês que nasceram sem microcefalia também serão acompanhados através de entrevista por telefone e quando necessário realizaram exames como ultrassonografia transfontanela e abdominal, ecocardiografia, sorologia para Zika, tomografia e/ou ressonância magnética.

#### DESCONFORTOS E RISCOS E BENEFÍCIOS:

Como benefício principal a senhora e o seu bebê serão acompanhados por uma equipe especializada formada por obstetras, fisioterapeutas, pediatras e neurologistas, além do apoio de infectologistas e profissionais que fazem exames de laboratório e de ultrassonografia, ressonância e tomografia. Outros especialistas podem se envolver se houver necessidade. Como desconforto tem a sua ida até o IPESQ para realização dos exames durante a gravidez. Precisaremos do seu sangue para os exames, mais ou menos uns 5ml, o que vai ser obtido por uma punção com agulha que pode doer um pouco e poucas vezes deixar manchas. Ultrassonografia e ressonância na gravidez não envolvem risco para o bebê, mas a ressonância pode incomodar um pouco pelo barulho e por você ficar dentro do aparelho. O exame do líquido amniótico chamado amniocentese pode ter como risco perder o bebê (menos de 1%), mas você terá toda a assistência caso concorde em fazer o exame, que somente será realizado em casos específicos como microcefalia e outras malformações junto com outros exames para avaliar as causas, genéticas ou infecciosas, além do Zika vírus. Colher exame do cordão umbilical não tem risco para o bebê e somente será feito depois de 3min do nascimento para que o sangue dentro da placenta volte para o bebê. Outros exames serão necessários se o bebê tiver suspeita de infecção por Zika como exame do fundo de olho que é feito por um médico oftalmologista e não envolve riscos, apenas um ligeiro desconforto para a senhora segurar o bebê. A tomografia só é realizada se houver suspeita de microcefalia ou algum problema neurológico e aí seu bebê vai ter que receber uma medicação para ficar dormindo um pouco (sedado), e envolve raios-X porém essa dose de radiação é segura.

#### FORMA DE ACOMPANHAMENTO E ASSISTÊNCIA:

A senhora será acompanhada, e também o seu bebê, por uma equipe completa de especialistas, como já explicamos antes, médicos obstetras, pediatras, neurologistas, infectologistas, geneticistas, fisioterapeutas, terapeutas ocupacionais, psicólogos, a depender do caso. Seu pré-natal está garantido seguindo todas as normas do ministério da Saúde e seu parto também deve ser assistido na maternidade de referência. Se os exames não mostrarem problemas para o bebê ele vai de qualquer jeito ser acompanhado no primeiro ano de vida, e se houver qualquer suspeita ou problema os outros especialistas serão agendados.

#### GARANTIA DE ESCLARECIMENTO, LIBERDADE DE RECUSA E GARANTIA DE SIGILO:

A senhora será esclarecida sobre a pesquisa em qualquer aspecto que desejar. Além disso, é livre para se recusar a participar, retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não irá acarretar qualquer penalidade ou perda de benefícios. A senhora também pode recusar algum teste ou procedimento e mesmo assim continuar na pesquisa se assim desejar.

O(s) pesquisador(es) irá(ão) tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo (segredo). Seu nome ou o material que indique a sua participação não será liberado sem a sua permissão. A senhora não será identificada em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo. Uma cópia deste consentimento informado será arquivada.

#### CUSTOS DA PARTICIPAÇÃO, RESSARCIMENTO E INDENIZAÇÃO POR EVENTUAIS DANOS:

A participação no estudo não acarretará custos para a senhora. Para ir para ao IPESQ a senhora receberá vale-transporte como também será ressarcida por algum dano além de ser atendida por uma equipe multidisciplinar.

#### DECLARAÇÃO DA PARTICIPANTE OU DO RESPONSÁVEL PELA PARTICIPANTE:

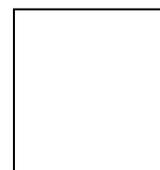
Eu, \_\_\_\_\_ fui informada (o) dos objetivos da pesquisa acima, de maneira clara e detalhada, e esclareci minhas dúvidas. Sei que em qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão, se assim o desejar. As pesquisadoras Adriana Suely de Oliveira Melo e Melania Maria Ramos de Amorim certificaram-me de que todos os dados desta pesquisa serão confidenciais.

Também sei que caso existam gastos adicionais, serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa. Em caso de dúvidas poderei chamar as pesquisadoras pelo telefone (83) 3321-0607. Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Campina Grande, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_.

\_\_\_\_\_  
Assinatura da menor

\_\_\_\_\_  
Impressão Digital



(caso necessário)

APÊNDICE 4  
**FORMULÁRIO DE COLETA DE DADOS**

**ASSOCIAÇÃO ENTRE INFECÇÃO VIRAL POR ZIKA NA GRAVIDEZ E  
INFECÇÃO CONGÊNITA EM CAMPINA GRANDE – PARAÍBA**

Formulário nº.   
Data:

Pesquisador: \_\_\_\_\_

### 1 IDENTIFICAÇÃO

Nome: \_\_\_\_\_

Data de Nascimento:

Endereço: \_\_\_\_\_

Ponto de referência: \_\_\_\_\_

Telefone: - /

Data de admissão:

### 2 VARIÁVEIS BIOLÓGICAS

Idade: Idade:  anos

Estado Nutricional: Baixo peso Adequado Sobrepeso Obesidade

Peso:  gramas

Altura:  centímetros

IMC:

### 3 VARIÁVEIS SOCIODEMOGRÁFICAS

Procedência: Zona urbana Zona rural

Anos de estudo \_\_\_\_\_

Renda:

Pessoa	Parentesco com a gestante	Idade	Renda no <u>mês</u> <u>passado</u>
1			
2			
3			
4			
5			
6			

7			
8			
9			
10			

**(incluir aposentadoria, salário e auxílios do governo)**

Renda total:  Número de pessoas

RENDA FAMILIAR *PER CAPITA*

Moradia:  Casa  Apartamento  Outro tipo \_\_\_\_\_

Ocupação: 1.  Sim 2.  Não Qual \_\_\_\_\_

Transporte: 1.  2. Carro  3. Ônibus  4. Nenhum  5. Outro tipo \_\_\_\_\_

Contato com *Aedes aegypti*: 1.  Sim 2.  Não

Estado civil: 1.  Com companheiro 2.  Sem companheiro

#### 4 VARIÁVEIS OBSTÉTRICAS

Número de Gestações (parto ou aborto):

Quantas vezes pariu:

Idade gestacional:  semanas

Presença de comorbidades: 1.  Sim 2.  Não Qual \_\_\_\_\_

Uso de medicamentos: 1.  Sim 2.  Não Qual \_\_\_\_\_

Uso de vacinas durante a gravidez: 1.  Sim 2.  Não Qual \_\_\_\_\_

#### 5 VARIÁVEIS DA ASSISTÊNCIA PRÉ-NATAL

Número de consultas:

Orientação pré-natal: 1.  Sim 2.  Não

#### 6 INFORMAÇÕES SOBRE A INFECÇÃO PELO ZIKA VÍRUS OU PRESENÇA DE EXANTEMA

Idade gestacional em que ocorreu:  semanas

Data do início do exantema: //

Duração do exantema:  dias

##### Local de início do exantema:

Cabeça/pescoço  Tronco  Membros superiores  Membros inferiores  
 Difuso por todo corpo

##### Local que se espalhou o exantema Local que se espalhou o exantema:

Cabeça/pescoço  Tronco  Membros superiores  Membros inferiores  
 Difuso por todo corpo  Não foi espalhado

Presença de outros sinais e sintomas tais como:

Febre  Prurido  Tosse  Coriza  Cefaléia  Mialgia  Artralgia  
 Linfadenopatia  Hiperemia conjuntival  Vômitos  Dor retroorbital

Outros \_\_\_\_\_

### 7 Variáveis do parto e desfechos perinatais:

Idade gestacional no parto: Idade gestacional:  semanas

Tipo de parto:  Cesárea  Normal

Indicação de interrupção da gravidez ou antecipação do parto: 1.  Sim 2.  Não

Aspecto do líquido amniótico: \_\_\_\_\_

Condições ao nascimento: \_\_\_\_\_

Presença de malformações: 1.  Sim 2.  Não Quais \_\_\_\_\_

Peso ao nascer: \_\_\_\_\_

Escores de Apgar 1':

Escores de Apgar 5':

Escores de Apgar 10':

Perímetro cefálico:  cm

Perímetro torácico:  cm

Perímetro abdominal:  cm

Necessidade de reanimação neonatal: 1.  Sim 2.  Não

Internação em UTI: 1.  Sim 2.  Não

Convulsões neonatais: 1.  Sim 2.  Não

Hepatoesplenomegalia: 1.  Sim 2.  Não

Morbidade e mortalidade neonatal precoce: 1.  Sim 2.  Não \_\_\_\_\_

Idade em dias em caso de óbito: \_\_\_\_\_

### 8 Variáveis do recém-nascido acompanhado no primeiro ano de vida:

Parâmetros de crescimento e desenvolvimento neuropsicomotor:

Frequência de convulsões: \_\_\_\_\_

Hipotonia acentuada: 1.  Sim 2.  Não

Hiporreflexia: 1.  Sim 2.  Não

**ASSOCIAÇÃO ENTRE INFECÇÃO VIRAL POR ZIKA NA GRAVIDEZ E  
INFECÇÃO CONGÊNITA EM CAMPINA GRANDE – PARAÍBA**

Formulário nº.   
Data: //

Pesquisador: \_\_\_\_\_

Nome: \_\_\_\_\_ Cod: \_\_\_\_\_

**Características ecográficas:**

Perímetro cefálico:

Microcefalia: 1  Sim 2.  Não

Calcificações: 1  Sim 2.  Não

Ventriculomegalia: 1  Sim 2.  Não

Hipoplasia de cerebelo: 1  Sim 2.  Não

Hipoplasia do vermis cerebelar: 1  Sim 2.  Não

Artrogripose: 1  Sim 2.  Não

Crescimento fetal: 1  Adequado 2.  Restrito

Líquido amniótico: 1. Normal  2. Aumentado  3. Reduzido

Outros achados: \_\_\_\_\_

**Achados da ressonância magnética:**

Fossa posterior: 1  Sim 2.  Não

Ausência de estruturas: 1  Sim 2.  Não

Aspecto de migração neuronal:

Aspecto do corpo caloso:

Aspecto de sulcação:

Outros achados:

**Achados da ecocardiografia fetal:**

Ecocardiografia – alteração funcional: 1  Sim 2.  Não

Ecocardiografia – alteração estrutural: 1  Sim 2.  Não

Alteração presente: \_\_\_\_\_

**ASSOCIAÇÃO ENTRE INFECÇÃO VIRAL POR ZIKA NA GRAVIDEZ E  
INFECÇÃO CONGÊNITA EM CAMPINA GRANDE – PARAÍBA**

Formulário nº.   
Data: //

Pesquisador: \_\_\_\_\_

Nome: \_\_\_\_\_ Cod: \_\_\_\_\_

PCR positivo para Zika no líquido amniótico: 1  Sim 2.  Não

PCR positivo para Zika no sangue: 1  Sim 2.  Não

PCR positivo para Zika na urina: 1  Sim 2.  Não

**Exames laboratoriais:**

Sorologia positiva para Zikavírus:  IgG  IgM

Sorologia positiva para Dengue:  IgG  IgM

Sorologia positiva para Chikungunya:  IgG  IgM

**STORCH:**

Sorologia positiva para Sífilis:  IgG  IgM

Sorologia positiva para Toxoplasmose:  IgG  IgM

Sorologia positiva para Rubéola:  IgG  IgM

Sorologia positiva para Citomegalovírus:  IgG  IgM

Sorologia positiva para Herpes:  IgG  IgM

Eritrograma: Hb ,  Hcto ,

Transaminases: AST ,  ALT ,

Bilirrubinas: DIRETA ,  INDIRETA ,

Uréia: ,

Creatinina: ,

DHL: ,

**ANEXOS****Anexo 1 - PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

FUNDAÇÃO DE APOIO AO  
ENSINO, À PESQUISA E À  
EXTENSÃO - FURNE

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** ASSOCIAÇÃO ENTRE INFECÇÃO VIRAL POR ZIKA NA GRAVIDEZ E INFECÇÃO CONGÊNITA EM CAMPINA GRANDE e PARAÍBA

**Pesquisador:** Melania Maria Ramos de Amorim

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 52888616.4.0000.5693

**Instituição Proponente:** IPESQ - Instituto Professor Joaquim Amorim Neto de Desenvolvimento,

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 1.452.278

**Apresentação do Projeto:**

O projeto em análise “Associação entre Infecção Viral por Zika na Gravidez e Infecção Congênita em Campina Grande-Paraíba” integra uma rede de investigações científicas no cenário nacional, e em vários países do mundo que buscam ir além da relação causal, mas determinar a associação entre a infecção por Zika vírus durante a gravidez e os achados emergentes que incluem não somente microcefalia - malformação em que os bebês nascem com o crânio menor do que o normal, com perímetro cefálico igual ou inferior a 33 centímetros-, mas é possível que exista uma relação da infecção por ZIKV com outros desfechos neonatais negativos, como complicações neurológicas, malformações em outros órgãos, convulsões neonatais, retardo do desenvolvimento neuropsicomotor e sequelas no primeiro ano de vida. Conforme dados dos pesquisadores, em outubro de 2015, os órgãos de vigilância epidemiológica do Brasil notificaram a detecção de um aumento anormal de casos de microcefalia, tanto em estabelecimentos públicos de saúde quanto em privados, nos estados do Nordeste do Brasil, especialmente em Pernambuco, as puérperas tinham em comum a história de “rash” cutâneo no primeiro trimestre da gestação. Contudo, no final de novembro de 2015, o Ministério da Saúde estabeleceu que o considerável aumento, em várias regiões do país, das ocorrências da má-formação em bebês estaria associadas ao Zika vírus, transmitido pelo mosquito *Aedes aegypti*. As pesquisadoras lembram que os primeiros relatos

**Endereço:** Avenida Presidente Getúlio Vargas, 867

**Bairro:** PRATA

**CEP:** 58.400-585

**UF:** PB

**Município:** CAMPINA GRANDE

**Telefone:** (83)3322-6136

**E-mail:** [ffurne@uol.com.br](mailto:ffurne@uol.com.br)

FUNDAÇÃO DE APOIO AO  
ENSINO, À PESQUISA E À



EXTENSÃO - FURNE

Continuação do Parecer: 1.452.278

comprovando a presença de Zika vírus no líquido amniótico foram feitos nesta cidade, pela pesquisadora presidente do IPESQ, em parceria com a Fiocruz, tendo sido aqui documentados também em parceria com pesquisadores internacionais os padrões ecográficos e de ressonância magnética dos casos suspeitos de acometimento fetal. Segundo as pesquisadoras, até 12 de dezembro de 2015, foi notificado à Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde (SVS/MS) um total de 2.401 casos suspeitos de microcefalia relacionada à infecção pelo Vírus Zika, identificados em 549 municípios distribuídos em 20 Unidades da Federação. Do total de casos notificados, 2.165 encontram-se em investigação, 134 foram confirmados e 102 tiveram diagnóstico descartado para vigilância. De acordo com a análise preliminar da investigação, conduzida pelas autoridades de saúde do país, o maior risco de microcefalia ou anomalias congênitas em recém-nascidos está associado à infecção pelo ZIKV no primeiro trimestre da gravidez. Diante do exposto, o objetivo do estudo é determinar a associação entre a infecção viral por ZIKV e a síndrome de infecção congênita por Zika, bem como os desfechos gestacionais, perinatais, neonatais e no primeiro ano de vida em Campina Grande/Paraíba. De modo que as pesquisadoras partem da seguinte hipótese: existe uma síndrome de infecção congênita por Zika vírus, caracterizada por diversas alterações a depender da idade gestacional no momento da infecção, incluindo microcefalia, complicações neurológicas e malformações em outros órgãos, convulsões neonatais, retardo do desenvolvimento neuropsicomotor e sequelas no primeiro ano de vida. O risco de malformações fetais é maior até a 20ª semana e o risco para o feto volta a aumentar no final da gestação devido ao risco de transmissão vertical. O estudo quanto ao método é observacional do tipo coorte, retrospectivo e prospectivo, a ser realizado pelo Instituto de Pesquisa professor Joaquim Amorim (IPESQ) e no Instituto de Saúde Elpidio de Almeida (ISEA) na cidade de Campina Grande/PB, no período de janeiro de 2016 a dezembro de 2017. A amostra será composta por mulheres grávidas com história de exantema ou suspeita de infecção por Zika vírus durante a gravidez (ou casos confirmados quando da existência de sorologia eficiente), mulheres grávidas com o diagnóstico de microcefalia fetal à ultrassonografia e casos de recém-nascidos com diagnósticos de microcefalia ou suspeita de transmissão vertical, o levantamento será realizado a partir dos casos nos municípios do estado da Paraíba envolvidos na pesquisa.

**Objetivo da Pesquisa:**

Primários: determinar a associação entre infecção viral por Zika vírus e síndrome de infecção congênita por Zika, bem como os desfechos gestacionais, perinatais, neonatais e no primeiro ano de vida em Campina Grande – Paraíba. Em uma população de mulheres que engravidaram e tiveram parto ou aborto em 2015e 2016:

**Endereço:** Avenida Presidente Getúlio Vargas, 867

**Bairro:** PRATA

**CEP:** 58.400-585

**UF:** PB

**Município:** CAMPINA GRANDE

**Telefone:** (83)3322-6136

**E-mail:** ffurne@uol.com.br

FUNDAÇÃO DE APOIO AO  
ENSINO, À PESQUISA E À



EXTENSÃO - FURNE

Continuação do Parecer: 1.452.278

Secundários:

a) Determinar a frequência de infecção pelo Zika vírus por critérios clínicos e laboratoriais (PCR vírus em sangue ou urina e/ou sorologia):

- Desenvolver teste rápido para Zika vírus;
- Sequenciar o genoma viral para determinar se existem diferentes cepas do mesmo vírus, identificar linhagens mais agressivas e descrever o padrão de infecção.
- Determinar a frequência de microcefalia congênita.
- Determinar a frequência de microcefalia congênita associada ao Zika vírus.
- Determinar o risco absoluto e o risco relativo de microcefalia associada ao Zika vírus.
- Determinar a frequência de síndrome de infecção congênita por Zika vírus, incluindo não apenas microcefalia, mas outros achados como artrogripose, microcalcificações e achados que podem vir a ser descritos.
- Determinar o risco absoluto e o risco relativo de síndrome de infecção congênita por Zika vírus. b) Em mulheres com achados característicos de infecção por Zika vírus ou história de exantema na gravidez, parto ou puerpério:
  - Descrever as características biológicas (idade, estado nutricional), sociodemográficas (procedência, escolaridade, profissão, moradia, transporte, contato com o *Aedes aegypti*), obstétricas (número de gestações, paridade) e da assistência pré-natal (número de consultas, orientação pré-natal).
  - Determinar a idade gestacional na qual ocorreu o diagnóstico de infecção por zika vírus e /ou a história de rash cutâneo.

- Descrever o conhecimento e a adoção de medidas preventivas à época da infecção documentada pelo Zika vírus ou do exantema.
  
- Descrever se foi documentada história de picada pelo mosquito, tempo de desenvolvimento da doença, manifestações clínicas, duração e evolução, com presença ou não de alterações neurológicas.
  
- Descrever os resultados dos testes sorológicos para Zika vírus, dengue, chikungunya e STORCH. - Avaliar a evolução da gravidez (aborto, parto prematuro) e a presença de comorbidades.
  
- Avaliar a atenção pré-natal (número de consultas, época de realização da ultrassonografia, número de ultrassonografias, exames pré-natais e vacinas).
  
- Realizar acompanhamento ecográfico, descrever os achados de morfologia craniana e cerebral, morfologia fetal, monitorar o crescimento fetal e determinar a frequência de microcefalia fetal, restrição do crescimento fetal e presença de outras malformações e anormalidades do exame

**Endereço:** Avenida Presidente Getúlio Vargas, 867

**Bairro:** PRATA

**CEP:** 58.400-585

**UF:** PB

**Município:** CAMPINA GRANDE

**Telefone:** (83)3322-6136

**E-mail:** ffurne@uol.com.br

FUNDAÇÃO DE APOIO AO  
ENSINO, À PESQUISA E À



EXTENSÃO - FURNE

Continuação do Parecer: 1.452.278

ecográfico.

- Descrever os achados de ressonância magnética fetal nos casos de microcefalia.
- Realizar ecocardiograma fetal e descrever seus achados nos casos de microcefalia.
- Pesquisar Zika vírus por PCR no líquido amniótico, no sangue e na urina em casos confirmados de microcefalia e outros achados sugestivos de infecção congênita por zika vírus (microcalcificações, artrogripose e outros achados que podem vir a ser descritos).
- Nas gestantes submetidas à amniocentese, pesquisar adicionalmente no líquido amniótico outras viroses (dengue, chikungunya), STORCH e cariótipo, sempre que indicado.
- Descrever os desfechos maternos e perinatais: idade gestacional no parto, tipo de parto, indicação de interrupção da gravidez (antecipação do parto), aspecto do líquido amniótico, condições ao nascimento (vivo ou morto), presença de malformações, peso ao nascer, escores de Apgar, perímetro cefálico, perímetro torácico, perímetro abdominal, necessidade de reanimação neonatal, internação em UTI, convulsões neonatais, hepatoesplenomegalia, morbidade e mortalidade neonatal precoce.
- Descrever os resultados dos testes sorológicos para Zika vírus, dengue, chikungunya e STORCH nos conceptos. - Descrever os achados macroscópicos e histopatológicos da placenta.
- Descrever os achados histopatológicos de core-biópsia de tecidos (fígado, cérebro e outros) nos natimortos e neomortos.
- Realizar exame oftalmológico em todos os recém-nascidos afetados.
- Realizar os exames laboratoriais propostos pelo MS Brasil em todos os recém nascidos afetados: hemograma, transaminases, bilirrubinas, ureia, creatinina, DHL, PCR.
- Realizar ultrassonografia de abdome e ecocardiograma em todos os recém nascidos afetados. - Realizar tomografia computadorizada em todos os bebês com suspeita diagnóstica de microcefalia (perímetro cefálico menor ou igual que 32cm).
- Descrever a evolução neonatal tardia.
- Determinar a associação entre idade gestacional na infecção e os desfechos neonatais.

- Determinar se existe transmissão vertical nos casos de Zika vírus documentados no período antecedendo o parto.
- Determinar se existe associação de transmissão por Zika vírus e aleitamento materno.
- Descrever os parâmetros de crescimento e desenvolvimento no primeiro ano de vida.
- Monitorar a frequência de convulsões, características e quaisquer complicações neurológicas no primeiro ano de vida.
- Determinar a associação entre idade gestacional na infecção e crescimento, desenvolvimento e

**Endereço:** Avenida Presidente Getúlio Vargas, 867

**Bairro:** PRATA

**CEP:** 58.400-585

**UF:** PB

**Município:** CAMPINA GRANDE

**Telefone:** (83)3322-6136

**E-mail:** ffurne@uol.com.br

FUNDAÇÃO DE APOIO AO  
ENSINO, À PESQUISA E À



EXTENSÃO - FURNE

Continuação do Parecer: 1.452.278

complicações neurológicas no primeiro ano de vida.

c) Nos casos já documentados de microcefalia

-Descrever as características maternas biológicas (idade, estado nutricional), sociodemográficas

(procedência, escolaridade, moradia, transporte, contato com o *Aedes aegypti*), obstétricas (número de

gestações, paridade) e da assistência pré-natal (número de consultas, orientação pré-natal);

-Determinar a idade gestacional na qual ocorreu o diagnóstico de infecção por Zika vírus e /ou a história de

exantema.

-Descrever o conhecimento e a adoção de medidas preventivas à época da infecção documentada pelo zika vírus ou do exantema.

-Descrever se foi documentada história de picada pelo mosquito, tempo de desenvolvimento da doença,

manifestações clínicas, duração e evolução, com presença ou não de alterações neurológicas.

-Descrever os resultados dos testes sorológicos para Zika vírus, dengue, chikungunya e STORCH nos

conceptos e suas mães.

-Avaliar a presença de comorbidades na gravidez.

-Avaliar a atenção pré-natal (número de consultas, época de realização da ultrassonografia, número de ultrassonografias, exames pré-natais e vacinas).

-Pesquisar Zika vírus no sangue e na urina da mãe, no sangue e na urina dos recém-nascidos e em amostras de placenta ou tecidos (natimortos e neomortos).

-Descrever os desfechos maternos e perinatais: idade gestacional no parto, tipo de parto, indicação de interrupção da gravidez (antecipação do parto), aspecto do líquido amniótico, condições ao nascimento (vivo ou morto), presença de outras malformações, peso ao nascer, escores de Apgar, perímetro cefálico, perímetro torácico, perímetro abdominal, hepatoesplenomegalia, necessidade de reanimação neonatal, internação em UTI, morbidade e mortalidade neonatal precoce.

-Descrever os achados macroscópicos e histopatológicos da placenta.

-Descrever os achados histopatológicos de core-biópsia de tecidos (fígado, cérebro e outros) nos natimortos. -Realizar exame oftalmológico em todos os recém-nascidos afetados. -Realizar os exames laboratoriais propostos pelo MS Brasil em todos os recém nascidos afetados: hemograma, transaminases, bilirrubinas, ureia, creatinina, DHL, PCR. -Realizar ultrassonografia de abdome e ecocardiograma em todos os recém nascidos afetados.

-Descrever os achados tomográficos.

**Endereço:** Avenida Presidente Getúlio Vargas, 867

**Bairro:** PRATA

**CEP:** 58.400-585

**UF:** PB

**Município:** CAMPINA GRANDE

**Telefone:** (83)3322-6136

**E-mail:** ffurne@uol.com.br

FUNDAÇÃO DE APOIO AO  
ENSINO, À PESQUISA E À



EXTENSÃO - FURNE

Continuação do Parecer: 1.452.278

- Descrever a evolução neonatal tardia.
  - Determinar a associação entre idade gestacional na infecção e os desfechos neonatais.
  - Descrever os parâmetros de crescimento e desenvolvimento no primeiro ano de vida.
  - Monitorar a frequência de convulsões, características e complicações neurológicas no primeiro ano de vida.
  - Determinar a associação entre idade gestacional na infecção e crescimento, desenvolvimento e complicações neurológicas no primeiro ano de vida. - Realizar intervenção transdisciplinar para estimulação precoce com apoio de fisioterapia, fonoaudiologia, terapia ocupacional, neurologia e pediatria.
- d) Em recém-nascidos de um grupo controle de base hospitalar sem microcefalia, pareados por data do nascimento na proporção de 1:2:
- Descrever as características maternas biológicas (idade, estado nutricional), sociodemográficas (procedência, escolaridade, moradia, transporte, contato com o *Aedes aegypti*), obstétricas (número de gestações, paridade) e da assistência pré-natal (número de consultas, orientação pré-natal).
  - Determinar a frequência de infecção confirmada por Zika vírus ou exantema cutâneo durante a gravidez. - Descrever o conhecimento e a adoção de medidas preventivas para o mosquito *Aedes aegypti* durante a gravidez.
  - Descrever os resultados dos testes sorológicos maternos e neonatais para Zika vírus, dengue, chikungunya e STORCH. - Descrever os resultados de PCR para Zika vírus no sangue e na urina de mães e recém-nascidos. - Avaliar a presença de comorbidades na gravidez.
  - Descrever os desfechos maternos e perinatais: idade gestacional no parto, tipo de parto, indicação de interrupção da gravidez (antecipação do parto), aspecto do líquido amniótico, condições ao nascimento (vivo ou morto), presença de malformações, achados sugestivos de infecção congênita, hepatoesplenomegalia, peso ao nascer, escores de Apgar, perímetro cefálico, perímetro torácico, perímetro abdominal, necessidade de reanimação neonatal, internação em UTI, convulsões neonatais, morbidade e mortalidade neonatal precoce. - Realizar exame oftalmológico neonatal.

- Complementar propedêutica específica em qualquer caso suspeito de infecção: exames laboratoriais e ultrassonografia.

- Determinar a associação entre infecção por Zika vírus e microcefalia, ajustada por idade gestacional. - Descrever a evolução neonatal tardia. - Descrever os parâmetros de crescimento, desenvolvimento e complicações neurológicas no primeiro ano de vida.

**Endereço:** Avenida Presidente Getúlio Vargas, 867

**Bairro:** PRATA

**CEP:** 58.400-585

**UF:** PB

**Município:** CAMPINA GRANDE

**Telefone:** (83)3322-6136

**E-mail:** ffurne@uol.com.br

FUNDAÇÃO DE APOIO AO  
ENSINO, À PESQUISA E À



EXTENSÃO - FURNE

Continuação do Parecer: 1.452.278

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Benefícios: Como benefício principal a senhora e o seu bebê serão acompanhados por uma equipe especializada formada por obstetras, fisioterapeutas, pediatras e neurologistas, além do apoio de infectologistas e profissionais que fazem exames de laboratório e de ultrassonografia, ressonância e tomografia. Outros especialistas podem se envolver se houver necessidade. Riscos: Como desconforto tem a sua ida até o IPESQ para realização dos exames durante a gravidez. Precisaremos do seu sangue para os exames, mais ou menos uns 5ml, o que vai ser obtido por uma punção com agulha que pode doer um pouco e poucas vezes deixar manchas. Ultrassonografia e ressonância na gravidez não envolvem risco para o bebê, mas a ressonância pode incomodar um pouco pelo barulho e por você ficar dentro do aparelho. A coleta, armazenamento e transporte do material biológico serão realizados obedecendo as instruções do Ministério da Saúde publicadas no Protocolo de vigilância e resposta à ocorrência de microcefalia relacionada à infecção pelo vírus Zika (Brasil, 2015). Onde o material biológico será armazenado a -70 graus e o que não for utilizado serão descartados em lixo contaminado. A coleta do material biológico (sangue, placenta, líquido amniótico e urina) será realizada no IPESQ. As entrevistas e coletas dos dados serão realizadas por entrevistadores de nível universitário, treinados pela equipe de pesquisadores do IPESQ. Será realizada coleta do líquido amniótico na gravidez através de amniocentese guiada por ultrassonografia utilizando-se agulha com ponta hiperrefringente de 22 g. Será retirada cerca de 10 ml de líquido amniótico que será mantido a -20° até ser enviado para o laboratório de Flavovírus da FioCruz – Rio de Janeiro. O exame do líquido amniótico chamado amniocentese pode ter como risco perder o bebê (menos de 1%), mas você terá toda a assistência caso concorde em fazer o exame além da assistência da equipe multidisciplinar você também será indenizada pela pesquisadora, caso ocorra algum dano decorrente destes procedimentos. Esse exame somente será realizado em casos específicos como microcefalia e outras malformações junto com outros exames para avaliar as causas, genéticas ou infecciosas, além do Zika vírus. Colher exame do cordão umbilical não tem risco para o bebê e somente será feito depois de 3min do nascimento para que o sangue dentro da placenta volte para o bebê. Outros exames serão necessários se o bebê tiver suspeita de infecção por Zika como exame do fundo de olho que é feito por um médico oftalmologista e não envolve riscos, apenas um ligeiro desconforto para a senhora segurar o bebê. A tomografia só é realizada se houver suspeita de microcefalia ou algum problema

neurológico e aí seu bebê vai ter que receber uma medicação para ficar dormindo um pouco (sedado), e envolve raios-X porém essa dose de radiação é segura.

**Endereço:** Avenida Presidente Getúlio Vargas, 867

**Bairro:** PRATA

**CEP:** 58.400-585

**UF:** PB

**Município:** CAMPINA GRANDE

**Telefone:** (83)3322-6136

**E-mail:** ffurne@uol.com.br

FUNDAÇÃO DE APOIO AO  
ENSINO, À PESQUISA E À



EXTENSÃO - FURNE

Continuação do Parecer: 1.452.278

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A realização da pesquisa em seu caráter de emergência justifica-se por várias razões, especialmente diante do quadro de epidemia nacional das infecções causadas pelo Vírus ZIKA, Dengue e Chikungunya, transmitidas pelo mosquito *Aedes Aegypti*, constituindo-se um grave problema de saúde pública no Brasil; e sobretudo diante da nova epidemia com a detecção de milhares de casos de microcefalia congênita coincidindo com o nascimento, seis meses depois, de conceptos cujas mães tiveram infecção por Zika Vírus documentada no primeiro trimestre. De fato, conforme argumentos das pesquisadoras a investigação assume “singular interesse científico e epidemiológico [...] cujo método a ser aplicado consiste numa proposta inédita e de interesse excepcional acadêmico e científico, ou seja, de um estudo de coorte que se estenderá desde a gravidez ao final do primeiro ano de vida, a ser desenvolvido por uma equipe de pesquisadores experientes com vasta produção bibliográfica, dispendo de toda uma estrutura para captação e acompanhamento de gestantes e bebês com microcefalia já montada pela Secretaria Municipal de Saúde. Inicialmente, é importante observar a densidade do projeto em seus aspectos metodológicos e a complexidade ética que lhes são inerentes, o que requeria sua tramitação e apreciação direta no Conselho Nacional de Ética e Pesquisa (CONEP), contudo nosso parecer e os argumentos levantados pelo parecerista e Colegiado CEP/FURNE, pautam-se na Resolução 466/2012 do Ministério da Saúde. Primeiro, o grupo a ser observado/analizado constitui-se em: “mulheres grávidas com história de exantema ou suspeita de infecção por Zika vírus durante a gravidez (ou casos confirmados quando da existência de sorologia eficiente); mulheres grávidas com o diagnóstico de microcefalia fetal à ultrassonografia; e casos de recém-nascidos com diagnósticos de microcefalia ou suspeita de transmissão vertical; para o caso controle aninhado, serão considerados recém-nascidos sem microcefalia”. Logo, conforme Res. 466/2012 em seu item II.25 trata-se de um grupo vulnerável, ou seja, “estado de pessoas ou grupos que, por qualquer razões ou motivos, tenham sua capacidade de autodeterminação reduzida ou impedida, ou de qualquer forma estejam impedidos de opor resistência, sobretudo no que se refere ao consentimento livre e esclarecido”. Ainda, no item III, o parágrafo determina s): “considerar que as pesquisas em mulheres grávidas devem ser precedidas de pesquisas em mulheres fora do período gestacional, exceto quando a gravidez for o objeto fundamental da pesquisa.” Acreditamos, neste sentido que a pesquisa circunscreve-se nesta perspectiva a gravidez torna-se objeto fundamental

da pesquisa. Do exposto, consideramos conforme solicitado que a pesquisadora atendeu as solicitações do

**Endereço:** Avenida Presidente Getúlio Vargas, 867

**Bairro:** PRATA

**CEP:** 58.400-585

**UF:** PB

**Município:** CAMPINA GRANDE

**Telefone:** (83)3322-6136

**E-mail:** ffurne@uol.com.br

FUNDAÇÃO DE APOIO AO  
ENSINO, À PESQUISA E À



EXTENSÃO - FURNE

Continuação do Parecer: 1.452.278

CEP/FURNE.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Projeto Detalhado – apresentado

Folha de rosto- devidamente assinada e datada

Termos Institucionais- apresentados

TCLE - descrito conforme exigência da Res.466/2012.

Termo de Assentimento-descrito conforme exigência da Res.466/2012

**Recomendações:**

Expor as reformulações solicitadas e atendidas no projeto original.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Não há pendências.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

A relatoria do projeto forma do dia agendado para reunião, justifica-se diante do seu caráter emergencial.

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_P ROJETO_653553.pdf	14/03/2016 21:03:44		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEZIKAcorrigido.pdf	14/03/2016 21:02:24	Melania Maria Ramos de Amorim	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	termoassentimentozika.pdf	14/03/2016 21:01:31	Melania Maria Ramos de Amorim	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	10/03/2016 18:30:29	Melania Maria Ramos de Amorim	Aceito
Folha de Rosto	FolhadeRostoPdf.pdf	28/01/2016 00:54:21	Melania Maria Ramos de Amorim	Aceito
Declaração de	AutorizacaoArquivoISEA.pdf	27/01/2016	Melania Maria	Aceito

**Endereço:** Avenida Presidente Getúlio Vargas, 867

**Bairro:** PRATA

**CEP:** 58.400-585

**UF:** PB

**Município:** CAMPINA GRANDE

**Telefone:** (83)3322-6136

**E-mail:** ffurne@uol.com.br

FUNDAÇÃO DE APOIO AO  
ENSINO, À PESQUISA E À



EXTENSÃO - FURNE

Continuação do Parecer: 1.452.278

Instituição e Infraestrutura	AutorizacaoArquivoSEA.pdf	22:34:47	Ramos de Amorim	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	AutorizacaoSEA.pdf	27/01/2016 22:34:11	Melania Maria Ramos de Amorim	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	AutorizacaoPESQ.jpg	27/01/2016 22:33:45	Melania Maria Ramos de Amorim	Aceito
Declaração de Pesquisadores	TermoCompromissoPesquisador.pdf	26/01/2016 02:45:24	Melania Maria Ramos de Amorim	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoCEP.pdf	26/01/2016 02:38:40	Melania Maria Ramos de Amorim	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

CAMPINA GRANDE, 15 de Março de 2016

---

**Assinado por:**

**Elenilze Josefa Diniz**

**(Coordenador)**

**Endereço:** Avenida Presidente Getúlio Vargas, 867

**Bairro:** PRATA

**CEP:** 58.400-585

**UF:** PB

**Município:** CAMPINA GRANDE

**Telefone:** (83)3322-6136

**E-mail:** ffurne@uol.com.br

Página 10 de 10

**Anexo 2** - Aprovação do Projeto através do EDITAL Zika nº 14/2016 e processo de número 440488/2016-8 .



**Número do Processo:** 440488/2016-8  
**Nome:** Melania Maria Ramos de Amorim  
**Data Envio:** 25/07/2016 16:03:29  
**Setor:** COSAU/CGSAU/DABS  
**CA:** SN

#### IDENTIFICAÇÃO - PROJETO

<b>NÚMERO DO PROCESSO</b>	<b>LINHA DE FOMENTO/CHAMADA</b>
440488/2016-8	Apoio a Projetos de Pesquisa / Chamada MCTIC/FNDCT-CNPq/ MEC-CAPES/ MS-Decit / Nº 14/2016 - Prevenção e Combate ao vírus Zika
<b>COMITÊ ASSESSOR</b>	
SN - Saúde Coletiva e Nutrição	
<b>ÁREA DE CONHECIMENTO</b>	
Saúde Pública	
<b>MODALIDADE CONTRATAÇÃO</b>	<b>CA DE JULGAMENTO</b>
Individual	SN - Saúde Coletiva e Nutrição

#### DADOS DO SOLICITANTE

<b>PROPONENTE</b>	<b>CPF</b>	<b>TITULAÇÃO MÁXIMA</b>
<a href="#">Melania Maria Ramos de Amorim</a>	569.821.784-04	Doutorado
<b>DATA DE NASCIMENTO</b>	<b>SEXO</b>	<b>E-MAIL</b>
11/07/1967	Feminino	melamorim@uol.com.br
<b>END RESIDENCIAL</b>	<b>TELEFONE RESIDENCIAL</b>	<b>NACIONALIDADE</b>
Rua Neuza Borborema De Sousa, 300 - Campina Grande PB	83 - 3212695	Brasileiro
<b>FAX</b>		
<b>INSTITUIÇÃO PROPONENTE</b>		
IMIP - Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (Rua dos Coelhos, 300 Recife )		
<b>ÁREA DE ATUAÇÃO DO PROPONENTE</b>		
<ul style="list-style-type: none"><li>- Ciências da Saúde/Tocoginecologia</li><li>- Ciências da Saúde/Epidemiologia</li><li>- Ciências da Saúde/Perinatologia</li><li>- Ciências da Saúde/Cirurgia Ginecológica</li><li>- Ciências da Saúde/Cirurgia Pediátrica</li><li>- Ciências da Saúde/METODOLOGIA CIENTÍFICA</li></ul>		

#### INSTITUIÇÕES - PROJETO

<b>FUNÇÃO</b>	<b>NOME</b>
Executora/Sede	IMIP - Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira
Participante	IMIEA - Instituto da Mulher e da Infância Elpídio de Almeida
Participante	IPESQ - Instituto de Pesquisa Professor Joaquim Amorim Neto
Colaboradora	UFRJ - Universidade Federal do Rio de Janeiro
Participante	UFCG - Universidade Federal de Campina Grande
Participante	FCM - Faculdade de Ciências Médicas de Campina Grande-PB

#### DADOS GERAIS - PROJETO

<b>TÍTULO</b>		
EPIDEMIOLOGIA E VIGILÂNCIA DA SÍNDROME DE INFECÇÃO CONGÊNITA POR ZIKA VÍRUS EM CAMPINA GRANDE, PARAÍBA		
<b>SIGLA</b>	<b>DATA DE INÍCIO</b>	<b>DURAÇÃO</b>

**TEMA:**

Linha Temática VIII - Epidemiologia e vigilância em saúde

**PALAVRAS CHAVE****HOME PAGE DO PROJETO**

malformações ; zika; zika congênita; microcefalia; infecções congênitas; zika vírus;

**RESUMO**

**CENÁRIO:** a epidemia de infecção por Zika vírus em 2015 afetou várias regiões do Brasil e o Ministério da Saúde do país estabeleceu em novembro de 2015 uma ligação entre infecção por Zika vírus e os casos de microcefalia documentados inicialmente em Pernambuco, Campina Grande e depois em todo o Brasil. Até o dia 16 de julho de 2016 havia 8.571 casos suspeitos desde o início das investigações e foram confirmados 1.709 casos de microcefalia e outras alterações do sistema nervoso, o que colocou o país em estado de emergência sanitária. Todos os esforços devem ser envidados para estabelecer qual a associação da infecção por Zika vírus durante a gravidez e os achados emergentes que incluem não apenas microcefalia mas uma possível síndrome de infecção congênita por Zika. **OBJETIVOS:** determinar a associação entre infecção por Zika vírus na gravidez e síndrome de infecção congênita por Zika, bem como os desfechos gestacionais, perinatais, neonatais e nos dois primeiros anos de vida em Campina Grande ? Paraíba. **MÉTODOS:** um amplo estudo epidemiológico será realizado, compreendendo: a) uma coorte de todas as mulheres que engravidarem e receberem assistência pré-natal pelo Sistema Único de Saúde (SUS) em 2017 em Campina Grande ? Paraíba, Brasil, para determinar a frequência de infecção pelo Zika vírus e a frequência de microcefalia e outros achados que podem caracterizar uma síndrome de infecção congênita por Zika; b) uma coorte de todas as gestantes com infecção comprovada por Zika vírus; c) uma coorte de todos os recém-nascidos com síndrome de infecção congênita por Zika vírus durante os dois primeiros anos de vida; d) um estudo caso-controle de base hospitalar comparando recém-nascidos com e sem síndrome de Zika congênita na proporção 1: 2. O tamanho da amostra da coorte de gestantes foi calculado em 2.500 gestantes, estimando-se uma frequência de infecção por Zika vírus de 25% e um risco de Zika congênita em torno de 15% nos recém-nascidos. Características biológicas, sociodemográficas, obstétricas e de assistência pré-natal serão documentadas, bem como a idade gestacional em que ocorreu a infecção por Zika vírus, descrevendo-se o resultado dos testes laboratoriais para Zika e outras infecções como STORCH, dengue e chikungunya. Será avaliada a evolução da gravidez, com acompanhamento ecográfico e quando necessário, ressonância magnética fetal, realizando-se pesquisa de Zika vírus por PCR no líquido amniótico, no sangue e na urina nos casos confirmados de microcefalia e outros achados sugestivos da síndrome de infecção congênita, descrevendo-se os desfechos maternos e perinatais. Nos conceitos será realizada avaliação sorológica, avaliação oftalmológica, exames laboratoriais daqueles afetados e tomografia e ressonância magnética de todos os casos suspeitos de microcefalia e/ou acometimento neurológico. Exame histopatológico de placenta e tecidos (nos casos de natimortos e neomortos, incluindo autópsia) serão realizados, bem como pesquisa do Zika vírus em tecidos de natimortos e neomortos. Os conceitos serão acompanhados e avaliados ao nascimento, durante o período neonatal e nos dois primeiros anos de vida. Os casos confirmados de microcefalia e outras malformações sobrevivendo ao período neonatal terão acompanhamento individualizado seguindo essa mesma sequência, além de intervenção transdisciplinar visando à estimulação precoce e monitorização do crescimento e do desenvolvimento neuropsicomotor. **ANÁLISE ESTATÍSTICA:** todos os dados serão digitados em banco de dados específico criado no programa Epi-Info versão 7.2 ou superior disponível na época, e analisados em Epi-Info e Medcalc. Medidas de tendência central e de dispersão serão utilizadas para as variáveis numéricas e construídas tabelas de distribuição de frequência para as variáveis categóricas. Para avaliação da associação entre variáveis categóricas será usado o teste qui-quadrado de associação e, quando necessário, o teste exato de Fisher. Para cálculo ou estimativa do risco relativo serão utilizados a Razão de Risco (RR) no estudo de coorte e Odds Ratio (OR) no estudo caso-controle, com o intervalo de confiança a 95% (IC 95%). Análise multivariada deverá ser empregada para determinação do risco ajustado de anomalias congênitas associadas à infecção por Zika vírus. Em todas as etapas da análise o nível de significância será de 5%. **ASPECTOS ÉTICOS:** o presente estudo será submetido à aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) em Seres Humanos local, atendendo aos requisitos da resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. Todas as mulheres serão convidadas a participar e somente serão incluídas, bem como os seus conceitos, caso concordem voluntariamente, assinando um termo de consentimento livre e esclarecido.

**ETAPAS / ATIVIDADES**

DESCRIÇÃO	INICIO	PRAZO PREVISTO	CONCLUSÃO
Em uma coorte de 2.500 gestantes captadas no primeiro trimestre em 2017: 1. Determinar a frequência de infecções sintomáticas e assintomáticas por ZIKV. 2. Determinar a época de infecção por ZIKV na gravidez. 3. Determinar a frequência de anomalias fetais e neonatais em relação à infecção por ZIKV durante a gravidez. 4. Determinar os desfechos gestacionais, perinatais e neonatais associados à infecção por ZIKV durante a gravidez. 5. Determinar o papel da idade gestacional na infecção materna por ZIKV e as manifestações clínicas (p.ex. rash) na ocorrência de malformações. 6.	1º Mês	44 Meses	44º Mês

Acompanhar os recém-nascidos até o segundo ano de vida.			
Em uma coorte de gestantes com Zika: 1. Descrever características maternas. 2. Descrever a evolução da gravidez e as complicações. 3. Descrever os achados fetais e neonatais. 4. Descrever os desfechos gestacionais, perinatais e neonatais. 5. Comparar PCR e testes sorológicos.	48º Mês	1 Mês	48º Mês
Em uma coorte de neonatos com ZIKV nos dois primeiros anos de vida: 1. Descrever crescimento e desenvolvimento 2. Acompanhar amamentação. 3. Descrever complicações neurológicas e comorbidades	48º Mês	1 Mês	48º Mês
Em um estudo caso controle de neonatos com e sem Zika congênita, determinar os fatores associados com Zika congênita	1º Mês	24 Meses	24º Mês
Digitação dos dados	1º Mês	40 Meses	40º Mês
Análise dos Dados	44º Mês	2 Meses	45º Mês
Preparação dos relatórios e artigos	47º Mês	2 Meses	48º Mês

#### ÁREAS DO CONHECIMENTO - PROJETO

Saúde Pública  
Saúde Materno-Infantil

#### FUNDO SETORIAL

Fundo(s) Setorial(is) Informado(s) que possa(m) apoiar este projeto, no caso do mesmo se enquadrar na cadeia de conhecimento de um deles:

Fundo Setorial de Saúde

#### ATIVIDADE ECONÔMICA (CNAE):

Saúde humana e serviços sociais

#### DOCUMENTOS ANEXOS

Projeto de Pesquisa [http://anexosform.cnpq.br/doc/ZIKA2016/0/0689691549594719\\_01.pdf](http://anexosform.cnpq.br/doc/ZIKA2016/0/0689691549594719_01.pdf)

#### EQUIPE - PROJETO

NOME	FUNÇÃO NO PROJETO	TITULAÇÃO MÁXIMA	ÁREAS DE ATUAÇÃO	
<a href="#">Aline Silva Santos Sena</a>	Aluno de Doutorado	Mestrado	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ciências da Saúde/Saúde Materno-Infantil</li> <li>- Ciências da Saúde/Neonatologia e Pediatria</li> <li>- Ciências da Saúde/Fisioterapia Pneumofuncional</li> <li>- Ciências da Saúde/Saúde Pública</li> <li>- Ciências da Saúde/Fisioterapia Neurofuncional</li> </ul>	
CPF	DATA DE NASCIMENTO	PAÍS DE NASCIMENTO	EMAIL	NACIONALIDADE
029.341.534-01	05/06/1979	Brasil	ft.alinesena@hotmail.com	Brasileiro
NOME	FUNÇÃO NO PROJETO	TITULAÇÃO MÁXIMA	ÁREAS DE ATUAÇÃO	
<a href="#">Lorena Carneiro de Macêdo</a>	Aluno de Doutorado	Mestrado	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ciências da Saúde/Fisioterapia e Terapia Ocupacional</li> </ul>	
CPF	DATA DE NASCIMENTO	PAÍS DE NASCIMENTO	EMAIL	NACIONALIDADE

055.011.634-62	14/11/1985	Brasil	lorenacmacedo@gmail.com	Brasileiro
<b>NOME</b>	<b>FUNÇÃO NO PROJETO</b>	<b>TITULAÇÃO MÁXIMA</b>	<b>ÁREAS DE ATUAÇÃO</b>	
<a href="#">Alba Gean Medeiros Batista</a>	Aluno	Especialização - Residência médica	- Ciências da Saúde/Neurocirurgia - Ciências da Saúde/Neurologia - Ciências da Saúde/Cirurgia Traumatológica	
<b>CPF</b>	<b>DATA DE NASCIMENTO</b>	<b>PAÍS DE NASCIMENTO</b>	<b>EMAIL</b>	<b>NACIONALIDADE</b>
467.117.754-49	23/10/1966	Brasil	albagmb@yahoo.com.br	Brasileiro
<b>NOME</b>	<b>FUNÇÃO NO PROJETO</b>	<b>TITULAÇÃO MÁXIMA</b>	<b>ÁREAS DE ATUAÇÃO</b>	
<a href="#">Amilcar Tanuri</a>	Pesquisador	Doutorado	- Ciências Biológicas/Genética Molecular e de Microorganismos - Ciências Biológicas/Biologia Molecular - Ciências da Saúde/Doenças Infecciosas e Parasitárias	
<b>CPF</b>	<b>DATA DE NASCIMENTO</b>	<b>PAÍS DE NASCIMENTO</b>	<b>EMAIL</b>	<b>NACIONALIDADE</b>
706.953.007-25	04/09/1958	Brasil	atanuri@biologia.ufrj.br	Brasileiro
<b>NOME</b>	<b>FUNÇÃO NO PROJETO</b>	<b>TITULAÇÃO MÁXIMA</b>	<b>ÁREAS DE ATUAÇÃO</b>	
<a href="#">Patrícia Soares de Oliveira</a>	Aluno de Doutorado	Especialização	- Ciências da Saúde/Medicina	
<b>CPF</b>	<b>DATA DE NASCIMENTO</b>	<b>PAÍS DE NASCIMENTO</b>	<b>EMAIL</b>	<b>NACIONALIDADE</b>
097.813.638-19	17/07/1971	Brasil	patricia.fetal@gmail.com	Brasileiro
<b>NOME</b>	<b>FUNÇÃO NO PROJETO</b>	<b>TITULAÇÃO MÁXIMA</b>	<b>ÁREAS DE ATUAÇÃO</b>	
<a href="#">Alex Sandro Rolland de Souza</a>	Pesquisador	Doutorado	- Ciências da Saúde/Ginecologia e Obstetrícia - Ciências da Saúde/Ultra Sonografia Em Ginecologia e Obstetrícia - Ciências da Saúde/Medicina Fetal	
<b>CPF</b>	<b>DATA DE NASCIMENTO</b>	<b>PAÍS DE NASCIMENTO</b>	<b>EMAIL</b>	<b>NACIONALIDADE</b>
659.591.164-72	30/12/1974	Brasil	alexrolland@uol.com.br	Brasileiro
<b>NOME</b>	<b>FUNÇÃO NO PROJETO</b>	<b>TITULAÇÃO MÁXIMA</b>	<b>ÁREAS DE ATUAÇÃO</b>	
<a href="#">Marianny Assis Costa</a>	Aluno de Mestrado	Especialização - Residência médica	- Ciências da Saúde/Ginecologia e Obstetrícia - Ciências da Saúde/Gestação de Alto Risco - Ciências da Saúde/Cirurgia ginecologica - Ciências da Saúde/ULTRASSONOGRÁFIA - Ciências da Saúde/Saúde Materno-Infantil - Ciências da Saúde/Saúde Pública	
<b>CPF</b>	<b>DATA DE NASCIMENTO</b>	<b>PAÍS DE NASCIMENTO</b>	<b>EMAIL</b>	<b>NACIONALIDADE</b>
007.922.204-80	05/07/1983	Brasil	mariannyassis@hotmail.com	Brasileiro
<b>NOME</b>	<b>FUNÇÃO NO PROJETO</b>	<b>TITULAÇÃO MÁXIMA</b>	<b>ÁREAS DE ATUAÇÃO</b>	
<a href="#">Fabiana de Oliveira Melo</a>	Aluno de Mestrado	Graduação	- Ciências da Saúde/FISIOTERAPIA - Ciências da Saúde/Medicina	
<b>CPF</b>	<b>DATA DE NASCIMENTO</b>	<b>PAÍS DE NASCIMENTO</b>	<b>EMAIL</b>	<b>NACIONALIDADE</b>

CPF	DATA DE NASCIMENTO	PAÍS DE NASCIMENTO	EMAIL	NACIONALIDADE
039.005.124-18	30/04/1981	Brasil	fabiana.fisiomelo@gmail.com	Brasileiro
NOME	FUNÇÃO NO PROJETO	TITULAÇÃO MÁXIMA	ÁREAS DE ATUAÇÃO	
<a href="#">Leila Katz</a>	Pesquisador	Doutorado	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ciências da Saúde/Ginecologia e Obstetrícia</li> <li>- Ciências da Saúde/Gestação de alto risco</li> <li>- Ciências da Saúde/Terapia Intensiva em Obstetrícia</li> </ul>	
CPF	DATA DE NASCIMENTO	PAÍS DE NASCIMENTO	EMAIL	NACIONALIDADE
848.225.204-63	14/07/1973	Brasil	katzleila@gmail.com	Brasileiro
NOME	FUNÇÃO NO PROJETO	TITULAÇÃO MÁXIMA	ÁREAS DE ATUAÇÃO	
<a href="#">Jousilene de Sales Tavares</a>	Pesquisador	Doutorado	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ciências da Saúde/Educação Física</li> <li>- Ciências da Saúde/Saúde Pública</li> </ul>	
CPF	DATA DE NASCIMENTO	PAÍS DE NASCIMENTO	EMAIL	NACIONALIDADE
027.298.824-30	26/06/1978	Brasil	jousimendes@gmail.com	Brasileiro
NOME	FUNÇÃO NO PROJETO	TITULAÇÃO MÁXIMA	ÁREAS DE ATUAÇÃO	
<a href="#">Melania Maria Ramos de Amorim</a>	Coordenador	Doutorado	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ciências da Saúde/Tocoginecologia</li> <li>- Ciências da Saúde/Epidemiologia</li> <li>- Ciências da Saúde/Perinatologia</li> <li>- Ciências da Saúde/Cirurgia Ginecológica</li> <li>- Ciências da Saúde/Cirurgia Pediátrica</li> <li>- Ciências da Saúde/METODOLOGIA CIENTÍFICA</li> </ul>	
CPF	DATA DE NASCIMENTO	PAÍS DE NASCIMENTO	EMAIL	NACIONALIDADE
569.821.784-04	11/07/1967	Brasil	melamorim@uol.com.br	Brasileiro
NOME	FUNÇÃO NO PROJETO	TITULAÇÃO MÁXIMA	ÁREAS DE ATUAÇÃO	
<a href="#">Adriana Suely de Oliveira Melo</a>	Pesquisador	Doutorado	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ciências da Saúde/Medicina Fetal</li> <li>- Ciências da Saúde/Ultra-sonografia em Ginecologia e Obstetrícia</li> <li>- Ciências da Saúde/Saúde Pública</li> </ul>	
CPF	DATA DE NASCIMENTO	PAÍS DE NASCIMENTO	EMAIL	NACIONALIDADE
886.187.654-49	05/11/1970	Brasil	asomelo@gmail.com	Brasileiro

#### CUSTEIO CAPITAL

SOLICITADO AO CNPQ		
ITEM DE DISPÊNDIO	DESCRIÇÃO	VALOR TOTAL
Equipamentos e Material permanente	Freezer vertical Notebooks Tablets Smartphones	R\$ 130.000,00
Passagens	Passagens aéreas Campina Grande-Recife e Campina Grande-Rio de Janeiro	R\$ 10.000,00
Diárias	Valor das diárias para encontro da equipe (Campina Grande - Recife - Rio de Janeiro)	R\$ 4.000,00
Serviços de Terceiros	Coordenadores de Campo Entrevistas Estatístico Tradução	R\$ 306.000,00
Material de consumo		R\$ 1.036.100,00

## RECURSOS BOLSAS

SOLICITADO AO CNPQ			
ITEM DE DISPÊNDIO	DATA DA IMPLANTAÇÃO	QUANTIDADE DE RECURSOS	VALOR TOTAL
Pós-Doutorado - PNPd	01/01/2017	2	R\$ 154.200,00
BENEFÍCIOS			
TIPO	QUANTIDADE	VALOR UNITÁRIO	VALOR TOTAL
Auxílio Instalação	1	R\$ 3.300,00	R\$ 3.300,00
Mensalidade	18	R\$ 4.100,00	R\$ 73.800,00
ITEM DE DISPÊNDIO	DATA DA IMPLANTAÇÃO	QUANTIDADE DE RECURSOS	VALOR TOTAL
Iniciação Científica - IC	01/01/2017	2	R\$ 19.200,00
BENEFÍCIOS			
TIPO	QUANTIDADE	VALOR UNITÁRIO	VALOR TOTAL
Mensalidade	24	R\$ 400,00	R\$ 9.600,00
ITEM DE DISPÊNDIO	DATA DA IMPLANTAÇÃO	QUANTIDADE DE RECURSOS	VALOR TOTAL
Mestrado - GM	01/01/2017	2	R\$ 72.000,00
BENEFÍCIOS			
TIPO	QUANTIDADE	VALOR UNITÁRIO	VALOR TOTAL
Mensalidade	24	R\$ 1.500,00	R\$ 36.000,00

## QUADRO GERAL DE ORÇAMENTO

SOLICITADO AO CNPq			
ITEM DE DISPÊNDIO	US\$	R\$	*TOTAL (R\$)
Equipamentos e Material permanente	0,00	130.000,00	130.000,00
Material Bibliográfico	0,00	2.000,00	2.000,00
<b>Total capital</b>	<b>0,00</b>	<b>132.000,00</b>	<b>132.000,00</b>
Passagens	0,00	10.000,00	10.000,00
Diárias	0,00	4.000,00	4.000,00
Serviços de Terceiros	0,00	306.000,00	306.000,00
Material de consumo	0,00	1.036.100,00	1.036.100,00
<b>Total custeio</b>	<b>0,00</b>	<b>1.356.100,00</b>	<b>1.356.100,00</b>
Pós-Doutorado - PNPd	0,00	154.200,00	154.200,00
Iniciação Científica - IC	0,00	19.200,00	19.200,00
Mestrado - GM	0,00	72.000,00	72.000,00
<b>Total bolsa</b>	<b>0,00</b>	<b>245.400,00</b>	<b>245.400,00</b>
<b>Total Solicitado ao CNPq (Capital + Custeio + Bolsa)</b>	<b>0,00</b>	<b>1.733.500,00</b>	<b>1.733.500,00</b>
TOTAL GERAL			
ITEM DE DISPÊNDIO	US\$	R\$	*TOTAL (R\$)
<b>Total</b>	<b>0,00</b>	<b>1.733.500,00</b>	<b>1.733.500,00</b>
<b>*VALOR DO DÓLAR DE REFERÊNCIA: R\$ 3.2819</b>			

## DECLARAÇÃO

O solicitante declara formalmente que: a) tem pleno conhecimento do Edital em que eventualmente se baseia esta solicitação bem como das regras e normas do CNPq relacionadas à modalidade de auxílio pleiteada (<http://www.cnpq.br/normas/index.htm#2>); b) tem garantias da instituição sede do projeto de que disporá de condições básicas operacionais para a execução do objeto da solicitação; c) tem conhecimento de que deverá prestar contas dos recursos obtidos dentro dos prazos e normas do CNPq; d) declara que, sendo o caso, deu conhecimento a todos os membros listados nesta solicitação dos termos da

presente declaração e que dispõe da concordância formal deles; e) que seu currículo Lattes está atualizado; f) responde pela veracidade de todas as informações contidas na presente solicitação e no seu currículo Lattes. (Declaração feita em observância aos artigos 297-299 do Código Penal Brasileiro).

NOME

CPF

Melania Maria Ramos de Amorim

569.821.784-04

Declaração registrada eletronicamente através da internet junto ao CNPq, mediante uso de senha pessoal do solicitante em 25/07/2016 16:03:29, sob o número de protocolo 0689691549594719

Página 7 de 7

Melania M. R. Amorim

Profa. Melania Maria Ramos de Amorim

Coordenadora do Projeto de Pesquisa



## LAYOUT OF MANUSCRIPTS

Manuscript text should be in English (US spelling), double-spaced, font size 12, in Arial font.

### 5.1. First page

The first page of the manuscript should contain the following: (1) title; (2) full names of authors (6 maximum, although listing more authors may be considered on an individual basis if authorship requirements have been met and a request has been included in the cover letter); (3) affiliations of authors (i.e. department, section or unit of an institution, hospital or organization, city, and country where it is located; please note that street name/numbers are not required); (4) full contact details (postal address, email address) of the corresponding author; (5) a list of up to 8 keywords for indexing and retrieval; (6) synopsis (no longer than 25 words, stating the primary conclusion of the paper).

Footnotes linking author names to affiliations should be listed as 1,2,3 etc., rather than \*,†,‡ or a,b,c etc.

The first page should also list the type of article: Clinical Article; Brief Communication; or Review Article.

### 5.2. Abstract

#### **5.2.1. Clinical articles**

A structured abstract not exceeding **200 words** is required for all full-length clinical articles. It should contain all and only the following headings: **Objective**; **Methods**; **Results**; and **Conclusion**.

The Objective reflects the purpose of the study: that is, the hypothesis that is being tested. The Methods should include the setting for the study, the participants (number and type), the treatment or intervention, and the type of statistical analysis. The Results include the outcome of the study and statistical significance, if appropriate. The Conclusion states the significance of the results.

#### **5.2.2. Review articles**

An abstract not exceeding **200 words** is required for all review articles.

Narrative reviews require an unstructured abstract. Systematic review articles should have a structured abstract with the headings: **Background**; **Objectives**; **Search strategy**; **Selection criteria**; **Data collection and analysis**; **Main results**; and **Conclusions**.

### ***5.2.3. Brief communications***

Brief communications should not include an abstract.

### **5.3. Main text**

In full-length articles, subject matter should be organized under the following headings, with no subheadings: **Introduction; Materials and methods; Results; Discussion; Author contributions; Acknowledgments; Conflicts of interest;** and **References**. Footnotes should be avoided and their contents incorporated into the text.

Brief communications should not have any headings separating the text.

#### ***5.3.1. Clinical articles***

The main text of clinical articles should not exceed **2500 words**, excluding: the first-page information, abstract (**no more than 200 words**), author contributions, acknowledgments, Conflicts of interest, references (**no more than 25**), figure legends, and tables and figures. Please include the word count in the cover letter and on the first page of the manuscript.

#### ***5.3.2. Review articles***

Review articles should have no more than **3000–3500 words** in the main text and **40 references**. Please include the word count in the cover letter and on the first page of the manuscript. Systematic reviews should adhere to PRISMA or MOOSE guidelines.

#### ***5.3.3. Brief communications***

Brief communications should be no more than **400 words**, excluding the first-page information, synopsis, keywords, author contributions, acknowledgments, Conflicts of interest, references, figure legends, and tables and figures. There should be no more than **4 references** and no more than 1 table or 1 figure. Please include the word count in the cover letter and on the first page of the manuscript.

**Case reports without consent from the patient(s) will not be considered.**

### **5.4. Power calculations, statistics, and reporting of numbers**

#### ***5.4.1. Power calculations***

Where appropriate (e.g. for clinical trials), power calculations should be performed as part of the study design, and a statement providing the power of the study should be included in the Materials and methods. Authors should state how the power calculation was determined, including what type of difference the calculation was powered to detect and on what studies the numbers are based.

#### ***5.4.2. Statistics***

The statistical tests used and the significance level set should be listed in the methods for all studies that employed statistical analysis. Information regarding the statistical

software programs used should be included in the methods: for example, “SPSS version 20 (IBM, Armonk, NY, USA).” This information should not be included in the reference list.

*P* values should be provided where calculated. The largest *P* value that should be expressed is  $P > 0.99$ . The smallest *P* value that should be expressed is  $P < 0.001$ .

For measures of effect (e.g. relative risks, risk ratios, odds ratios), authors should also report confidence intervals (e.g. 95%) so that the precision of the effect estimate can be assessed.

#### **5.4.3. Reporting of numbers**

Authors are urged to ensure that all reported numbers are accurate and listed consistently throughout the manuscript, tables, and figures.

All clinical trials should include the results of intention-to-treat analysis, and all surveys should include response rates.

### **5.5. Ethics approval and informed consent**

Studies of patients, patient records, or volunteers require Ethics Committee approval and informed consent.

#### **5.5.1. Ethics approval**

Include a statement in the methods that the research protocol was approved by the relevant Institutional Review Board or Ethics Committee before the study began; if such approval was not needed/obtained, include an explanation. Authors must provide copies of the appropriate documentation if requested.

#### **5.5.2. Informed consent**

Include confirmation in the methods that all human participants gave written informed consent before the study began; if consent was not needed/obtained, include an explanation. Authors must provide copies of the appropriate documentation if requested.

### **5.6. Author contributions**

Each author’s individual contributions should be listed in support of their right to authorship. Their role in the design, planning, conduct, data analysis, and manuscript writing should be stated.

### **5.7. Acknowledgments**

Sources of funding should be acknowledged by the author(s), along with the names of individuals who do not fulfil the criteria for authorship, but who have made a substantial

contribution to the manuscript. Please note that only **named individuals** can be included. The corresponding author must verify that permission has been obtained from individuals named in the Acknowledgments; such permission does not need to be submitted to the journal but should be available if requested.

#### 5.8. Conflicts of interest

A conflict-of-interest statement must be included in the cover letter and before the reference list in the manuscript. It should list any relationships (for any author) that may be deemed to influence the objectivity of the paper and its review, or state that no such relationships exist. Commercial associations, either directly or through immediate family, in areas such as expert testimony, consulting, honoraria, stock holdings, equity interest, ownership, patent-licensing situations or employment that might pose a conflict of interest should be stated. Conflicts for other reasons, such as personal relationships or academic competition, should also be stated.

#### 5.9. References

The number of references should not exceed **25 for clinical articles, 40 for review articles, and 4 for brief communications**; in general, they should be limited to the past decade. They must be numbered and listed as they are cited in the article, using Index Medicus abbreviations for journal titles. Cite the names of all authors when there are six or fewer; when there are seven or more, list the first three authors followed by “et al.” Include the volume number.