FLÁVIO AUGUSTO DE PÁDUA MILAGRES

Características sociodemográficas, virológicas e clínicas dos casos notificados como suspeitos de infecção pelo vírus Zika e fatores associados à infecção por esse arbovírus no estado do Tocantins no ano de 2015 e 2016

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Programa de Doenças Infecciosas e Parasitárias
Orientador: Prof. Dr. Aluisio Augusto Cotrim Segurado

São Paulo

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Milagres, Flávio Augusto de Pádua
Características sociodemográficas, virológicas e clínicas dos casos notificados como suspeitos de infecção pelo vírus Zika e fatores associados à infecção por esse arbovírus no estado do Tocantins nos anos de 2015 e 2016 / Flávio Augusto de Pádua Milagres. -- São Paulo, 2020.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Doenças Infecciosas e Parasitárias.
Orientador: Aluisio Augusto Cotrim Segurado.

Descritores: 1.Zika vírus 2.Vírus da dengue 3.Vírus chikungunya 4.Arbovírus 5.Surtos de doenças 6.Epidemiologia 7.Sinais e sintomas 8.Fatores de risco 9.Brasil

USP/FM/DBD-333/20

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

À minha esposa Karina e à minha filha Gabriela, meus amores, pelo apoio, compreensão e paciência durante a realização deste trabalho.

À minha irmã Simone e meu irmão Antonio Carlos, exemplos em minha vida.

Aos meus pais Carlos e Liliane.

Aos pacientes

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador e amigo, Prof. Dr. Aluísio Augusto Cotrim Segurado, que admiro pelo exemplo de vida acadêmica, dedicação, competência e humanismo.

À Profa. Dra. Ester Cerdeira Sabino, pela significativa colaboração em todas as etapas do projeto, pela disponibilidade, orientações e estímulo continuado.

Ao amigo Dr. Antonio Charlys da Costa, que possibilitou ótimos momentos durante nossa fase de coleta de amostras e dados no Tocantins e ao longo do projeto, sempre colaborativo, criativo e envolvido com a pesquisa.

À Dra. Vivian Avelino-Silva pelo comprometimento com o qual participou do exame de qualificação, contribuindo com suas sábias avaliações e sugestões na fase final desta pesquisa.

Ao Dr. Expedito Luna pelo comprometimento com o qual participou do exame de qualificação, contribuindo com suas sábias avaliações e sugestões na fase final desta pesquisa.

Ao amigo Me. Rafael Brustulin, sempre colaborativo com minhas solicitações e incansável na realização dos exames de biologia molecular no LACEN-TO.

Às secretárias do Programa de Pós-graduação em Doenças Infecciosas e Parasitárias do Curso de Pós Graduação senso estrito da FMUSP, pelo apoio constante.

À equipe do Centro de Informações Estratégicas de Vigilância em Saúde (CIEVS) da Secretaria Estadual de Saúde, sempre, zelosos na função de detectar, monitorar e coordenar a resposta às emergências em saúde pública no estado do Tocantins.

À área técnica de Arboviroses da Secretaria Estadual de Saúde, sempre colaborativos e dedicados à prevenção e tratamento das arboviroses no estado do Tocantins.

À equipe do Laboratório Central de Saúde Pública do Tocantins (LACEN-TO), parceiros e qualificados na tarefa de diagnosticar as doenças de interesse à saúde pública, controle de qualidade das análises de saúde pública e capacitação de profissionais multidisciplinares no estado do Tocantins.

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver), inseridas por um gerenciador de referências através do programa software Mendeley Desktop versão 1.19.4 (PDFNet SDK copyright © PDFTron™ Systems Inc., 2002-2017)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso,Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de figuras
Lista de tabelas
Resumo
Abstract
1 INTRODUÇÃO 2
2 JUSTIFICATIVA 8
3 OBJETIVOS 11
4 MÉTODOS 13
4.1 Delineamento do estudo 13
4.2 Definição de caso suspeito de Zika Vírus 13
4.3 Seleção de casos 13
4.4 Critérios de exclusão 13
4.5 Coleta de dados 14
4.5.1 Seleção de variáveis 14
4.5.2 Variáveis virológicas 14
4.5.3 Detecção de ácido nucléico por RT-PCR 14
4.5.4 Variáveis sociodemográficas 15
4.5.5 Variáveis relacionadas ao quadro clínico 15
4.6 Montagem do banco de dados 16
4.7 Organização do banco de dados e softwares utilizados 16
4.8 Análise estatística 16
4.9 Aspectos éticos 17
5 RESULTADOS 20
5.1 Caracterização da população de estudo 21
5.2 Análise bivariada 25
5.3 Análise múltipla 27
5.4 Análises complementares 29
5.4.1 Comparação por idade 30
5.4.2 Comparação por sexo 31

5.4.3 Comparação por *status* gestacional 32
5.4.4 Características dos pacientes monoinfectados por arbovírus 33
5.4.5 Características dos participantes com infecção por mais de um arbovírus..... 35
6 DISCUSSÃO 38
7 CONCLUSÕES..... 50
ANEXOS 53
Anexo A - Ficha de notificação..... 53
Anexo B - Parecer consubstanciado do CEP 54
REFERÊNCIAS..... 58

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Linha do tempo da pandemia, surgimento e disseminação do ZIKV. Adaptado de Musso D, et al., 2019 (13) 3

Figura 2. Manifestações clínicas na história natural da infecção pelo ZIKV. 5

Figura 3. Mapa do Brasil e mapa do estado do Tocantins com suas Regiões de Saúde. 9

Figura 4. Resultados da investigação de infecções por ZIKV, DENV e CHIKV em casos notificados como suspeitos de infecção por ZIKV no estado do Tocantins, Brasil, 2015 e 2016. 21

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características sociodemográficas dos participantes do estudo. Tocantins, Brasil, 2015 e 2016. 22

Tabela 2. Distribuição das características clínicas dos participantes do estudo. Tocantins, Brasil, 2015 e 2016. 23

Tabela 3. Distribuição dos participantes segundo status do sintoma apresentado. Tocantins, Brasil, 2015 e 2016. 24

Tabela 4. Distribuição dos resultados virológicos dos participantes do estudo. Tocantins, Brasil, 2015 e 2016. 25

Tabela 5. Análise bivariada para investigação de fatores associados à infecção por ZIKV. Tocantins, Brasil, 2015 e 2016. 26

Tabela 6. Variáveis com nível descritivo inferior a 0,20 à análise bivariada de fatores associados à infecção por ZIKV. Tocantins, Brasil, 2015 e 2016. 28

Tabela 7. Estimativas da razão de prevalência de infecção por ZIKV pelo modelo de regressão múltipla de Poisson. Tocantins, Brasil, 2015 e 2016. 28

Tabela 8. Distribuição das características clínicas em participantes infectados pelo ZIKV segundo faixa etária. Tocantins, Brasil, 2015 e 2016. 30

Tabela 9. Distribuição das características clínicas em participantes infectados pelo ZIKV segundo sexo. Tocantins, Brasil, 2015 e 2016. 31

Tabela 10. Distribuição das características clínicas em mulheres em idade fértil segundo status gestacional. Tocantins, Brasil, 2015 e 2016. 32

Tabela 11. Distribuição das características sociodemográficas e clínicas em monoinfectados segundo vírus diagnosticado. Tocantins, Brasil, 2015 e 2016. 34

Tabela 12. Distribuição das características sociodemográficas, virológicas e clínicas em participantes com detecção de pelo menos dois arbovírus. Tocantins, Brasil, 2015 e 2016. 35

RESUMO

Milagres FAP. *Características sociodemográficas, virológicas e clínicas dos casos notificados como suspeitos de infecção pelo vírus Zika e fatores associados à infecção por esse arbovírus no estado do Tocantins nos anos de 2015 e 2016* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2020.

Em 2015 identificou-se no estado do Tocantins, endêmico para a infecção pelo vírus Dengue (DENV), a emergência do Zika vírus (ZIKV) e do vírus Chikungunya (CHIKV), motivando a realização deste estudo com objetivo de descrever as características sociodemográficas e clínicas dos casos notificados como suspeitos de infecção pelo ZIKV nos anos de 2015 e 2016 e identificar fatores associados à infecção por esse arbovírus. A partir dos registros de notificação e resultados de testes diagnósticos moleculares para ZIKV, DENV e CHIKV dos sistemas SINAN e GAL, identificaram-se 1.137 indivíduos, dos quais aproximadamente 40% apresentaram viremia por pelo menos 1 arbovírus e cerca de 2% se mostraram infectados por 2 ou mais desses agentes. Entre os monoinfectados não houve diferença em relação a características sociodemográficas. Todavia, do ponto de vista clínico, o prurido foi mais relatado nos indivíduos com zikavirose, quando comparados aos infectados pelo DENV, ao passo que a febre foi mais frequente nos participantes monoinfectados por DENV, quando comparados aos monoinfectados por ZIKV. Nos infectados pelo ZIKV, aqueles com 20 anos ou mais apresentaram frequência significativamente maior de mialgia, artralgia/artrite e conjuntivite, enquanto os menores de 20 anos apresentaram mais frequentemente febre; as mulheres apresentaram significativamente maior frequência de prurido e edema, quando comparadas aos homens e as gestantes relataram conjuntivite menos frequentemente do que mulheres em idade fértil não gestantes. Na análise multivariada, a infecção por ZIKV mostrou-se independentemente associada ao sexo feminino, à ausência de infecção por CHIKV, a tempo com sintomas inferior a 3 dias, à ocorrência de exantema e à ausência de relato de mialgia. A similitude de manifestações clínicas em infecções por arbovírus que cocirculam em uma mesma região e as características clínicas distintivas da zikavirose em diferentes grupos populacionais acarretam desafios à saúde pública e reforçam a necessidade de vigilância epidemiológica apoiada em recursos diagnósticos efetivos para subsidiar ações de prevenção e controle desses agravos na população residente e viajantes.

Descritores: Zika vírus; Vírus da dengue; Vírus chikungunya; Arbovírus; Surtos de doenças; Epidemiologia; Sinais e sintomas; Fatores de risco; Brasil.

ABSTRACT

Milagres FAP. *Socio-demographic, virological and clinical features of cases reported as suspected Zika virus Infections and factors associated with this arboviral infection in the state of Tocantins in 2015 and 2016* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2020.

In 2015 Zika virus (ZIKV) and Chikungunya virus (CHIKV) emerging infections were identified in the Brazilian state of Tocantins, an endemic area for Dengue virus (DENV). In such a scenario we conceived this study to describe socio-demographic and clinical features of patients reported as suspected Zika cases in 2015-2016 and to investigate factors associated with this arboviral infection. Based on notifications and results of molecular biology diagnostic tests for ZIKV, DENV e CHIKV available in the SINAN and GAL national databases, we identified 1.137 individuals, of whom about 40% exhibited viremia with at least one arbovirus and about 2% were infected with two or more of these agents. Among mono-infected patients there was no difference in socio-demographic characteristics. However, from a clinical point of view, itching was more often reported by patients with ZIKV infection as compared to those with dengue, whereas fever was more frequent among dengue patients as compared with their ZIKV-infected counterparts. Among ZIKV-infected individuals, those aged 20 or over presented myalgia, arthralgia/arthritis and conjunctivitis significantly more often, whereas those younger than 20 years old more frequently had fever; itching and edema were more often reported by women than men, and pregnant patients less frequently presented conjunctivitis as compared to non-pregnant women in fertile age. In multivariate analysis, ZIKV infection was independently associated with being female, reporting symptoms for less than 3 days, presenting rash and with not being CHIKV-infected or reporting myalgia. The fact that infections caused by different cocirculating arboviruses may present with similar clinical manifestations and that signs and symptoms of ZIKV infection may differ among population groups challenges public health and reinforces the need of epidemiological surveillance actions based on effective diagnostic resources to support control and prevention of these diseases in the local population and among travelers.

Descriptors: Zika virus; Dengue virus; Chikungunya virus; Arboviruses; Disease outbreaks; Epidemiology; Signs and symptoms; Risk factors; Brazil.

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O vírus Zika (ZIKV) foi isolado pela primeira vez de um macaco rhesus na floresta Zika de Uganda, em 1947 (1). Durante meio século o vírus causou infecções humanas esporádicas na África e na Ásia até 2007, quando uma epidemia de febre Zika ocorreu na Ilha Yap, Micronésia (2), conquistando atenção internacional. Sequencialmente o ZIKV foi responsável por uma grande epidemia na Polinésia Francesa em 2013-2014 (3) e em regiões como ilhas Cook e Nova Caledônia em 2014 (4,5). Sua introdução em território americano foi reconhecida ainda em 2014 ao atingir a Ilha de Páscoa, território chileno localizado no pacífico Sul (6,7).

No início de 2015 foi descrita no nordeste do Brasil uma série de pacientes procedentes de área endêmica para dengue apresentando “síndrome dengue-símile”, com sintomas leves de febre, mialgia, artralgia e conjuntivite, associados a manifestações cutâneas exantemáticas e prurido, na maioria dos relatos. Submetidos a investigação de infecção pelo vírus Dengue (DENV) e vírus Chikungunya (CHIKV), tais pacientes não lograram confirmação diagnóstica em testes moleculares para pesquisa de RNA viral e seus testes sorológicos resultaram não reagentes para os arbovírus citados. Como os sintomas clínicos eram também compatíveis com os previamente descritos na infecção pelo ZIKV, foram realizados ensaio de RT-PCR para pesquisa do RNA do ZIKV, confirmando-se, assim, a partir de março de 2015 os primeiros casos de infecção pelo ZIKV no Brasil (8–10).

É relevante considerar que, posteriormente, estudos de genomas virais em combinação à análise de dados ecológicos e epidemiológicos permitiram identificar que o ZIKV já circulava no nordeste do Brasil em fevereiro de 2014, com provável disseminação nacional e internacional a partir daí, antes mesmo da primeira descrição da infecção nas Américas (7,11,12).

A disseminação global da infecção pelo ZIKV entre as décadas de 1940 e o ano de 2018 é descrita na Figura 1.

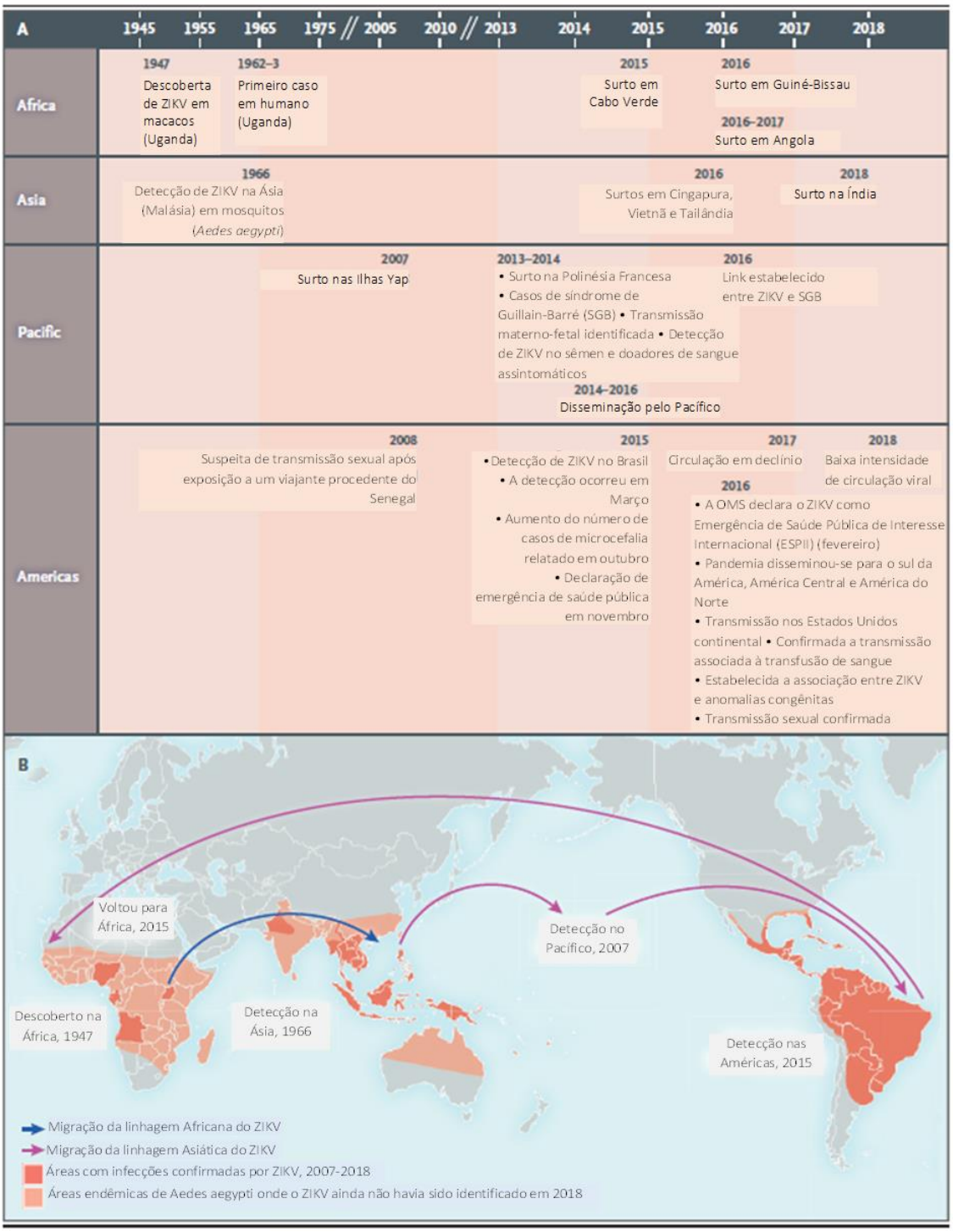

Figura 1. Linha do tempo da pandemia, surgimento e disseminação do ZIKV. Adaptado de Musso D, et al., 2019 (13)

A infecção humana pelo ZIKV, à semelhança de outras arboviroses causadas por flavivírus e alfavírus, dá-se, primordialmente por transmissão

vetorial, a partir da picada de mosquitos infectados do gênero Aedes. As condições ecológicas favoráveis à adaptação dos vetores *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* em diversos países do mundo permitem a invasão e circulação desses arbovírus nas mesmas áreas geográficas, possibilitando também a ocorrência de infecções simultâneas e ou mistas com mais de um arbovírus, como por exemplo, as causadas pelos DENV e CHIKV (14–16).

Adicionalmente à transmissão vetorial do ZIKV (17–21), reconhece-se a possibilidade de veiculação inter-humana desse agente por transmissão perinatal (22), transfusional (23) e por contato sexual, devido à sua presença no sêmen (24–26). Embora o ZIKV tenha sido também demonstrado na urina (27,28) e leite materno de pessoas infectadas, ainda não há evidência epidemiológica do papel desses fluidos biológicos na transmissão (29).

A síndrome clínica causada pelo ZIKV em humanos teve seus primeiros relatos a partir de 1954 por Macnamara (30) e Bearcroft (31), seguidos por um caso bem documentado da doença em 1964, quando Simpson, aos 28 anos, descreveu sua própria doença pelo ZIKV adquirida de forma ocupacional (32). Em 1973, Filipe e colaboradores relataram um caso de infecção por ZIKV adquirida em laboratório, em um homem que desenvolveu quadro agudo de febre, cefaleia e artralgias, na ausência de erupção cutânea (33).

Habitualmente a zikavirose é relatada como uma doença leve e autolimitada que se resolve em poucos dias, estimando-se que se exteriorize clinicamente em apenas aproximadamente 20% dos indivíduos infectados (2,34,35). Indivíduos em qualquer idade são suscetíveis à infecção, com uma ligeira preponderância de casos descritos em mulheres (35). Os sinais e sintomas mais comumente relatados incluem exantema, febre, artralgia, mialgia, fadiga, dor de cabeça e conjuntivite. As manifestações clínicas iniciam-se entre 3 e 7 dias, podendo chegar até 12 dias, após a picada do vetor e tendem a desaparecer em 2 a 7 dias (2,35,36).

A característica clínica mais frequente é um exantema macular ou maculopapular (observado em até 90% dos casos), geralmente visto entre o

primeiro ou segundo dia após o início dos sintomas. Possui um padrão de progressão caracteristicamente centrífugo, estendendo-se do tronco às extremidades; é geralmente pruriginoso e persiste por um período de 4 a 5 dias (2,32,37) Concomitantemente há febre, tipicamente baixa, com temperaturas inferiores a 38ºC, geralmente persistente por 1 a 4 dias ou no máximo por até 7 dias (32,38).

A artralgia é, também, uma manifestação clínica comum, podendo ser observada em 65% dos casos, associada com edema periarticular, principalmente em pequenas articulações, como as das mãos e pés. As articulações dos joelhos e pulsos são acometidas em menor frequência e o quadro articular, independentemente de sua localização, pode durar de uma semana até um mês. Ao lado disso, cerca de 55% a 60% dos pacientes podem apresentar conjuntivite bilateral não purulenta, que geralmente se resolve dentro de uma a duas semanas (2). Na figura 2 apresenta-se uma síntese das manifestações clínicas na história natural da infecção pelo ZIKV.

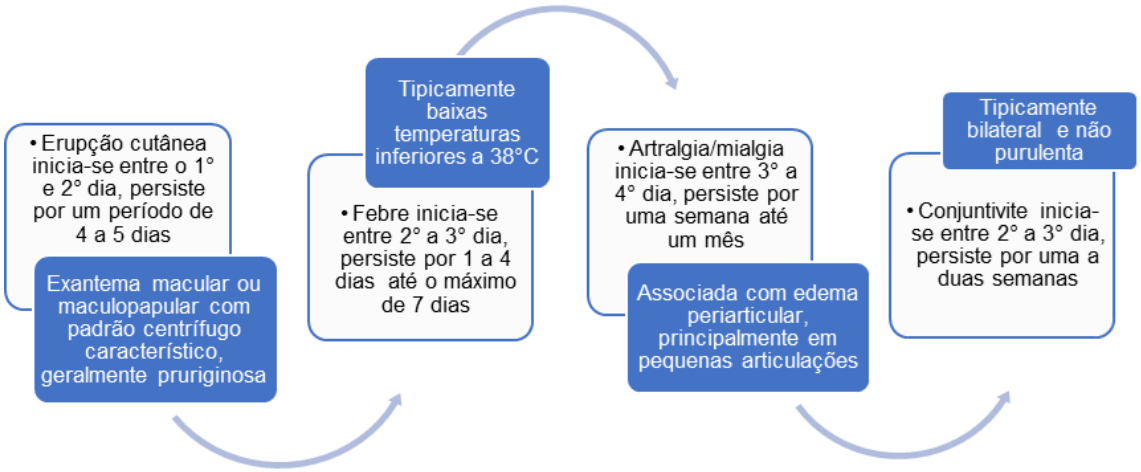

Figura 2. Manifestações clínicas na história natural da infecção pelo ZIKV.

Um aspecto particularmente distintivo das manifestações clínicas associadas à infecção pelo ZIKV, quando comparadas às encontradas nas demais arboviroses transmitidas por mosquitos vetores, foi sua relação com

incidência aumentada de distúrbios neurológicos, tais como a Síndrome de Guillain-Barré (SGB) (39–41) e as malformações congênitas, quando acomete gestantes, destacando-se nesse contexto a ocorrência de microcefalia, entre outras manifestações do SNC (42–45), que contribuíram para ressaltar a importância da infecção pelo ZIKV em termos de Saúde Pública no âmbito global (46).

Sabe-se, contudo, que as manifestações clínicas acima descritas, embora bem caracterizadas, não são específicas da infecção por ZIKV, sendo, ao contrário, encontradas com elevada frequência também em outras infecções virais agudas e, especialmente, em outras arboviroses transmitidas por mosquitos, como a Dengue e a infecção pelo CHIKV (14,16). Consequentemente, muitos casos de infecção por ZIKV provavelmente podem ser perdidos ou diagnosticados incorretamente como infecção por DENV ou CHIKV, o que justifica a necessidade de vigilância epidemiológica para apuração sensível de informações clínicas e condução de testes diagnósticos rápidos na investigação de casos de síndrome febril aguda em áreas onde os três arbovírus cocirculam (14–16).

A similitude dos quadros clínicos dessas afecções acarreta um importante desafio para o seu reconhecimento clínico, particularmente em regiões do mundo em que se observa a circulação simultânea desses agentes infecciosos, como é o caso do Brasil.

2 JUSTIFICATIVA

2 JUSTIFICATIVA

O estado do Tocantins, local escolhido para o presente estudo, está situado na região Norte do Brasil. Sua vegetação predominante é o cerrado, que cobre 90% do território. O restante é constituído pela floresta de transição Amazônica, na região norte do estado. Às margens dos Rios Araguaia e Tocantins são encontrados pequenos trechos de Mata Atlântica. O clima é tropical, com temperatura média de 32°C no período de seca, entre abril a setembro e de 26°C no período de chuvas, nos meses de outubro a março. O estado faz fronteira ao norte e a leste com o estado do Maranhão, a leste, também, com Piauí e Bahia, ao sul com o estado de Goiás e a oeste com os estados de Mato Grosso e Pará (Figura 3).

Em conjunto com a vegetação e clima, o panorama nacional das arboviroses, marcadamente pelo vírus da Dengue, endêmico no Estado, associado à possível emergência dos vírus Zika e Chikungunya, favoreceu a participação do Tocantins em estudos com o propósito de ampliar o entendimento da dinâmica dessas arboviroses e indicar ações importantes de vigilância em saúde.

Nesse contexto, a vigilância epidemiológica de síndromes febris agudas no estado, apoiada pela investigação diagnóstica pertinente, foi capaz de identificar a introdução do ZIKV na região a partir de novembro de 2015, possibilitando a condução do presente estudo de caracterização epidemiológica e clínica da infecção por esse arbovírus em diferentes grupos populacionais e sua comparação com as de outras arboviroses transmitidas por mosquitos na região.

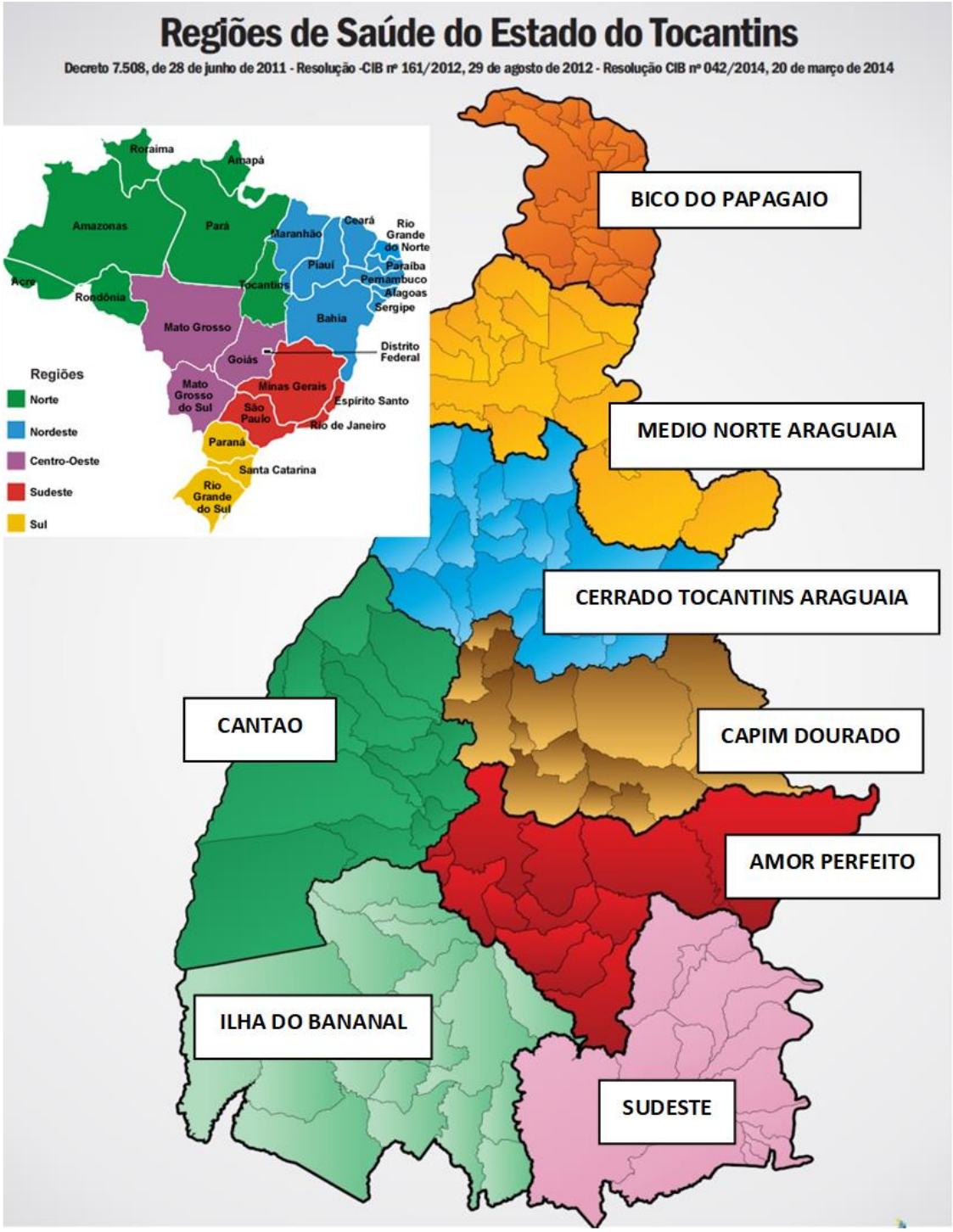

Figura 3. Mapa do Brasil e mapa do estado do Tocantins com suas Regiões de Saúde.

3 OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

- Descrever as características sociodemográficas e clínicas dos casos notificados como suspeitos de infecção pelo vírus Zika no estado do Tocantins no ano de 2015 e 2016, submetidos a investigação etiológica molecular para arbovírus.

- Descrever a frequência de infecção por ZIKV, DENV e CHIKV confirmada por diagnóstico molecular nessa população, estimando-se a prevalência de infecção pelo ZIKV entre os casos notificados como suspeitos dessa arbovirose.

- Identificar fatores sociodemográficos, virológicos e clínicos associados à infecção pelo ZIKV na população de estudo.

- Comparar a apresentação clínica da infecção pelo ZIKV na população estudada, segundo a faixa etária [crianças e/ou jovens (<20 anos) e adultos (>= 20 anos)], sexo e *status* gestacional.

- Comparar as características sociodemográficas e clínicas entre os casos de monoinfecção por ZIKV, DENV e CHIKV.

- Descrever as características sociodemográficas, virológicas e clínicas dos participantes infectados por mais de um arbovírus.

4 MÉTODOS

4 MÉTODOS

4.1 Delineamento do estudo

Estudo transversal desenvolvido a partir de dados secundários provenientes do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) e Sistema Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL), obtidos por consulta aos registros desses sistemas entre janeiro de 2015 e dezembro de 2016.

4.2 Definição de caso suspeito de Zika Vírus

Foi considerado como suspeito todo indivíduo que apresentou exantema ou elevação da temperatura axilar (maior que 37,8ºC) com ou sem os seguintes sintomas (que não se explicam por outras condições médicas): artralgia ou mialgia; conjuntivite não purulenta ou hiperemia conjuntival; cefaleia ou mal-estar; edema periarticular; prurido.

4.3 Seleção de casos

Foram selecionados casos notificados como suspeitos de infecção pelo vírus ZIKV, por critérios clínicos e epidemiológicos, avaliados durante atendimento médico assistencial na rede de Saúde do estado do Tocantins que possuíam amostra biológica para investigação virológica que incluísse pesquisa para detecção do RNA viral de ZIKV, DENV e CHIKV pelo Laboratório Central de Saúde Pública do Tocantins (LACEN-TO).

4.4 Critérios de exclusão

Excluíram-se do estudo pacientes provenientes de outros estados da Federação e aqueles cujas amostras biológicas para elucidação diagnóstica molecular:

a) haviam sido coletadas após sete dias da data de início dos sintomas.

b) apresentavam volumes insuficientes para a realização das análises virológicas.

4.5 Coleta de dados

Foram coletadas informações referentes aos resultados de diagnóstico virológico molecular emitidos pelo Laboratório LACEN-TO para investigação assistencial da infecção pelo ZIKV, DENV e CHIKV do sistema GAL e informações clínicas e epidemiológicas relacionadas aos casos suspeitos, por meio de consulta ao banco de dados do sistema SINAN.

4.5.1 Seleção de variáveis

Para a seleção foram levantados na literatura as variáveis sociodemográficas e clínicas relevantes para a infecção pelo ZIKV e verificada a disponibilidade de tais informações a partir dos dados coletados nas fontes acima mencionadas.

4.5.2 Variáveis virológicas

Os dados virológicos foram obtidos a partir de consulta aos registros no Sistema Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL) do LACEN-TO. O diagnóstico virológico conduzido no referido laboratório foi realizado de acordo com o protocolo *Trioplex real-time* RT-PCR para detecção do RNA viral de ZIKV, DENV e CHIKV, com resultados expressos de forma qualitativa (positivo ou negativo) e/ou quantitativa (47), seguindo-se as etapas descritas a seguir.

4.5.3 Detecção de ácido nucléico por RT-PCR

Inicialmente extraiu-se RNA de alíquotas de 140 µL de plasma, usando-se o kit QIAamp Viral RNA Mini (Qiagen), eluídas em 50 µL de tampão AVE. Em seguida, 10 µL do RNA extraído foram amplificados em um volume de reação final de 25 µl, empregando-se o *SuperScript III Platinum One-step qRT-PCR kit* (*Thermo Fisher*) e iniciadores e sondas específicos para DENV, CHIKV e ZIKV (*Integrated DNA Technologies*). As sondas para detecção do RNA de DENV, CHIKV e ZIKV foram marcadas com Texas Red-X NHS Ester, HEX e FAM, respectivamente, na extremidade 5'. A sonda DENV foi extinta pelo Iowa Black RQ na extremidade 3', enquanto as sondas CHIKV e ZIKV foram dobradas duas vezes com um extintor interno ZEN e Iowa Black FQ na extremidade 3'. As sequências e concentrações dos iniciadores e sondas empregados na etapa de

amplificação do genoma viral seguiram o protocolo descrito por Santiago et al. (47).

A amplificação foi realizada em formato de 96 poços em um instrumento em tempo real (*LightCycler 480 System*, Roche), utilizando-se as seguintes condições de termociclagem: transcrição reversa a 50ºC por 30 minutos, ativação enzimática a 95ºC por 2 minutos, seguida de 45 ciclos de dissociação a 95ºC por 15 segundos e recozimento / extensão a 60ºC por 1 minuto. As amostras com valores de Ct ≤38 ciclos foram consideradas positivas.

4.5.4 Variáveis sociodemográficas

As informações sociodemográficas do paciente foram obtidas a partir dos registros da ficha de notificação epidemiológica (anexo A):

1) Data e semana da notificação
2) Idade
3) Raça/Cor da pele (Branca, Preta, Amarela, Parda, Indígena ou Ignorada)
4) Sexo (Masculino ou Feminino)
5) Escolaridade - Categorizada como Analfabeto, Fundamental 1 incompleto (atuais 1º a 5º ano incompleto), Fundamental 1 completo (5º ano completo), Fundamental 2 incompleto (6º a 9º ano incompleto), Fundamental 2 completo (9º ano completo), Ensino Médio incompleto, Ensino Médio completo, Ensino Superior incompleto, Ensino superior completo e Ignorado.
6) Gestação (primeiro trimestre, segundo trimestre, terceiro trimestre, idade gestacional ignorada, não, não se aplica e ignorado).

4.5.5 Variáveis relacionadas ao quadro clínico

Foram avaliadas as seguintes variáveis: data de início de sintomas, data de coleta da amostra biológica, tempo em dias com apresentação de sintomas, data de notificação. Adicionalmente foram registradas informações relativas aos seguintes sintomas: Manifestações hemorrágicas, Exantema, Febre, Conjuntivite, Artralgia/artrite, Mialgia, Gânglios retroariculares e/ou occipitais, Cefaleia, Dor retro-ocular, Prurido, Epistaxe, Náuseas, Vômitos, Diarreia,

Edema, Gengivorragia, Metrorragia, Petéquias e Hematúria, também obtidas da ficha de notificação.

4.6 Montagem do banco de dados

Inicialmente foi composto um banco de dados informatizado, utilizando-se o software Microsoft Excel, versão 2013, contendo as informações referentes aos dados sociodemográficos e clínicos transcritos do sistema SINAN e aos dados laboratoriais obtidos a partir do sistema GAL.

4.7 Organização do banco de dados e softwares utilizados

Os dados foram inseridos no programa Excel e analisados no programa estatístico STATA versão 14.0 (*StataCorp LP, College Station*, Texas, EUA).

4.8 Análise estatística

Inicialmente efetuou-se a análise descritiva das características sóciodemográficas, clínicas e virológicas dos casos notificados como suspeitos de infecção pelo vírus Zika no estado do Tocantins no ano de 2015 e 2016, submetidos à investigação etiológica molecular para arbovírus. Os resultados foram apresentados em tabelas de frequências para as variáveis qualitativas. No que tange às variáveis quantitativas, foram feitas estimativas das medidas de tendência central e de dispersão. Nas tabelas comparativas (informação de sintomas, sexo, faixa etária e *status* gestacional) empregou-se o teste qui-quadrado ou o teste exato de Fisher quando apropriado.

Calculou-se a prevalência de infecção por ZIKV na amostra e seu respectivo intervalo com 95% de confiança (IC 95%).

Para pesquisa dos fatores associados ao desfecho infecção por ZIKV em estudo transversal, o método mais comumente utilizado é a regressão logística. Contudo, como esse desfecho apresentou alta prevalência (48), optou-se por utilizar a regressão de Poisson com variância robusta (49–51). As razões de prevalências (RP) brutas e ajustadas com intervalo 95% de confiança (IC 95%)

foram calculadas para examinar as associações entre o desfecho (infecção por ZIKV) e as variáveis de confusão.

As variáveis que apresentaram valor de p inferior a 0,20 à análise bivariada foram selecionadas para análise multivariada. O processo de modelagem foi iniciado com a variável que apresentava o menor valor de p e, em seguida, foram acrescentadas sucessivamente as demais com valor de p inferior a 0,20. As variáveis foram mantidas no modelo final quando apresentaram valor de $p<0,05$. Finalmente, foram estimadas as RP para cada uma das variáveis do modelo final, com seus respectivos intervalos de confiança (IC 95%).

Para identificar se houve diferença na distribuição das características sociodemográficas e clínicas dentre os monoinfectados por ZIKV, DENV e CHIKV, utilizou-se o teste qui-quadrado e as comparações múltiplas dos percentuais pelo método de Bonferroni.

Ao longo de toda a análise deste estudo adotou-se nível de significância de 5%.

4.9 Aspectos éticos

As informações epidemiológicas, clínicas e virológicas utilizadas no presente estudo foram obtidas de forma secundária, a partir das informações provenientes dos bancos de dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) e Sistema Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL), componente do Sistema Nacional de Laboratórios de Saúde Pública (SISLAB), de domínio público e obtido na rotina assistencial, prescindindo-se, dessa forma, da obtenção de termo de consentimento livre e esclarecido dos participantes.

Neste estudo não foram realizadas coletas de amostras biológicas, tampouco foram realizadas análises laboratoriais complementares nas amostras previamente colhidas para investigação assistencial dos pacientes avaliados durante atendimento médico na rede de Saúde do estado do Tocantins. Ao longo de toda a investigação foram garantidos o anonimato dos sujeitos e a

confidencialidade do manejo das informações pela equipe de pesquisadores, de acordo com as normas éticas que regem as pesquisas que envolvem seres humanos.

O projeto de investigação desta tese foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - CAAE: 89342418.1.0000.0065 (Anexo B).

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

No ano de 2015 e 2016, foram notificados 2.136 casos como suspeitos de infecção pelo ZIKV em todo o estado do Tocantins. Destes, 1.331 casos tiveram amostra biológica encaminhada ao Laboratório LACEN-TO para investigação assistencial da infecção pelo vírus Zika, Dengue e Chikungunya. Desse conjunto de casos elegíveis para o estudo, 194 foram retirados da análise por atenderem aos critérios de exclusão, sendo, portanto, possível conduzir a investigação proposta pelos pesquisadores em 1.137 indivíduos.

Conforme resumido na Figura 4, 672 (59,1%) indivíduos foram negativos para infecção por ZIKV, DENV e CHIKV e 465 (40,9%) apresentaram resultado molecular positivo para pelo menos 1 arbovírus. Entre os 26 (2,3%) indivíduos infectados com 2 ou mais arbovírus, 11 apresentavam infecção concomitante por ZIKV e DENV, 10 por ZIKV e CHIKV, 4 por DENV e CHIKV e um indivíduo foi detectado como viremia simultânea pelos três arbovírus citados.

Dentre os pacientes positivos apenas para o ZIKV, havia 83 (23,7%) mulheres grávidas.

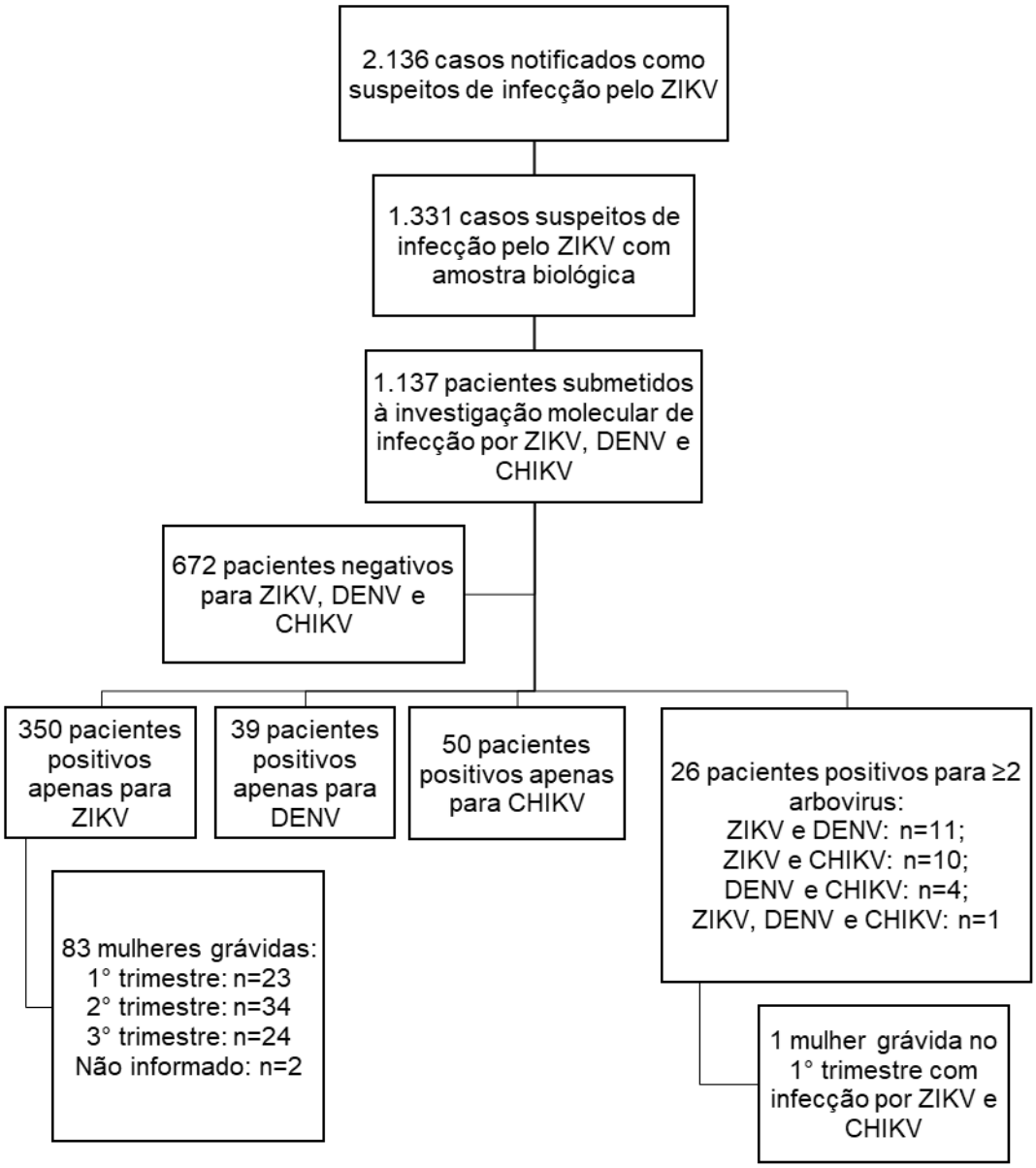

Figura 4. Resultados da investigação de infecções por ZIKV, DENV e CHIKV em casos notificados como suspeitos de infecção por ZIKV no estado do Tocantins, Brasil, 2015 e 2016.

5.1 Caracterização da população de estudo

Dentre os 1.137 casos com suspeita de infecção pelo ZIKV submetidos a investigação etiológica molecular para arbovírus, a maioria era do sexo feminino (72,4%), relatou ser pardo(a) ou preto(a) (52,7%) e tinha entre 10 e 49 anos de idade (78,0%) (Tabela 1). Verificou-se, também, que mais da metade dos participantes com escolaridade informada possuía 4 ou mais anos de estudo.

Tabela 1. Características sociodemográficas dos participantes do estudo. Tocantins, Brasil, 2015 e 2016.

VARIÁVEIS	n	%
Idade (anos)		
Mediana (mín - máx)	29,6 (2 dias - 86,3 anos)	
< 1	25	2,2
1 a 9	69	6,1
10 a 19	187	16,4
20 a 29	292	25,7
30 a 39	254	22,3
40 a 49	154	13,5
50 a 59	103	9,1
≥ 60	49	4,3
Ignorado	4	0,4
Sexo		
Masculino	314	27,6
Feminino	823	72,4
Raça/cor		
Branca	203	17,9
Preta	28	2,5
Amarela	9	0,8
Parda	571	50,2
Indígena	3	0,3
Ignorada	323	28,4
Escolaridade		
Analfabeto	76	6,7
Fundamental 1 incompleto	43	3,8
Fundamental 1 completo	19	1,7
Fundamental 2 incompleto	72	6,3
Fundamental 2 completo	30	2,6
Médio incompleto	87	7,7
Médio completo	219	19,3
Superior incompleto	42	3,7
Superior completo	105	9,2
Ignorada	444	39,1

Todos os participantes deste estudo apresentavam pelo menos um sintoma de infecção pelo ZIKV, porém o registro do(s) sintoma(s) relatado(s) foi obtido para apenas 825 (72,6%) indivíduos. A Tabela 2 mostra a distribuição desses relatos.

Os sintomas mais frequentes foram: exantema (65,6%), cefaleia (52,0%), febre (50,4%), artralgia/artrite (45,6%), mialgia (44,5%) e prurido (41,2%). O tempo mediano relatado do(s) sintoma(s) foi de 3 dias.

Tabela 2. Distribuição das características clínicas dos participantes do estudo. Tocantins, Brasil, 2015 e 2016.

VARIÁVEIS*	n	%
Tempo com apresentação de sintoma(s) (em dias)**		
Mediana (mín - máx)	3 (0 - 7)	
Exantema		
Não	284	34,4
Sim	541	65,6
Mialgia		
Não	458	55,5
Sim	367	44,5
Prurido		
Não	485	58,8
Sim	340	41,2
Edema		
Não	754	91,4
Sim	71	8,6
Manifestações gastrintestinais***		
Não	733	88,8
Sim	92	11,2
Artralgia/artrite		
Não	449	54,4
Sim	376	45,6
Conjuntivite		
Não	689	83,5
Sim	136	16,5
Febre		
Não	409	49,6
Sim	416	50,4
Cefaleia		
Não	396	48,0
Sim	429	52,0
Manifestações hemorrágicas****		
Não	789	95,6
Sim	36	4,4

(*) 322 ignorados, n=825
(**) n=1137
(***) Náuseas, vômitos, diarreia
(****) Epistaxe, sangramento gengival, sangramento vaginal normal, hematúria, petéquias

Tendo em vista que 312 (27,4%) pacientes não tiveram qualquer registro de sintomas nas fichas de notificação analisadas, buscamos avaliar se essa perda poderia ter determinado algum viés de seleção na amostra estudada. Nesse aspecto, vale a pena destacar que os participantes com e sem informação sobre sintomas não diferiram entre si, de forma estatisticamente significativa,

quanto à distribuição etária e por sexo (p=0,631 e p=0,386, respectivamente) (Tabela 3). Entretanto, notou-se que havia mais gestantes no grupo com informação (30,9%) quando comparado ao grupo sem informação (16,1%) (p<0,001).

Tabela 3. Distribuição dos participantes segundo *status* do sintoma apresentado. Tocantins, Brasil, 2015 e 2016.

VARIÁVEIS	com informação		sem informação		p
	n	%	n	%	
Idade (anos) (n=1333)					0,631
< 20	201	24,4	80	25,8	
≥ 20	622	75,6	230	74,2	
Sexo (n=1337)					0,386
Masculino	222	26,9	92	29,5	
Feminino	603	73,1	220	70,5	
Mulheres em idade fértil (n=628)					**<0,001**
Gestantes	142	30,9	27	16,1	
Não gestantes	318	69,1	141	83,9	

No que tange aos resultados virológicos, o diagnóstico de infecção exclusivamente por ZIKV foi confirmado em 372 (32,7%) pacientes. Ao lado disso, 55 (4,8%) participantes apresentavam infecção isolada por DENV, enquanto infecção unicamente por CHIKV pode ser diagnosticada em 65 (5,7%) indivíduos. Além disso, constatou-se que 26 (2,3%) apresentaram simultaneamente 2 ou 3 arboviroses (Tabela 4). A partir desses dados, estimou-se a prevalência de infecção por ZIKV na amostra estudada como de 372/1.137, ou seja, 32,7% (IC 95%: 30,0 - 35,5).

Tabela 4. Distribuição dos resultados virológicos dos participantes do estudo. Tocantins, Brasil, 2015 e 2016.

Infecção arboviral confirmada	n	%
DENV		
Não	1082	95,2
Sim	55	4,8
CHIKV		
Não	1072	94,3
Sim	65	5,7
ZIKV		
Não	765	67,3
Sim	372	32,7
Nº arbovírus		
0	672	59,1
1	439	38,6
2	25	2,2
3	1	0,1

5.2 Análise bivariada

Para identificar os possíveis fatores associados à infecção por ZIKV testou-se a relação entre esse desfecho e todas as variáveis do estudo (Tabela 5). Na população de estudo avaliada, verificou-se associação com significância estatística entre infecção por ZIKV e as seguintes variáveis: tempo com apresentação de sintoma(s) em até 3 dias (p=0,001), relato de exantema (p=0,009), ausência de infecção por CHIKV (p=0,013) e ausência de relato de mialgia (p=0,027).

Tabela 5. Análise bivariada para investigação de fatores associados à infecção por ZIKV. Tocantins, Brasil, 2015 e 2016.

VARIÁVEIS	n	ZIKV		RP	IC 95% (RP)	p
		n	%			
Idade (anos) (n=1133)						0,998
< 20	281	92	32,7	1		
≥ 20	852	279	32,7	1,00	0,82 - 1,21	
Sexo (n=1137)						0,058
Masculino	314	89	28,3	1		
Feminino	823	283	34,4	1,21	0,99 - 1,48	
Raça/cor (n=814)						0,829
Branca/Amarela/Indígena	215	71	33,0	1		
Parda/Preta	599	193	32,2	0,98	0,78 - 1,22	
Escolaridade (n=693)						0,436
< 8 anos	210	67	31,9	1		
≥ 8 anos	483	169	35,0	1,10	0,87 - 1,38	
Infecção confirmada por DENV (n=1137)						0,103
Não	1082	360	33,3	1		
Sim	55	12	21,8	0,66	0,39 - 1,10	
Infecção confirmada por CHIKV (n=1137)						**0,013**
Não	1072	361	33,7	1		
Sim	65	11	16,9	0,50	0,29 - 0,87	
Tempo com apresentação de sintoma(s) (em dias) (n=1137)						**0,001**
< 3	486	185	38,1	1		
≥ 3	651	187	28,7	0,75	0,64 - 0,89	
Exantema (n=825)						**0,009**
Não	284	81	28,5	1		
Sim	541	205	37,9	1,33	1,07 - 1,64	
Mialgia (n=825)						**0,027**
Não	458	174	38,0	1		
Sim	367	113	30,8	0,80	0,66 - 0,98	
Prurido (n=825)						0,097
Não	485	157	32,4	1		
Sim	340	129	37,9	1,17	0,97 - 1,41	
Edema (n=825)						0,167
Não	754	267	35,4	1		
Sim	71	19	26,8	0,76	0,51 - 1,12	
Manifestações gastrintestinais* (n=825)						0,273
Não	733	259	35,3	1		
Sim	92	27	29,3	0,83	0,60 - 1,16	

(*) Náuseas, vômitos, diarreia

Tabela 5 (continuação). Análise bivariada para investigação de fatores associados à infecção por ZIKV. Tocantins, Brasil, 2015 e 2016.

VARIÁVEIS	n	ZIKV		RP	IC 95% (RP)	p
		n	%			
Artralgia/artrite (n=825)						0,283
Não	449	163	36,3	1		
Sim	376	123	32,7	0,90	0,75 - 1,09	
Conjuntivite (n=825)						0,675
Não	689	241	35,0	1		
Sim	136	45	33,1	0,95	0,73 - 1,23	
Febre (n=825)						0,684
Não	409	139	34,0	1		
Sim	416	147	35,3	1,04	0,86 - 1,25	
Cefaleia (n=825)						0,691
Não	396	140	35,4	1		
Sim	429	146	34,0	0,96	0,80 - 1,16	
Manifestações hemorrágicas (n=825)**						0,851
Não	789	273	34,6	1		
Sim	36	13	36,1	1,04	0,67 - 1,63	

(**) Epistaxe, sangramento gengival, sangramento vaginal normal, hematúria, petéquias

5.3 Análise múltipla

No intuito de identificar as variáveis independentemente associadas à infecção por ZIKV nos casos notificados como suspeitos de infecção pelo vírus Zika no estado do Tocantins no ano de 2015 e 2016, procedeu-se à análise de regressão múltipla de Poisson (com variância robusta), utilizando-se as variáveis que apresentaram valores de p menores que 0,20 às análises bivariadas.

Na tabela 6 descrevem-se as variáveis que foram analisadas para elaboração do modelo final.

Tabela 6. Variáveis com nível descritivo inferior a 0,20 à análise bivariada de fatores associados à infecção por ZIKV. Tocantins, Brasil, 2015 e 2016.

VARIÁVEIS COM p<0,20	p
Tempo com apresentação de sintoma(s) (em dias)	**0,001**
Exantema	**0,009**
Infecção confirmada por CHIKV	**0,013**
Mialgia	**0,027**
Sexo	0,058
Prurido	0,097
Infecção confirmada por DENV	0,103
Edema	0,167

No modelo final foram mantidas as variáveis que apresentaram valores de p inferiores a 0,05. Identificou-se, assim, que a infecção por ZIKV na população estudada esteve independentemente associada ao sexo feminino (p=0,043), à ausência de infecção pelo CHIKV (p=0,009), a tempo com apresentação de sintoma(s) inferior a 3 dias (p=0,019), ao relato de exantema (p=0,013) e, finalmente, à ausência de relato de mialgia (p=0,029) (Tabela 7).

Tabela 7. Estimativas da razão de prevalência de infecção por ZIKV pelo modelo de regressão múltipla de Poisson. Tocantins, Brasil, 2015 e 2016.

VARIÁVEIS	RP_{br}	RP_{aj}	IC 95% (RP_{aj})	p
Sexo				**0,043**
Masculino	1	1		
Feminino	1,21	1,26	1,01 - 1,58	
Infecção confirmada por CHIKV				**0,009**
Não	1	1		
Sim	0,50	0,35	0,16 - 0,77	
Tempo com apresentação de sintoma(s) (em dias)				**0,019**
< 3	1	1		
≥ 3	0,75	0,80	0,66 - 0,96	
Exantema				**0,013**
Não	1	1		
Sim	1,33	1,31	1,06 - 1,62	
Mialgia				**0,029**
Não	1	1		
Sim	0,80	0,81	0,67 - 0,98	

RP_{br}: razão de prevalência bruta
RP_{aj}: razão de prevalência ajustada

De modo mais detalhado pode-se dizer que na população estudada de casos notificados como suspeitos de zikavirose, a infecção por ZIKV foi 26% [RP=1,26 (1,01 – 1,58)] mais frequente em mulheres quando comparadas aos homens, independentemente do diagnóstico ou não de CHIKV, do tempo de apresentação do(s) sintoma(s) e de ter ou não exantema ou mialgia. Ao contrário, nos indivíduos com infecção pelo CHIKV, a infecção por ZIKV foi 65% menos frequente quando comparada aos indivíduos sem aquela arbovirose [RP=0,35 (0,16 – 0,77)], independentemente do sexo, do tempo de apresentação do(s) sintoma(s) e de ter ou não exantema ou mialgia.

Além disso, para aqueles com relato de apresentação dos sintomas há 3 ou mais dias, a infecção por ZIKV foi 20% menos frequente do que para aqueles que relataram fase sintomática mais precoce [RP=0,80 (0,66 – 0,96)], independentemente do sexo, do diagnóstico ou não de infecção pelo CHIKV e de ter ou não exantema ou mialgia.

Em relação aos participantes com exantema, a infecção por ZIKV foi 31% mais frequente do que entre aqueles sem esse sintoma [RP=1,31 (1,06 – 2,26)], independentemente do sexo, do diagnóstico ou não de infecção pelo CHIKV, do tempo de apresentação do(s) sintoma(s) e de ter ou não mialgia. Por outro lado, a infecção por ZIKV foi 19% menos frequente entre os pacientes que relataram mialgia quando comparados aos que desenvolveram esse sintoma [RP=0,81 (0,67 – 0,98)], independentemente do sexo, do diagnóstico ou não de infecção por CHIKV, do tempo de apresentação do(s) sintoma(s) e de ter ou não exantema.

5.4 Análises complementares

Adicionalmente conduziram-se análises comparativas por estratos com o intuito de obter-se conhecimento mais aprofundado da distribuição das manifestações clínicas nos 372 participantes com confirmação virológica da infecção pelo ZIKV, desagregando a população segundo faixa etária, sexo e *status* gestacional (Tabelas 8, 9 e 10). Vale a pena destacar que dentre esses 72 pacientes, apenas 286 (76,9%) apresentavam registro de sintoma(s) relatado.

5.4.1 Comparação por idade

Observou-se que os participantes com 20 ou mais anos de idade apresentaram maior ocorrência de mialgia (p=0,006), de artralgia/artrite (p<0,001) e de conjuntivite (p=0,008), enquanto os menores de 20 anos apresentaram mais frequentemente relato de febre (p=0,004) (Tabela 8).

Tabela 8. Distribuição das características clínicas em participantes infectados pelo ZIKV segundo faixa etária. Tocantins, Brasil, 2015 e 2016.

VARIÁVEIS	IDADE				p
	<20 (n=71)		≥20 (n=215)		
	n	%	n	%	
Tempo com apresentação de sintomas (em dias)					0,646
Mediana (mín - máx)	3 (0 - 7)		2 (0 - 7)		
Exantema					0,212
Não	16	22,5	65	30,2	
Sim	55	77,5	150	69,8	
Mialgia					**0,006**
Não	53	74,6	121	56,3	
Sim	18	25,4	94	43,7	
Prurido					0,405
Não	42	59,2	115	53,5	
Sim	29	40,8	100	46,5	
Edema					0,051#
Não	70	98,6	197	91,6	
Sim	1	1,4	18	8,4	
Manifestações gastrintestinais*					0,425
Não	66	93,0	193	89,8	
Sim	5	7,0	22	10,2	
Artralgia / artrite					**<0,001**
Não	57	80,3	106	49,3	
Sim	14	19,7	109	50,7	
Conjuntivite					**0,008**
Não	67	94,4	174	80,9	
Sim	4	5,6	41	19,1	
Febre					**0,004**
Não	24	33,8	115	53,5	
Sim	47	66,2	100	46,5	
Cefaleia					0,947
Não	35	49,3	105	48,8	
Sim	36	50,7	110	51,2	
Manifestações hemorrágicas**					0,530#
Não	69	97,2	203	94,4	
Sim	2	2,8	11	5,1	

(*) Náuseas, vômitos, diarreia
(**) Epistaxe, sangramento gengival, sangramento vaginal normal, hematúria, petéquias

5.4.2 Comparação por sexo

As mulheres apresentaram maior frequência de prurido (p=0,028) e de edema (p=0,009) quando comparadas aos homens (Tabela 9). Não foram observadas diferenças com relação às demais variáveis.

Tabela 9. Distribuição das características clínicas em participantes infectados pelo ZIKV segundo sexo. Tocantins, Brasil, 2015 e 2016.

VARIÁVEIS	SEXO				p
	masculino (n=66)		feminino (n=220)		
	n	%	n	%	
Tempo com apresentação de sintomas (em dias)					0,284
Mediana (mín - máx)	2 (0 - 7)		2 (0 - 7)		
Exantema					0,250
Não	15	22,7	66	30,0	
Sim	52	78,8	154	70,0	
Mialgia					0,808
Não	41	62,1	133	60,5	
Sim	25	37,9	87	39,5	
Prurido					**0,028**
Não	44	66,7	113	51,4	
Sim	22	33,3	107	48,6	
Edema					**0,009#**
Não	66	100	201	91,4	
Sim	0	0,0	19	8,6	
Manifestações gastrintestinais*					0,555
Não	61	92,4	198	90,0	
Sim	5	7,6	22	10,0	
Artralgia / artrite					0,647
Não	36	54,5	127	57,7	
Sim	30	45,5	93	42,3	
Conjuntivite					0,594
Não	57	86,4	184	83,6	
Sim	9	13,6	36	16,4	
Febre					0,088
Não	26	39,4	113	51,4	
Sim	40	60,6	107	48,6	
Cefaleia					0,931
Não	32	48,5	108	49,1	
Sim	34	51,5	112	50,9	
Manifestações hemorrágicas**					0,739#
Não	64	97,0	209	95,0	
Sim	2	3,0	11	5,0	

(*) Náuseas, vômitos, diarreia
(**) Epistaxe, sangramento gengival, sangramento vaginal normal, hematúria, petéquias
teste exato de Fisher

5.4.3 Comparação por *status* gestacional

Dentre as 220 mulheres com infecção pelo ZIKV e com registro de sintomas, 170 (77,3%) encontravam-se em idade fértil (10 a 49 anos): 70 gestantes, 94 não gestantes e para 6 não havia informação sobre gestação. Ao comparar gestantes e não gestantes em idade fértil (Tabela 10), não foi observada diferença com significância estatística na ocorrência de exantema, mialgia, prurido, edema, manifestações gastrintestinais, artralgia/artrite, febre, cefaleia e manifestações hemorrágicas. Notou-se apenas que houve mais casos de conjuntivite no grupo de não gestantes (p=0,004).

Tabela 10. Distribuição das características clínicas em mulheres em idade fértil segundo status gestacional. Tocantins, Brasil, 2015 e 2016.

VARIÁVEIS	GESTANTES				p
	Não (n=94)		Sim (n=70)		
	n	%	n	%	
Tempo com apresentação de sintomas (em dias)					0,217
Mediana (mín – máx)	2 (0 – 7)		2 (0 – 7)		
Exantema					0,251
Não	22	23,4	22	31,4	
Sim	72	76,6	48	68,6	
Mialgia					0,096
Não	51	54,3	47	67,1	
Sim	43	45,7	23	32,9	
Prurido					0,094
Não	50	53,2	28	40,0	
Sim	44	46,8	42	60,0	
Edema					0,410
Não	89	94,7	64	91,4	
Sim	5	5,3	6	8,6	
Manifestações gastrintestinais*					0,743
Não	86	91,5	63	90,0	
Sim	8	8,5	7	10,0	
Artralgia / artrite					0,307
Não	53	56,4	45	64,3	
Sim	41	43,6	25	35,7	
Conjuntivite					**0,004**
Não	71	75,5	65	92,9	
Sim	23	24,5	5	7,1	
Febre					0,085
Não	45	47,9	43	61,4	
Sim	49	52,1	27	38,6	
Cefaleia					0,190
Não	44	46,8	40	57,1	
Sim	50	53,2	30	42,9	
Manifestações hemorrágicas**					>0,999#
Não	89	94,7	67	95,7	
Sim	5	5,3	4	5,7	

(*) Náuseas, vômitos, diarreia
(**) Epistaxe, sangramento gengival, sangramento vaginal normal, hematúria, petéquias
#: teste exato de Fisher

5.4.4 Características dos pacientes monoinfectados por arbovírus

Observaram-se 439 participantes monoinfectados por arbovírus, sendo 350 por ZIKV, 50 por CHIKV e 39 por DENV. Os monoinfectados por uma dessas três arboviroses não diferiram entre si quanto à distribuição por idade, sexo, raça, escolaridade e tempo com apresentação de sintoma (Tabela 11). Tampouco apresentaram diferença, com significância estatística, na ocorrência de exantema, mialgia, edema, manifestações gastrintestinais, artralgia/artrite, conjuntivite, cefaleia e manifestações hemorrágicas.

Entretanto, o relato de prurido foi mais prevalente nos indivíduos com infecção confirmada por ZIKV quando comparados aos infectados isoladamente por DENV (p=0,001): 45,9% dos participantes com infecção confirmada por ZIKV apresentaram prurido, enquanto esse sintoma só foi relatado por 14,3% dos participantes com infecção confirmada por DENV. Já a febre foi mais frequente entre os participantes com infecção única por DENV quando comparados aos infectados unicamente por ZIKV (p=0,023): 74,3% dos participantes com infecção confirmada por DENV e 50,7% dos participantes com infecção confirmada por ZIKV.

Tabela 11. Distribuição das características sociodemográficas e clínicas em monoinfectados segundo vírus diagnosticado. Tocantins, Brasil, 2015 e 2016.

VARIÁVEIS	ZIKV (n=350)		CHIKV (n=50)		DENV (n=39)		p
	n	%	n	%	n	%	
Idade (anos) (n=349)							0,982
< 20	85	24,4	12	24,0	10	25,6	
≥ 20	264	75,6	38	76,0	29	74,4	
Sexo (n=350)							0,936
Masculino	84	24,0	13	26,0	10	25,6	
Feminino	266	76,0	37	74,0	29	74,4	
Raça/cor (n=255)							0,597
Branca/Amarela/Indígena	67	26,3	5	18,5	7	30,4	
Parda/Preta	188	73,7	22	81,5	16	69,6	
Escolaridade (n=226)							0,724
< 8 anos	64	28,3	8	36,4	4	30,8	
≥ 8 anos	162	71,7	14	63,6	9	69,2	
Tempo com apresentação de sintomas (em dias) (n=350)							0,299
< 3	170	48,6	20	40,0	22	56,4	
≥ 3	180	51,4	30	60,0	17	43,6	
Exantema (n=335)							0,441
Não	80	29,6	10	33,3	14	40,0	
Sim	190	70,4	20	66,7	21	60,0	
Mialgia (n=335)							0,076
Não	165	61,1	15	50,0	15	42,9	
Sim	105	38,9	15	50,0	20	57,1	
Prurido (n=335)							**0,001**[#]
Não	146	54,1	21	70,0	30	85,7	
Sim	124	45,9	9	30,0	5	14,3	
Edema (n=335)							0,381
Não	252	93,3	26	86,7	33	94,3	
Sim	18	6,7	4	13,3	2	5,7	
Manifestações gastrintestinais* (n=335)							0,434
Não	243	90,0	27	90,0	29	82,9	
Sim	27	10,0	3	10,0	6	17,1	
Artralgia/artrite (n=335)							0,524
Não	152	56,3	14	46,7	21	60,0	
Sim	118	43,7	16	53,3	14	40,0	
Conjuntivite (n=335)							0,546
Não	227	84,1	23	76,7	30	85,7	
Sim	43	15,9	7	23,3	5	14,3	
Febre (n=335)							**0,018**[##]
Não	133	49,3	11	36,7	9	25,7	
Sim	137	50,7	19	63,3	26	74,3	
Cefaleia (n=335)							0,244
Não	132	48,9	13	43,3	12	34,3	
Sim	138	51,1	17	56,7	23	65,7	
Manifestações hemorrágicas (n=335)**							0,881
Não	258	95,6	29	96,7	34	97,1	
Sim	12	4,4	1	3,3	1	2,9	

(*) Náuseas, vômitos, diarreia

(**) Epistaxe, sangramento gengival, sangramento vaginal normal, hematúria, petéquias

#: ZIKV *versus* CHIKV p=0,202; ZIKV *versus* DENV p=0,001; CHIKV *versus* DENV p=0,393

##: ZIKV *versus* CHIKV p=0,383; ZIKV *versus* DENV p=0,023; CHIKV *versus* DENV p=0,647

5.4.5 Características dos participantes com infecção por mais de um arbovírus

Vinte e seis participantes apresentaram infecção confirmada por mais de um arbovírus (Tabela 12).

Tabela 12. Distribuição das características sociodemográficas, virológicas e clínicas em participantes com detecção de pelo menos dois arbovírus. Tocantins, Brasil, 2015 e 2016.

VARIÁVEIS	n	%
Idade (anos)		
Mediana (mín - máx)	29,7 (3 dias - 74,4)	
< 1	2	7,7
1 a 9	2	7,7
10 a 19	4	15,4
20 a 29	5	19,2
30 a 39	4	15,4
40 a 49	4	15,4
50 a 59	2	7,7
≥ 60	3	11,5
Raça/cor		
Branca	4	15,4
Parda/Preta	6	23,1
Ignorada	16	61,5
Escolaridade		
Analfabeto	4	15,4
Médio incompleto	3	11,5
Médio completo	3	11,5
Superior incompleto	1	3,8
Ignorada	15	57,7
Infecção confirmada por DENV		
Não	10	38,5
Sim	16	61,5
Infecção confirmada por CHIKV		
Não	11	42,3
Sim	15	57,7
Infecção confirmada por ZIKV		
Não	4	15,4
Sim	22	84,6
Nº arbovírus confirmados		
2	25	96,2
3	1	3,8
Tempo com apresentação de sintoma(s) (em dias)		
Mediana (mín - máx)	2 (0 - 6)	
Exantema		
Não	2	7,7
Sim	17	65,4
Ignorado	7	26,9
Mialgia		
Não	11	42,3
Sim	8	30,8
Ignorado	7	26,9
Prurido		
Não	13	50,0
Sim	6	23,1
Ignorado	7	26,9

Tabela 12 (continuação). Distribuição das características sociodemográficas, virológicas e clínicas em participantes com detecção de pelo menos dois arbovírus. Tocantins, Brasil, 2015 e 2016.

VARIÁVEIS	n	%
Edema		
Não	18	69,2
Sim	1	3,8
Ignorado	7	26,9
Manifestações gastrintestinais*		
Não	17	65,4
Sim	2	7,7
Ignorado	7	26,9
Artralgia/artrite		
Não	12	46,2
Sim	7	26,9
Ignorado	7	26,9
Conjuntivite		
Não	17	65,4
Sim	2	7,7
Ignorado	7	26,9
Febre		
Não	6	23,1
Sim	13	50,0
Ignorado	7	26,9
Cefaleia		
Não	9	34,6
Sim	10	38,5
Ignorado	7	26,9
Manifestações hemorrágicas**		
Não	18	69,2
Sim	1	3,8
Ignorado	7	26,9

(*) Náuseas, vômitos, diarreia
(**) Epistaxe, sangramento gengival, sangramento vaginal normal, hematúria, petéquias

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Nosso estudo, realizado durante a epidemia de infecção por ZIKV no estado do Tocantins entre 2015 e 2016, compreendeu a avaliação de 1.137 casos notificados como suspeitos dessa infecção em base clínico-epidemiológica e submetidos a confirmação diagnóstica por métodos virológicos moleculares. Foi, assim, possível avaliar as características sociodemográficas e clínicas do grupo de indivíduos com viremia detectável por ZIKV e estabelecer comparações de tais achados em relação aos observados em casos contemporâneos não infectados por ZIKV, mas positivos para outras infecções agudas por arbovírus (DENV/CHIKV) ou mesmo, sem infecções detectadas.

Neste capítulo serão discutidos os aspectos sociodemográficos e clínicos dos casos suspeitos e confirmados com infecção por ZIKV, a frequência das infecções por ZIKV e outros arbovírus durante o mencionado surto epidêmico, a avaliação dos possíveis fatores associados à infecção por ZIKV, análises comparativas entre os participantes com infecção pelo ZIKV de forma desagregada em relação às faixas etárias, sexo e status gestacional, e descritas as características das coinfecções por arbovírus.

A relação entre os casos negativos e positivos para arbovírus nos pacientes avaliados foi de aproximadamente 60% para 40%, semelhante à observada por Silva e colaboradores, em análise conduzida na cidade de Salvador, Bahia, entre setembro de 2014 a julho de 2016, demonstrando a fragilidade dos critérios clínicos utilizados para o diagnóstico (52).

Dentre os positivos para arboviroses no presente estudo, o diagnóstico de infecção exclusivamente por ZIKV foi confirmado em 372/1.137 pacientes, o que nos permitiu estimar a prevalência de infecção por ZIKV na amostra estudada em 32,7% (IC95% 30,0-35,5). De forma semelhante, em estudo anterior

realizado no Rio de Janeiro entre janeiro e julho de 2015, que incluiu ensaios para detecção de ZIKV, CHIKV e DENV em 364 casos suspeitos de doença pelo ZIKV, observou-se que dos 72% testados, 45% tiveram o diagnóstico confirmado pela detecção de RNA do ZIKV (45). Assim também, nas cidades de Araraquara e Ribeirão Preto, estimou-se prevalência de 40% (94/235) de infecção por ZIKV em pacientes com 16 anos ou mais entre casos suspeitos (53).

O diagnóstico de outras arboviroses transmitidas por mosquitos vetores pode também ser confirmado entre os pacientes notificados como suspeitos de zikavirose no estado do Tocantins. Em nosso estudo demonstrou-se a participação de outras arboviroses em 20% (93/465) da amostra, pacientes nos quais as infecções por DENV e/ou CHIKV foram confirmadas na ausência de ZIKV. Dada a semelhança das manifestações clínicas dessas arboviroses tal achado é esperado. De fato, no estudo previamente citado, realizado nas cidades de Araraquara e Ribeirão Preto, ao se avaliarem casos suspeitos para infecção por ZIKV detectou-se uma frequência de RT-PCR positiva para DENV de 10% (53).

Quando se utilizam critérios sorológicos para estimar a prevalência de infecção por ZIKV, os resultados podem ser ainda mais expressivos, conforme descrito durante o surto de zikavirose ocorrido entre outubro de 2013 a abril de 2014 na Polinésia Francesa, em que se estimou uma taxa de soroprevalência de infecção por ZIKV de 49% (IC95% 42%-57%) a partir da identificação de anticorpos IgG anti-ZIKV em inquérito de base populacional. Cabe ressaltar que, conforme descrito nesse trabalho, apenas cerca de 11,5% da população havia procurado atendimento médico por sintomas sugestivos de infecção por ZIKV, sugerindo, portanto, que a maioria das pessoas infectadas tenha apresentado infecção assintomática ou não tenha buscado assistência médica por outro motivo. De fato, 43% (IC95% 33%-53%) dos participantes não relatavam história de sintomas (54).

Ao lado disso, sabe-se que, mesmo em casos sintomáticos, é difícil distinguir as manifestações clínicas da zikavirose daquelas encontradas em

outras infecções arbovirais, como as causadas por DENV ou CHIKV, geralmente observadas nas mesmas áreas geográficas (55), ou mesmo em outras infecções agudas. Esse fato, juntamente com o acesso limitado a testes diagnósticos em países endêmicos, pode ter levado ao subdiagnóstico da zikavirose em muitos casos, tornando difícil estimar o risco real de infecção para populações expostas de residentes e viajantes (56). Por outro lado, deve-se reconhecer que, mesmo quando disponíveis tais testes, a interpretação cuidadosa dos resultados da RT-PCR para detecção do RNA viral no sangue periférico dos indivíduos acometidos depende do momento da coleta da amostra biológica, podendo haver resultados falso-negativos em função da cinética de viremia observada em cada infecção (57–59). Nesse particular, buscamos reduzir potencial viés de aferição do desfecho de interesse ao excluir da análise os indivíduos cujas amostras haviam sido colhidas sete dias ou mais após o início dos sintomas.

Os resultados encontrados em nosso estudo e na literatura com relação à frequência de casos positivos para zikavirose, a participação de outras arboviroses, a ocorrência de infecção assintomática e a dificuldade para distinguir as manifestações clínicas das arboviroses, justificaram o objetivo de identificar possíveis fatores associados à infecção por ZIKV em nosso estudo, o que passaremos a discutir a seguir.

Identificou-se que a infecção por ZIKV na população estudada esteve independentemente associada ao relato de exantema (p=0,009) e que a infecção por ZIKV foi 31% mais frequente entre os participantes com exantema em relação aos que não apresentavam tal sintoma [RP=1,31 (IC95% 1,06-2,26)]. Analogamente, no estudo de Crespillo-Andújar e colaboradores (56), ao se avaliarem as características da infecção pelo ZIKV entre viajantes internacionais, foi identificado que o relato de exantema estava associado a um risco de infecção confirmada por ZIKV 72,3 (IC 95% 9,2-563,5) vezes maior.

Em relação ao sexo, o presente estudo evidenciou que a infecção por ZIKV foi 26% [RP=1,26 (1,01-1,58)] mais frequente em mulheres quando comparadas aos homens (p=0,043), após controle para outras variáveis em

modelo de regressão múltipla. De modo semelhante, Zambrana e colaboradores demonstraram após a epidemia por ZIKV ocorrida em 2016 em Manágua, Nicarágua, que a soroprevalência de ZIKV em mulheres adultas foi 1,14 (IC 95%: 1,01-1,28) vezes à observada em homens adultos (60). Embora outros estudos nacionais e internacionais também evidenciem maior frequência de mulheres com infecção por ZIKV (2,10,61), a justificativa para tal achado ainda é objeto de discussão. No Rio de Janeiro, em estudo publicado em 2016, demonstrou-se que as mulheres na faixa etária sexualmente ativa apresentavam maior probabilidade de terem sido infectadas pelo ZIKV do que os homens (mais de 90% de aumento), diferentemente do observado em outras faixas etárias, o que levou os autores a sugerirem a transmissão sexual como causa mais provável da diferença observada, além do fato de as mulheres serem mais cuidadosas com sua saúde (62). Por outro lado, apesar da investigação de infecção por ZIKV conduzida no Canadá em viajantes procedentes de áreas de transmissão dessa arbovirose entre outubro de 2015 a junho de 2017, também ter identificado predomínio de mulheres [326 (64%) versus 181 (35%) entre homens com infecção confirmada], tal resultado foi interpretado pelos autores como mais provavelmente decorrente de viés de gênero nas frequências de testagem e notificação, do que em diferenças biológicas na susceptibilidade ou exposição ao ZIKV propriamente ditas (63). Finalmente, o modelo matemático desenvolvido por Maxian e colaboradores (64) com base em estimativas brasileiras de 2015 para avaliar a dinâmica de transmissão do ZIKV, também encontrou diferença estatisticamente significativa, embora menor, no número médio de casos em homens e mulheres, com maior acometimento da população feminina, tanto no pico da epidemia quanto na fase de equilíbrio. Porém, os autores reforçaram que, embora os achados pudessem sugerir uma disparidade intrínseca no risco de infecção entre homens e mulheres, tal diferença tende a se reduzir ao longo da progressão da epidemia, com a elevação progressiva das taxas de infecção em crianças. Dessa forma, eventuais diferenças de risco entre os sexos não poderiam justificar o número muito maior de casos relatados entre mulheres na literatura, reforçando, portanto, a hipótese de que haja um grande viés de notificação.

Ao avaliarmos a possível correlação com outras arboviroses, verificamos que no estado do Tocantins a infecção por ZIKV foi independentemente associada à ausência de infecção pelo CHIKV (p=0,009). Nesse contexto, Fuller e colaboradores correlacionaram fatores de risco comportamentais, climáticos e ambientais para avaliar a dinâmica das infecções pelos ZIKV e CHIKV ocorridas no estado do Rio de Janeiro, entre 2015 e 2016 (65), reconhecendo que os estudos de modelagem indicam que quando dois arbovírus estão presentes em uma população humana, a emergência de um vírus geralmente leva a infecção causada pelo outro à extinção (66). Assim, os autores propuseram que a alta variabilidade do período de infectividade do CHIKV pode ter determinado a extinção de sua transmissão em 2015, em momento coincidente à emergência da maior onda da epidemia pelo ZIKV. Corroborando nossos achados, Brasil e colaboradores (67) descreveram no Rio de Janeiro, entre setembro de 2015 a maio de 2016, 182/345 (53%) mulheres infectadas pelo ZIKV, sendo que a infecção pelo CHIKV foi identificada em frequências significativamente distintas entre as infectadas ou não por ZIKV (42% naquelas sem infecção pelo ZIKV versus 3% nas mulheres com infecção por esse flavivírus).

Outros fatores identificados como independentemente associados à infecção confirmada por ZIKV na amostra de pacientes avaliados no Tocantins como presença de exantema e ausência de relato de mialgia, corroboram evidências da literatura observadas em séries de casos brasileiros e de viajantes procedentes de áreas de transmissão da infecção (56,67). Ao lado desses, tempo com apresentação de sintoma(s) inferior a 3 dias foi igualmente associado à zikavirose neste estudo, o que pode ser atribuído ao caráter agudo das manifestações clínicas dessa arbovirose, cuja evolução é habitualmente autolimitada, resolvendo-se em alguns dias (10,37).

Adicionalmente, conduzimos análises comparativas entre os 286 participantes que apresentavam confirmação virológica da infecção pelo ZIKV e registro de sintomas relatados com o intuito de identificar possíveis peculiaridades na exteriorização clínica dessa arbovirose em diferentes grupos populacionais. Assim, ao compará-los segundo faixa etária, verificou-se que na

população de infectados com idade menor de 20 anos o relato de febre foi mais frequente (p=0,004), enquanto na população adulta (com 20 ou mais anos de idade) houve maior ocorrência de mialgia (p=0,006), artralgia/artrite (p<0,001). Nesse aspecto nossos achados contrastam com os descritos em estudos realizados em 2007 na ilha Yap, Micronesia (2) e nos EUA entre janeiro de 2015 a julho de 2016 (68), nos quais os autores sugerem que os sinais e sintomas da zikavirose em crianças são semelhantes aos observados em adultos infectados. Deve-se, contudo, ter em mente que a artralgia é, por vezes, mais difícil de detectar em crianças, podendo o comprometimento articular pela infecção se manifestar na população pediátrica como irritabilidade, dor à palpação da articulação comprometida, andar mancando, recusa em mover-se ou mesmo em mover-se com grande dificuldade (69).

Nosso estudo também evidenciou em indivíduos com idade igual ou superior a 20 anos maior frequência de relato de conjuntivite (p=0,008), considerada um dos sinais mais comuns da infecção por ZIKV (37,70).

Ao se compararem as variáveis clínicas entre os sexos, observou-se que as mulheres avaliadas neste estudo apresentaram maior frequência de prurido (p=0,028) e de edema (p=0,009), não sendo observadas diferenças com relação aos demais sinais e sintomas. Diferenças na apresentação clínica da zikavirose entre homens e mulheres foram previamente descritas por Haque et al. (71) em série de casos acompanhada no México, na qual se identificou relato mais frequente de poliartralgia na população feminina. Todavia, no referido estudo não houve menção à ocorrência de edema ou prurido na análise comparativa entre os sexos.

A população feminina deste estudo foi composta por 220 mulheres com infecção confirmada pelo ZIKV e registro de sintomas, 170 (77,3%) das quais se encontravam em idade fértil (10 a 49 anos), sendo 70 gestantes, 94 não gestantes e 6 cujo *status* gestacional não foi informado. As manifestações mais comumente relatadas nessa população incluíram exantema, prurido, febre, mialgia, artralgia/artrite e cefaleia, como previamente descrito (67,72,73). As

manifestações clínicas da infecção por ZIKV encontradas em gestantes não diferiram das descritas no grupo de mulheres em idade fértil não gestantes, exceto pelo relato de conjuntivite, identificado mais frequentemente no grupo de não gestantes (p=0,004), observação esta que não se pode confrontar com outras séries de casos pela indisponibilidade de comparações clínicas entre gestantes e não gestantes com zikavirose. Não obstante, pode-se afirmar não haver evidências que sugiram que as mulheres grávidas sejam mais suscetíveis à infecção pelo vírus Zika e, tampouco, que uma vez acometidas possuam risco acrescido de evolução mais grave, independentemente do período da gestação em que incidir a infecção (73–75).

A maior frequência de infecção pelo ZIKV nas mulheres e ausência de diferenças significativas em praticamente em todas as manifestações clínicas, excetuando-se casos de conjuntivite mais frequente no grupo de não gestantes (p=0,004) encontrado em nosso estudo, juntamente com a ocorrência das síndrome congênita associadas a infecção pelo ZIKV (43,44,67) reforça a importância dos profissionais de saúde perguntarem a todas as mulheres grávidas sobre viagens recentes e se estão cientes de possível exposição a áreas com transmissão do ZIKV. Mulheres que viajaram durante a gravidez para uma área com transmissão contínua do ZIKV e aquelas que residem nessas áreas devem ser avaliadas para essa arbovirose (74).

Ao caracterizarmos a população do estudo em sua totalidade, composta por 1.137 casos suspeitos e confirmados com infecção por ZIKV, observou-se que a grande maioria era do sexo feminino (72,4%). Diferença de gênero também foi observada em surto ocorrido em Barbados, onde Ryan e colaboradores identificaram que as mulheres representavam 71,9% dos casos notificados como suspeitos de infecção por ZIKV, permanecendo tal diferença (78,2%) entre os casos confirmados como zikavirose (76). Na fronteira colombiano-venezuelana, foram relatadas entre casos suspeitos das arboviroses (CHIKV, DENV e/ou ZIKV), embora sem diferenças significativas, frequências aumentadas entre mulheres tanto no grupo confirmado com infecção por arbovírus quanto no grupo de pacientes negativos para essas arbovírus (69,5%

e 61,3%) respectivamente (77). No Brasil, um estudo realizado no estado de São Paulo evidenciou que entre todos os pacientes suspeitos de infecção por ZIKV, 66% eram do sexo feminino (70).

A preponderância de casos clinicamente evidentes de ZIKV em mulheres pode ser devida a vários fatores: um possível risco aumentado de infecção relacionado ao gênero, uma consequência de um comportamento mais frequente de procurar serviços de saúde entre as mulheres e/ou o fato de as mulheres grávidas provavelmente serem mais submetidas à investigação diagnóstica molecular de infecções à luz das evidências em evolução da síndrome congênita do ZIKV (61,77).

Dentre os aspectos sociodemográficos e clínicos dos casos suspeitos e confirmados com infecção por ZIKV, a maioria dos investigados apresentou idade entre 10 a 49 anos e tempo mediano do relato de sintoma(s) foi de 3 dias, semelhante ao descrito em estudos no Brasil (9) e outros países (4). As manifestações clinicas observadas com maior frequência foram exantema, cefaleia, febre, artralgia/artrite, mialgia e prurido, analogamente ao descrito na cidade de São José do Rio Preto, São Paulo, entre janeiro e novembro de 2016 (70).

No tocante aos resultados virológicos, cabe destacar a identificação de 2,3% dos indivíduos infectados simultaneamente com 2 ou mais arbovírus, reforçando a importância dessa investigação face à superposição de manifestações clínicas observadas em tais afecções, conforme relatos internacionais, tanto referentes à ocorrência de dupla coinfecção ZIKV/DENV (5,16,77,78), ZIKV/CHIKV (16,77), DENV/CHIKV (14,16,45,77,79) como, até mesmo, de tripla coinfecção ZIKV/DENV/CHIKV (77).

Identificamos a infecção por DENV em 5% dos participantes, demonstrando que a manifestação clínica da zikavirose é muito semelhante à dengue, podendo ser esperados problemas decorrentes de diagnóstico incorreto e subdiagnóstico da infecção pelo ZIKV em áreas endêmicas de infecção por DENV (80). Ressalta-se, ainda, a preocupação referente ao risco elevado de

infecção sintomática por DENV2 e doença grave associada a uma infecção anterior por ZIKV, uma infecção anterior por DENV ou uma infecção anterior por DENV seguida por uma infecção por ZIKV, em comparação com a condição de ser virgem para flavivírus, conforme evidenciado no estudo de coorte pediátrica prospectiva realizado na Nicarágua após as epidemias sequenciais de DENV1 a 3 (2004 a 2015), Zika (2016 a 2017) e DENV2 (2018 a 2020) (81).

Nas infecções mistas por diferentes arbovírus também são relatadas manifestações como febre, artralgia, erupção cutânea, náusea, conjuntivite, dor retro-orbital, cefaleia, mialgia e vômito, consideradas como aspectos clínicos comuns entre os mono- e coinfectados (77). Entretanto, nesse contexto, há estudos que descrevem maior gravidade nos casos de coinfecção DENV/CHIKV com ocorrência de hemorragia e envolvimento do sistema nervoso central (79,82), fato este não observado em nosso estudo.

Por outro lado, deve-se considerar que a circulação de três arbovírus transmitidos pelo mesmo mosquito, *A. aegypti*, pode causar incremento de morbidade e de complicações associadas às infecções causadas pelos diversos agentes, aumentando, dessa maneira, a demanda por serviços de saúde e outros serviços de apoio na região afetada.

É importante apontar as limitações do nosso estudo. Assim, deve-se inicialmente ressaltar a natureza da pesquisa, baseada exclusivamente em dados secundários. As informações relativas às variáveis clínicas e epidemiológicas de interesse dos casos notificados como suspeitos de zikavirose foram obtidas de bancos de dados de notificação de agravos à saúde (SINAN) e de registro de resultados de testes laboratoriais em saúde pública (GAL), que têm como finalidade precípua registrar dados para subsidiar as ações de vigilância epidemiológica e não especificamente para embasar a investigação científica. Nessa situação e, particularmente, no contexto de uma doença emergente como a zikavirose, pressupunha-se que uma parcela significativa dos registros pudesse conter informações incompletas. De fato, verificou-se ausência de qualquer informação relativa a manifestações clínicas em 312/1137

das fichas de notificação analisadas, correspondendo a 27,4% da amostra estudada. Ressalta-se, contudo, que os sujeitos dos quais se logrou obter dados clínicos não diferiram significativamente daqueles sem informação, no tocante ao sexo e à faixa etária, minimizando potencial viés de informação. Entretanto, observou-se maior frequência de relato de informações clínicas entre gestantes, quando comparadas às mulheres em idade fértil não gestantes. Tal diferença pode estar relacionada à maior preocupação devido ao conhecimento de informações relacionadas as possíveis alterações fetais correlacionadas a infeção polo ZIKV (43,67), conforme evidenciado em outras localidades como em Barbados, uma pequena ilha no Mar do Caribe (76), acarretando durante a gestação procura em maior frequência e mais precocemente aos serviços de saúde.

Além disso, o fato deste estudo ter sido realizado com dados coletados no início da epidemia de infecção pelo ZIKV, uma doença até então não identificada anteriormente no Brasil, pode ter levado a dificuldades no diagnóstico diferencial inicial de outras arboviroses. Por fim, sabe-se que o RNA do ZIKV é detectável apenas brevemente durante a doença aguda e que a maioria dos indivíduos infectados apresenta nenhum ou apenas sintomas leves para indicar a ocorrência de uma infecção (83). Dessa forma, uma parcela desconhecida de indivíduos não virêmicos poderia de fato ter sido infectada pelo ZIKV. Infelizmente, as amostras disponíveis para teste tinham volume insuficiente para permitir a condução, em paralelo, de testes sorológicos para detecção de anticorpos anti-ZIKV da classe IgM, cuja identificação permitiria confirmar o diagnóstico de zikavirose, mesmo na ausência de viremia. Além disso, a especificidade dos ensaios sorológicos para pesquisa de anticorpos anti-ZIKV é uma preocupação em regiões onde a dengue é endêmica, face à possibilidade de sororreatividade cruzada entre os flavivírus (84).

Entendemos que, apesar dessas limitações, o fato de termos conseguido avaliar um grande número de indivíduos e obtido resultados que, em sua maioria, corroboraram evidências advindas de investigações anteriores, respalda a presente caracterização clínica e epidemiológica da infecção por ZIKV incidente no estado do Tocantins nos anos de 2015 e 2016.

Espera-se que os aspectos levantados nesta tese possam colaborar para maior compreensão da infecção pelo ZIKV, tanto no tocante à caracterização epidemiológica e clínica em diferentes grupos populacionais, como na diferenciação diagnóstica com outras arboviroses de modo a contribuir para subsidiar ações de prevenção e controle desses agravos na população residente em áreas de transmissão e viajantes.

7 CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

Este estudo, ao analisar uma série de casos notificados como suspeitos de infecção pelo vírus Zika no estado do Tocantins no ano de 2015 e 2016, permite concluir que:

- entre os casos notificados com tal suspeição diagnóstica, 40% tiveram o diagnóstico de infecção por pelo menos um arbovírus confirmado em testes moleculares, considerando-se as infecções por ZIKV, DENV e CHIKV, sendo que cerca de 2% dos infectados apresentavam coinfecção por 2 ou mais desses arbovírus;

- a prevalência de infecção por ZIKV na amostra estudada foi de 32,7% (IC 95%: 30,0 - 35,5).

- à análise bivariada houve associação significativa entre infecção por ZIKV e tempo com apresentação de sintoma(s) de até 3 dias, relato de exantema, ausência de infecção por CHIKV e ausência de relato de mialgia;

- à análise de regressão múltipla de Poisson, identificou-se que a infecção por ZIKV foi 26% mais frequente nas mulheres, 65% menos frequente em pacientes com infecção pelo CHIKV, 20% menos frequente naqueles com relato de apresentação dos sintomas há 3 ou mais dias do diagnóstico, 31% mais frequente entre os participantes com relato de exantema e 19% menos frequente entre os pacientes que relataram mialgia;

- entre os participantes com confirmação virológica de infecção pelo ZIKV:
    - aqueles com 20 ou mais anos de idade apresentaram significativamente maior frequência de mialgia, artralgia/artrite e conjuntivite, enquanto os menores de 20 anos apresentaram mais frequentemente febre; as mulheres apresentaram significativamente maior frequência de prurido e edema quando comparadas aos homens;
    - não foi observada diferença com significância estatística na ocorrência de exantema, mialgia, prurido, edema, manifestações gastrintestinais, artralgia/artrite, febre, cefaleia e manifestações hemorrágicas entre gestantes e não gestantes em idade fértil; apenas os casos de conjuntivite foram mais frequentes no grupo de não gestantes (p=0,004);
- entre os monoinfectados por uma das três arboviroses investigadas, não houve diferença significativa em relação a características sociodemográficas. Do ponto de vista clínico, o prurido foi mais prevalente entre os indivíduos com zikavirose confirmada quando comparados aos com dengue e a febre foi mais frequente nos participantes monoinfectados por DENV quando comparados aos monoinfectados por ZIKV.

ANEXOS

ANEXOS

Anexo A - Ficha de notificação

República Federativa do Brasil
Ministério da Saúde

SINAN
SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO
FICHA DE NOTIFICAÇÃO/CONCLUSÃO

Nº

Dados Gerais

1 Tipo de Notificação 2 - Individual

2 Agravo/doença | Código (CID10) | 3 Data da Notificação

4 UF | 5 Município de Notificação | Código (IBGE)

6 Unidade de Saúde (ou outra fonte notificadora) | Código | 7 Data dos Primeiros Sintomas

Notificação Individual

8 Nome do Paciente | 9 Data de Nascimento

10 (ou) Idade 1 - Hora 2 - Dia 3 - Mês 4 - Ano | 11 Sexo M - Masculino F - Feminino I - Ignorado | 12 Gestante 1-1ºTrimestre 2-2ºTrimestre 3-3ºTrimestre 4- Idade gestacional Ignorada 5-Não 6- Não se aplica 9-Ignorado | 13 Raça/Cor 1-Branca 2-Preta 3-Amarela 4-Parda 5-Indígena 9- Ignorado

14 Escolaridade
0-Analfabeto 1-1ª a 4ª série incompleta do EF (antigo primário ou 1º grau) 2-4ª série completa do EF (antigo primário ou 1º grau)
3-5ª à 8ª série incompleta do EF (antigo ginásio ou 1º grau) 4-Ensino fundamental completo (antigo ginásio ou 1º grau) 5-Ensino médio incompleto (antigo colegial ou 2º grau)
6-Ensino médio completo (antigo colegial ou 2º grau) 7-Educação superior incompleta 8-Educação superior completa 9-Ignorado 10- Não se aplica

15 Número do Cartão SUS | 16 Nome da mãe

Dados de Residência

17 UF | 18 Município de Residência | Código (IBGE) | 19 Distrito

20 Bairro | 21 Logradouro (rua, avenida,...) | Código

22 Número | 23 Complemento (apto., casa, ...) | 24 Geo campo 1

25 Geo campo 2 | 26 Ponto de Referência | 27 CEP

28 (DDD) Telefone | 29 Zona 1 - Urbana 2 - Rural 3 - Periurbana 9 - Ignorado | 30 País (se residente fora do Brasil)

Conclusão

Conclusão

31 Data da Investigação | 32 Classificação Final 1 - Confirmado 2 - Descartado | 33 Critério de Confirmação/Descarte 1 - Laboratorial 2 - Clínico-Epidemiológico

Local Provável da Fonte de Infecção

34 O caso é autóctone do município de residência? 1-Sim 2-Não 3-Indeterminado | 35 UF | 36 País

37 Município | Código (IBGE) | 38 Distrito | 39 Bairro

40 Doença Relacionada ao Trabalho 1 - Sim 2 - Não 9 - Ignorado | 41 Evolução do Caso 1 - Cura 2 - Óbito pelo agravo notificado 3 - Óbito por outras causas 9 - Ignorado

42 Data do Óbito | 43 Data do Encerramento

Informações complementares e observações

Observações adicionais

Investigador

Município/Unidade de Saúde | Cód. da Unid. de Saúde

Nome | Função | Assinatura

Notificação/conclusão Sinan NET SVS 27/09/2005

Anexo B - Parecer consubstanciado do CEP

USP - FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - FMUSP

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Casos suspeitos de infecção pelo Zika vírus no Estado do Tocantins no período de janeiro de 2015 a dezembro de 2016: avaliação epidemiológica, clínica e virológica.

Pesquisador: ALUISIO AUGUSTO COTRIM SEGURADO
Área Temática:
Versão: 2
CAAE: 89342418.1.0000.0065
Instituição Proponente: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.728.816

Apresentação do Projeto:
O projeto tem como objetivo avaliar os casos agudos com febre ou exantema, suspeitos de infecção pelo vírus Zika, investigados pelo sistema de vigilância epidemiológica entre janeiro de 2015 a dezembro de 2016. Trata-se de um estudo de delineamento transversal. O projeto está bem escrito, adequadamente fundamentado, com referências bibliográficas atualizadas e relevantes ao assunto de pesquisa. Objetivos claros. Metodologia adequada aos objetivos do estudo. Serão usadas informações secundárias provenientes dos bancos de dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação e Sistema Gerenciador de Ambiente Laboratorial, de domínio público e obtidos na rotina assistencial.

Objetivo da Pesquisa:
O objetivo principal consiste em descrever o perfil sociodemográfico, clínico e virológico de casos notificados como suspeitos de infecção pelo vírus Zika no Estado do Tocantins entre janeiro de 2015 a dezembro de 2016, confirmados por biologia molecular.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:
Com relação as informações pessoais dos indivíduos que participarão do estudo, essas informações provem de dados secundários. Não serão realizadas novas entrevistas ou coleta de amostras biológicas. Todas as informações incluídas serão provenientes dos bancos de dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) e Sistema Gerenciador de Ambiente

Endereço: DOUTOR ARNALDO 251 21º andar sala 36
Bairro: PACAEMBU **CEP:** 01.246-903
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3893-4401 **E-mail:** cep.fm@usp.br

Laboratorial (GAL), componente do Sistema
Nacional de Laboratórios de Saúde Pública (SISLAB), considerados dados de
domínio público, obtidos na rotina assistencial, prescindindo-se dessa forma da obtenção de termo de consentimento livre e esclarecido dos participantes.
No estudo proposto não serão realizadas coletas de amostras biológicas, assim como não serão realizadas análises laboratoriais complementares nas amostras, previamente colhidas para investigação assistencial dos pacientes avaliados durante atendimento médico na rede de Saúde do Estado do Tocantins.
Serão garantidos o anonimato dos sujeitos e a confidencialidade do manejo das informações pela equipe de pesquisadores, de acordo com as normas éticas para pesquisas que envolvem seres humanos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo interessante e relevante para a Saúde Pública. O projeto está adequadamente escrito, fundamentado e justificado. Objetivos claros. Metodologia e análise dos dados acorde ao assunto de pesquisa.
Foram realizadas no projeto as modificações sugeridas no parecer 89342418.1.0000.0065.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O estudo será baseado em dados secundários. Não serão realizadas novas entrevistas ou coleta de amostras biológicas. Se propõe dispensa do TCLE.

Recomendações:

Nada a incluir.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Foram realizadas no projeto as modificações sugeridas no parecer 89342418.1.0000.0065.
Sem pendências. Se propõe dispensa do TCLE.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_742548.pdf	15/06/2018 15:39:56		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura	PROJETO_versaoposparecer.pdf	15/06/2018 15:39:20	ALUISIO AUGUSTO COTRIM	Aceito

USP - FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - FMUSP

Continuação do Parecer: 2.728.816

Investigador	PROJETO_versaoposparecer.pdf	15/06/2018 15:39:20	ALUISIO AUGUSTO COTRIM	Aceito
Outros	Anuencia_CIEVS.pdf	15/06/2018 15:38:53	ALUISIO AUGUSTO COTRIM	Aceito
Outros	Anuencia_Superintendente.pdf	15/06/2018 15:35:36	ALUISIO AUGUSTO COTRIM	Aceito
Outros	Resposta_parecer.pdf	15/06/2018 15:34:58	ALUISIO AUGUSTO COTRIM	Aceito
Outros	Parecer_zikavirus.pdf	09/05/2018 08:40:19	ALUISIO AUGUSTO COTRIM	Aceito
Outros	Formulario_zika.pdf	09/05/2018 08:29:21	ALUISIO AUGUSTO COTRIM	Aceito
Outros	anuencia_tocantins.pdf	09/05/2018 08:28:52	ALUISIO AUGUSTO COTRIM	Aceito
Folha de Rosto	FR_zika.pdf	09/05/2018 08:28:11	ALUISIO AUGUSTO COTRIM	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_ZIKA.pdf	13/04/2018 15:45:05	ALUISIO AUGUSTO COTRIM SEGURADO	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

SAO PAULO, 21 de Junho de 2018

Assinado por:
Maria Aparecida Azevedo Koike Folgueira
(Coordenador)

Endereço: DOUTOR ARNALDO 251 21º andar sala 36
Bairro: PACAEMBU **CEP:** 01.246-903
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3893-4401 **E-mail:** cep.fm@usp.br

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

1. Dick GW. WA, Kitchen S., Haddow A. Zika Virus (I). Isolations and serological specificity. Trans R Soc Trop Med Hyg [Internet]. 1952 Sep [cited 2019 Sep 21];46(5):509–20. Available from: https://academic.oup.com/trstmh/article-lookup/doi/10.1016/0035-9203(52)90042-4

2. 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 [Internet]. 2009 Jun 11 [cited 2019 Sep 20];360(24):2536–43. Available from: http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa0805715

3. Cao-Lormeau V-M, Roche C, Teissier A, Robin E, Berry A-L, Mallet H-P, et al. Zika Virus, French Polynesia, South Pacific, 2013. Emerg Infect Dis [Internet]. 2014 Jun [cited 2019 Sep 21];20(6):1084–6. Available from: http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/20/6/14-0138_article.htm

4. Musso D, Nilles EJ, Cao-Lormeau V-M. Rapid spread of emerging Zika virus in the Pacific area. Clin Microbiol Infect [Internet]. 2014 Oct;20(10):O595–6. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1198743X1465391X

5. Dupont-Rouzeyrol M, O'Connor O, Calvez E, Daurès M, John M, Grangeon J-P, et al. Co-infection with Zika and Dengue Viruses in 2 Patients, New Caledonia, 2014. Emerg Infect Dis [Internet]. 2015 Feb [cited 2020 Feb 18];21(2):381–2. Available from: http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/21/2/14-1553_article.htm

6. Tognarelli J, Ulloa S, Villagra E, Lagos J, Aguayo C, Fasce R, et al. A report on the outbreak of Zika virus on Easter Island, South Pacific, 2014. Arch Virol [Internet]. 2016 Mar 26 [cited 2020 Feb 18];161(3):665–8. Available from: http://link.springer.com/10.1007/s00705-015-2695-5

7. Metsky HC, Matranga CB, Wohl S, Schaffner SF, Freije CA, Winnicki SM, et al. Zika virus evolution and spread in the Americas. Nature [Internet]. 2017 Jun 24;546(7658):411–5. Available from: http://www.nature.com/articles/nature22402

8. Zanluca C, De Melo VCA, Mosimann ALP, Dos Santos GIV, dos Santos CND, Luz K, et al. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz [Internet]. 2015 Jun 9 [cited 2019 Sep 21];110(4):569–72. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0074-02762015000400569&lng=en&tlng=em

9. 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 [Internet]. 2015 Dec;21(12):2274–6. Available from: http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/21/12/15-1167_article.htm

10. Campos GS, Bandeira AC, Sardi SI. Zika Virus Outbreak, Bahia, Brazil. Emerg Infect Dis [Internet]. 2015 Oct;21(10):1885–6. Available from: http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/21/10/15-0847_article.htm

11. Rodrigues Faria N, do Socorro da Silva Azevedo R, G Kraemer MU, Souza R, Sequetin Cunha M, Hill SC, et al. Zika virus in the Americas: Early epidemiological and genetic findings [Internet]. [cited 2020 Feb 18]. Available from: www.resp.saude.gov.br;

12. Faria NR, Quick J, Claro IM, Thézé J, De Jesus JG, Giovanetti M, et al. Establishment and cryptic transmission of Zika virus in Brazil and the Americas. Nature. 2017;546(7658):406–10.

13. Musso D, Ko AI, Baud D. Zika virus infection — After the pandemic. N Engl J Med. 2019;381(15):1444–57.

14. Furuya-Kanamori L, Liang S, Milinovich G, Soares Magalhaes RJ, Clements ACA, Hu W, et al. Co-distribution and co-infection of chikungunya and dengue viruses. BMC Infect Dis [Internet]. 2016 Dec 3;16(1):84. Available from: http://dx.doi.org/10.1186/s12879-016-1417-2

15. Tambo E, Khayeka-Wandabwa C, Olalubi OA, Adedeji AA, Ngogang JY, Khater EI. Addressing knowledge gaps in molecular, sero-surveillance and monitoring approaches on Zika epidemics and other arbovirus co-infections: A structured review. Parasite Epidemiol Control [Internet]. 2017 May;2(2):50–60. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.parepi.2017.01.001

16. Mercado-Reyes M, Acosta-Reyes J, Navarro-Lechuga E, Corchuelo S, Rico AAA, Parra E, et al. Dengue, chikungunya and zika virus coinfection: results of the national surveillance during the zika epidemic in Colombia. Epidemiol Infect [Internet]. 2019 Jan 30;147:e77. Available from: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S095026881800359X/type/journal_article

17. Haddow AJ, Williams MC, Woodall JP, Simpson DI, Goma LK. Twelve Isolations of Zika Virus from Aedes (Stegomyia) africanus (Theobald) taken in and above a Uganda Forest. Bull World Health Organ [Internet]. 1964;31(1961):57–69. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14230895

18. Richard V, Paoaafaite T, Cao-Lormeau V-M. Vector Competence of French Polynesian Aedes aegypti and Aedes polynesiensis for Zika Virus. Pimenta PF, editor. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2016 Sep 21;10(9):e0005024. Available from: https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0005024

19. Grard G, Caron M, Mombo IM, Nkoghe D, Mboui Ondo S, Jiolle D, et al. Zika Virus in Gabon (Central Africa) – 2007: A New Threat from Aedes albopictus? Charrel R, editor. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2014 Feb 6;8(2):e2681. Available from: http://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0002681

20. Epelboin Y, Talaga S, Epelboin L, Dusfour I. Zika virus: An updated review of competent or naturally infected mosquitoes. Ebel GD, editor. PLoS Negl Trop Dis [Internet]. 2017 Nov 16;11(11):e0005933. Available from: https://dx.plos.org/10.1371/journal.pntd.0005933

21. Medlock JM, Hansford KM, Schaffner F, Versteirt V, Hendrickx G, Zeller H, et al. A Review of the Invasive Mosquitoes in Europe: Ecology, Public Health Risks, and Control Options. Vector-Borne Zoonotic Dis [Internet]. 2012 Jun;12(6):435–47. Available from: https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/vbz.2011.0814

22. Besnard M, Lastère S, Teissier A, Cao-Lormeau V, Musso D. Evidence of perinatal transmission of Zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014. Eurosurveillance [Internet]. 2014 Apr 3;19(13):20751. Available from: http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20751

23. Musso D, Nhan T, Robin E, Roche C, Bierlaire D, Zisou K, et al. Potential for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during an outbreak in French Polynesia, November 2013 to February 2014. Eurosurveillance [Internet]. 2014 Apr 10;19(14):20761. Available from: http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20761

24. D'Ortenzio E, Matheron S, de Lamballerie X, Hubert B, Piorkowski G, Maquart M, et al. Evidence of Sexual Transmission of Zika Virus. N Engl J Med [Internet]. 2016 Jun 2;374(22):2195–8. Available from: http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMc1603617

25. Musso D, Roche C, Robin E, Nhan T, Teissier A, Cao-Lormeau V-M. Potential Sexual Transmission of Zika Virus. Emerg Infect Dis [Internet]. 2015 Feb;21(2):359–61. Available from: http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/21/2/14-1363_article.htm

26. Atkinson B, Hearn P, Afrough B, Lumley S, Carter D, Aarons EJ, et al. Detection of Zika Virus in Semen. Emerg Infect Dis [Internet]. 2016 May;22(5):940–940. Available from: http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/22/5/16-0107_article.htm

27. de M. Campos R, Cirne-Santos C, Meira GLS, Santos LLR, de Meneses MD, Friedrich J, et al. Prolonged detection of Zika virus RNA in urine samples during the ongoing Zika virus epidemic in Brazil. J Clin Virol [Internet]. 2016 Apr;77:69–70. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.jcv.2016.02.009

28. Gourinat A-CC, O'Connor O, Calvez E, Goarant C, Dupont-Rouzeyrol M, Musso D, et al. Detection of Zika Virus in Urine. Emerg Infect Dis. 2015 Jan;21(1):84–6.

29. Dupont-Rouzeyrol M, Biron A, O'Connor O, Huguon E, Descloux E. Infectious Zika viral particles in breastmilk. Lancet [Internet]. 2016 Mar;387(10023):1051. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00624-3

30. MacNamara FN. Zika virus: A report on three cases of human infection during an epidemic of jaundice in Nigeria. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1954;48(2):139–45.

31. Bearcroft WGC. Zika virus infection experimentally induced in a human volunteer. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1956;50(5):442–8.

32. Simpson DIH. Zika virus infection in man. Trans R Soc Trop Med Hyg [Internet]. 1964 Jul;58(4):339–48. Available from: https://academic.oup.com/trstmh/article-lookup/doi/10.1016/0035-9203(64)90201-9

33. Filipe AR, Martins CM V., Rocha H. Laboratory infection with Zika virus after vaccination against yellow fever. Arch Gesamte Virusforsch [Internet]. 1973 Dec;43(4):315–9. Available from: http://link.springer.com/10.1007/BF01556147

34. Ioos S, Mallet HP, Leparc Goffart I, Gauthier V, Cardoso T, Herida M. Current Zika virus epidemiology and recent epidemics. Med Mal Infect [Internet]. 2014;44(7):302–7. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.medmal.2014.04.008

35. Plourde AR, Bloch EM. A Literature Review of Zika Virus. Emerg Infect Dis [Internet]. 2016 Jul;22(7):1185–92. Available from: http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/22/7/15-1990_article.htm

36. Musso D, Bossin H, Mallet HP, Besnard M, Broult J, Baudouin L, et al. Zika virus in French Polynesia 2013–14: anatomy of a completed outbreak. Lancet Infect Dis [Internet]. 2018 May;18(5):e172–82. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1473309917304462

37. Paniz-Mondolfi AE, Blohm GM, Hernandez-Perez M, Larrazabal A, Moya D, Marquez M, et al. Cutaneous features of Zika virus infection: a clinicopathological overview. Clin Exp Dermatol [Internet]. 2019 Jan;44(1):13–9. Available from: http://doi.wiley.com/10.1111/ced.13793

38. Waddell LA, Greig JD. Scoping Review of the Zika Virus Literature. Quach C, editor. PLoS One [Internet]. 2016 May 31;11(5):e0156376. Available from: https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0156376

39. Bautista LE. Zika virus infection and risk of Guillain-Barré syndrome: A meta-analysis. J Neurol Sci [Internet]. 2019 Aug;403(May):99–105. Available from: https://doi.org/10.1016/j.jns.2019.06.019

40. Oehler E, Watrin L, Larre P, Leparc-Goffart I, Lastère S, Valour F, et al. Zika virus infection complicated by Guillain-Barré syndrome – case report, French Polynesia, December 2013. Eurosurveillance [Internet]. 2014 Mar 6;19(9):7–9. Available from: http://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES2014.19.9.20720

41. Smith DW, Mackenzie J. Zika virus and Guillain-Barré syndrome: another viral cause to add to the list. Lancet [Internet]. 2016 Apr;387(10027):1486–8. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014067361600564X

42. Paixao ES, Leong W-Y, Rodrigues LC, Wilder-Smith A. Asymptomatic Prenatal Zika Virus Infection and Congenital Zika Syndrome. Open Forum Infect Dis [Internet]. 2018 Apr 1;5(4):1–5. Available from: https://academic.oup.com/ofid/article/doi/10.1093/ofid/ofy073/4964695

43. Cauchemez S, Besnard M, Bompard P, Dub T, Guillemette-Artur P, Eyrolle-Guignot D, et al. Association Between Zika Virus and Microcephaly in French Polynesia, 2013–2015. Obstet Gynecol Surv [Internet]. 2016 Sep;71(9):512–4. Available from: http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00006254-201609000-00005

44. Martines RB, Bhatnagar J, de Oliveira Ramos AM, Davi HPF, Iglezias SDA, Kanamura CT, et al. Pathology of congenital Zika syndrome in Brazil: a case series. Lancet [Internet]. 2016 Aug;388(10047):898–904. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30883-2

45. Brasil P, Calvet GA, Siqueira AM, Wakimoto M, de Sequeira PC, Nobre A, et al. Zika Virus Outbreak in Rio de Janeiro, Brazil: Clinical Characterization, Epidemiological and Virological Aspects. PLoS Negl Trop Dis. 2016 Apr 12;10(4):1–13.

46. Pierson TC, Diamond MS. The emergence of Zika virus and its new clinical syndromes. Nature [Internet]. 2018 Aug 29;560(7720):573–81. Available from: http://www.nature.com/articles/s41586-018-0446-y

47. Santiago GA, Vázquez J, Courtney S, Matías KY, Andersen LE, Colón C, et al. Performance of the Trioplex real-time RT-PCR assay for detection of Zika, dengue, and chikungunya viruses. Nat Commun [Internet]. 2018 Dec 11;9(1):1391. Available from: http://dx.doi.org/10.1038/s41467-018-03772-1

48. Davies HTO, Crombie IK, Tavakoli M. When can odds ratios mislead? BMJ [Internet]. 1998 Mar 28 [cited 2020 Oct 19];316(7136):989–91. Available from: https://www-bmj-com.ez67.periodicos.capes.gov.br/content/316/7136/989

49. Barros AJ, Hirakata VN. Alternatives for logistic regression in cross-sectional studies: an empirical comparison of models that directly estimate the prevalence ratio Cox regressioncross-sectional studieslogistic regressionodds ratioPoisson regressionprevalence ratiorobust varia [Internet]. 2003. Available from: http://www.biomedcentral.com/1471-2288/3/21

50. Coutinho LMS, Scazufca M, Menezes PR. Métodos para estimar razão de prevalência em estudos de corte transversal. Rev Saude Publica. 2008;42(6):992–8.

51. Lin DY, Wei LJ. The robust inference for the cox proportional hazards model. J Am Stat Assoc. 1989;84(408):1074–8.

52. Silva MMO, Tauro LB, Kikuti M, Anjos RO, Santos VC, Gonçalves TSF, et al. Concomitant Transmission of Dengue, Chikungunya, and Zika Viruses in Brazil: Clinical and Epidemiological Findings from Surveillance for Acute Febrile Illness. Clin Infect Dis. 2019;69(8):1353–9.

53. Tozetto-Mendoza TR, Avelino-Silva VI, Fonseca S, Claro IM, de Paula AV, Levin AS, et al. Zika virus infection among symptomatic patients from two healthcare centers in Sao Paulo State, Brazil: Prevalence, clinical characteristics, viral detection in body fluids and serodynamics. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2019;61:1–9.

54. Aubry M, Teissier A, Huart M, Merceron S, Vanhomwegen J, Roche C, et al. Zika Virus Seroprevalence, French Polynesia, 2014–2015. Emerg Infect Dis [Internet]. 2017 Apr;23(4):669–72. Available from: http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/23/10/17-0583_article.htm

55. Matheus S, Talla C, Labeau B, De Laval F, Briolant S, Berthelot L, et al. Performance of 2 commercial serologic tests for diagnosing zika virus infection. Emerg Infect Dis. 2019;25(6):1153–60.

56. Crespillo-Andújar C, Díaz-Menéndez M, Trigo E, Arsuaga M, De la Calle F, Lago M, et al. Characteristics of Zika virus infection among international travelers: A prospective study from a Spanish referral unit. Travel Med Infect Dis [Internet]. 2020 [cited 2020 Nov 7];33(August 2019):101543. Available from: https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2019.101543

57. Waggoner JJ, Gresh L, Vargas MJ, Ballesteros G, Tellez Y, Soda KJ, et al. Viremia and Clinical Presentation in Nicaraguan Patients Infected With Zika Virus, Chikungunya Virus, and Dengue Virus. Clin Infect Dis. 2016;63(12):1584–90.

58. Faye O, Faye O, Dupressoir A, Weidmann M, Ndiaye M, Alpha Sall A. One-step RT-PCR for detection of Zika virus. J Clin Virol. 2008;43(1):96–101.

59. Fortuna C, Remoli ME, Rizzo C, Benedetti E, Fiorentini C, Bella A, et al. Imported arboviral infections in Italy, July 2014-October 2015: A National Reference Laboratory report. BMC Infect Dis. 2017;17(1):1–15.

60. Zambrana JVJVJV, Carrillo FB, Burger-Calderon R, Collado D, Sanchez N, Ojeda S, et al. Seroprevalence, risk factor, and spatial analyses of Zika virus infection after the 2016 epidemic in Managua, Nicaragua. Proc Natl Acad Sci U S A. 2018 Sep;115(37):9294–9.

61. Pacheco O, Beltrán M, Nelson CA, Valencia D, Tolosa N, Farr SL, et al. Zika Virus Disease in Colombia — Preliminary Report. N Engl J Med [Internet]. 2016 Jun 15;NEJMoa1604037. Available from: http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1604037

62. Coelho FC, Durovni B, Saraceni V, Lemos C, Codeco CT, Camargo S, et al. Higher incidence of Zika in adult women than adult men in Rio de Janeiro suggests a significant contribution of sexual transmission from men to women. Int J Infect Dis. 2016;51:128–32.

63. Tataryn J, Vrbova L, Drebot M, Wood H, Payne E, Connors S, et al. Travel-related Zika virus cases in Canada: October 2015–June 2017. Canada Commun Dis Rep. 2018;44(01):18–26.

64. Maxian O, Neufeld A, Talis EJ, Childs LM, Blackwood JC. Zika virus dynamics: When does sexual transmission matter? Epidemics [Internet]. 2017;21:48–55. Available from: https://doi.org/10.1016/j.epidem.2017.06.003

65. Fuller TL, Calvet G, Estevam CG, Angelo JR, Abiodun GJ, Halai UA, et al. Behavioral, climatic, and environmental risk factors for Zika and Chikungunya virus infections in Rio de Janeiro, Brazil, 2015-16. PLoS One. 2017;12(11):1–15.

66. Feng Z, Velasco-Hernández JX. Competitive exclusion in a vector-host model for the dengue fever. J Math Biol. 1997;35(5):523–44.

67. Brasil P, Pereira JP, Moreira ME, Ribeiro Nogueira RM, Damasceno L, Wakimoto M, et al. Zika Virus Infection in Pregnant Women in Rio de Janeiro. N Engl J Med [Internet]. 2016 Dec 15 [cited 2019 Sep 21];375(24):2321–34. Available from: http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1602412

68. Goodman AB, Dziuban EJ, Powell K, Bitsko RH, Langley G, Lindsey N, et al. Characteristics of Children Aged <18 Years with Zika Virus Disease Acquired Postnatally — U.S. States, January 2015–July 2016. MMWR Morb Mortal Wkly Rep [Internet]. 2016 Oct 7;65(39):1082–5. Available from: http://www.cdc.gov/mmwr/volumes/65/wr/mm6539e2.htm

69. Fleming-Dutra KE, Nelson JM, Fischer M, Staples JE, Karwowski MP, Mead P, et al. Update: Interim Guidelines for Health Care Providers Caring for Infants and Children with Possible Zika Virus Infection — United States, February 2016. MMWR Morb Mortal Wkly Rep [Internet]. 2016 Feb 26;65(7):182–7. Available from: http://www.cdc.gov/mmwr/volumes/65/wr/mm6507e1.htm

70. Colombo TE, Estofolete CF, Reis AFN, da Silva NS, Aguiar ML, Cabrera EMS, et al. Clinical, laboratory and virological data from suspected ZIKV patients in an endemic arbovirus area. J Clin Virol [Internet]. 2017 Nov;96(August):20–5. Available from: https://doi.org/10.1016/j.jcv.2017.09.002

71. Haque U, Ball JD, Zhang W, Khan MMH, Treviño C JA. Clinical and spatial features of Zika virus in Mexico. Acta Trop. 2016;162:5–10.

72. Rodriguez-morales AJ, Cardona-ospina JA, Ramirez-jaramillo V, Gaviria JA, González-moreno GM, Castrillón-spitia JD, et al. Diagnosis and outcomes of pregnant women with Zika virus infection in two municipalities of Risaralda , Colombia : Second report of the ZIKERNCOL. Travel Med Infect Dis [Internet]. 2018;25(June):20–5. Available from: https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2018.06.006

73. Chibueze EC, Tirado V, da Silva Lopes K, Balogun OO, Takemoto Y, Swa T, et al. Zika virus infection in pregnancy: a systematic review of disease course and complications. Reprod Health [Internet]. 2017;14(1):28. Available from: http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/

74. Meaney-Delman D, Rasmussen SA, Staples JE, Oduyebo T, Ellington SR, Petersen EE, et al. Zika virus and pregnancy. Obstet Gynecol. 2016;127(4):642–8.

75. Holtzman M, Golden WC, Sheffield JS. Zika Virus Infection in the Pregnant Woman. Clin Obstet Gynecol. 2018;61(1):177–85.

76. Ryan SJ, Lippi CA, Carlson CJ, Stewart-Ibarra AM, Borbor-Cordova MJ, Romero M, et al. Zika Virus Outbreak, Barbados, 2015-2016. Am J Trop Med Hyg [Internet]. 2018 Jun 6 [cited 2019 Oct 23];98(6):1857–9. Available from: http://www.paho.org/hq/index.php?

77. Carrillo-Hernández MY, Ruiz-Saenz J, Villamizar LJ, Gómez-Rangel SY, Martínez-Gutierrez M. Co-circulation and simultaneous co-infection of dengue, chikungunya, and zika viruses in patients with febrile syndrome at the Colombian-Venezuelan border. BMC Infect Dis. 2018;18(1):1–12.

78. Estofolete CFCFCF, Terzian ACBB, Colombo TE, de Freitas Guimaraes G, Ferraz HCJ, da Silva RA, et al. Co-infection between Zika and different Dengue serotypes during DENV outbreak in Brazil. J Infect Public Health. 2019 Mar;12(2):178–81.

79. Omarjee R, Prat C, Flusin O, Boucau S, Tenebray B, Merle O, et al. Importance of case definition to monitor ongoing outbreak of chikungunya virus on a background of actively circulating dengue virus, St Martin, December 2013 to January 2014. Eurosurveillance [Internet]. 2014 Apr 3;19(13):20753. Available from: http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=20753

80. Joob B, Wiwanitkit V. Zika virus infection and dengue: A new problem in diagnosis in a dengue-endemic area. Ann Trop Med Public Heal [Internet]. 2015 Jul 1 [cited 2020 Nov 5];8(4):145–6. Available from: https://go.gale.com/ps/i.do?p=AONE&sw=w&issn=17556783&v=2.1&it=r&id=GALE%7CA425202509&sid=googleScholar&linkaccess=fulltext

81. Katzelnick LC, Narvaez C, Arguello S, Mercado BL, Collado D, Ampie O, et al. Zika virus infection enhances future risk of severe dengue disease. Science (80-) [Internet]. 2020;369(6507):1123–8. Available from: http://science.sciencemag.org/

82. Chahar HS, Bharaj P, Dar L, Guleria R, Kabra SK, Broor S. Co-infections with Chikungunya Virus and Dengue Virus in Delhi, India. Emerg Infect Dis [Internet]. 2009 Jul;15(7):1077–80. Available from: http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/15/7/08-0638_article.htm

83. Landry ML, St. George K. Laboratory Diagnosis of Zika Virus Infection. Arch Pathol Lab Med [Internet]. 2017 Jan;141(1):60–7. Available from: http://www.archivesofpathology.org/doi/10.5858/arpa.2016-0406-AS

84. Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, Velez JO, Lambert AJ, Johnson AJ, et al. Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. Emerg Infect Dis [Internet]. 2008 Aug;14(8):1232–9. Available from: http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/14/8/08-0287_article.htm