Maria João Martins de Almeida

Infeção pelo vírus Zika e malformações congénitas

Monografia realizada no âmbito da unidade de Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Paula Cristina Santos Luxo Maia e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2016

· U C ·

Universidade de Coimbra

Maria João Martins de Almeida

Infeção pelo vírus Zika e malformações congénitas

Monografia realizada no âmbito da unidade de Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Paula Cristina Santos Luxo Maia e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Julho 2016

· U C ·

Universidade de Coimbra

LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÓNIMOS

AINE – anti-inflamatório não esteróide

AXL – recetor expresso pelos fibroblastos e queratinócitos

CDC – Centro de Controlo e Prevenção de Doenças

CHIKV – vírus Chikungunya

CMV – Citomegalovírus

DC-SIGN – recetor da lectina tipo-C, nas células dendríticas

DEET – N,N-dietil-m-toluamida

DENV – vírus da Dengue

ELISA – Ensaio Imunoenzimático por Absorção em Fase Sólida

GBS – síndrome de Guillain-Barré

IFN – interferão

IgG – imunoglobulina G

IgM – imunoglobulina M

IR3535 – etil butilacetilaminopropionato

PMD – *p*-mentano-3,8-diol

PRNT – Teste de Neutralização por Redução em Placas

prM – percursor da proteína de membrana

Proteína C – proteína da cápside

Proteína E – proteína do envelope

Proteína M – proteína de membrana

RNA – ácido ribonucleico

RT-PCR – Reação de Polimerização em Cadeia após Transcrição Reversa

SNC – Sistema Nervoso Central

TIM-1 – fator de ligação à célula hospedeira

WNV – vírus do Nilo Ocidental

YFV – vírus da Febre Amarela

ZIKV – vírus Zika

RESUMO

O vírus Zika, um arbovírus do género *Flavivirus*, foi descoberto em 1947, na floresta Zika, no Uganda. Este vírus é transmitido principalmente por mosquitos, sendo *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* os principais vetores. Para além da picada de mosquito, o vírus Zika pode transmitir-se por transfusões sanguíneas, por transplante, por via sexual, por via materno-fetal e em ambiente laboratorial.

A infeção pelo vírus Zika é caracterizada por sintomas ligeiros que desaparecem passados alguns dias. Mas, foi pela sua possível ligação com as malformações congénitas, principalmente a microcefalia, na epidemia de 2015, no Brasil, que passou a ser conhecido. E tem sido esta, desde então, a maior preocupação em relação à infeção por este vírus. O diagnóstico tem um papel fundamental bem como as medidas de prevenção, como o uso de repelentes, para evitar a picada de mosquitos, e de preservativo, para evitar a transmissão por via sexual, visto que ainda não existe um tratamento para esta infeção nem uma vacina que confira imunidade.

ABSTRACT

Zika virus, an arbovirus from *Flavivirus* genus, was discovered in 1947, in Zika forest, in Uganda. This virus is transmitted mainly by mosquitoes, with *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* being the main vectors. Beside mosquitoes bites, Zika virus can be transmitted by blood transfusion and transplantation, by sexual transmition, maternal-fetal transmission and transmition in laboratory setting.

Zika virus infection is characterized by mild symptoms that disappear after a few days. But, it was for its possible association with congenital abnormalities, mainly with microcephaly, in the 2015 epidemics, in Brazil, that it became known. This has been, since then, the major concern about this infection. The diagnosis has a crucial role as well as preventive measures, as using mosquito repellent, to avoid mosquito bites, and condoms, this one to avoid sexual transmition, since there isn't yet a treatment nor a vaccine to give immunity.

1| *INTRODUÇÃO*

O vírus Zika (ZIKV), descoberto em 1947, na floresta Zika, no Uganda, pertence ao género *Flavivirus*. A infeção carateriza-se, normalmente, por erupção cutânea, febre geralmente baixa, mal-estar, mialgia, artralgia, conjuntivite e dor ocular.[1; 2]

Este vírus transmite-se através da picada de mosquitos do género *Aedes* mas outras vias de transmissão têm sido também investigadas, como a transmissão através de transfusões sanguíneas, transplantes, a via sexual, a transmissão materno-fetal e a transmissão em ambiente laboratorial.[1]

A maior preocupação com o ZIKV surgiu com a epidemia de 2015, no continente americano. O Brasil foi o país mais afetado, tendo sido reportados milhares de casos de infeção.[3] Além do surto, os inúmeros casos de microcefalia reportados e, posteriormente, associados a esta infeção, alertaram para o impacto desta infeção na saúde pública.[4] A infeção pelo ZIKV deixou de ser apenas uma infeção com sintomas de caráter transitório ou, muitas vezes, assintomática,[4] para se tornar uma possível causa de malformações congénitas.

Uma vez que não existe tratamento nem uma vacina, é necessário implementar medidas de prevenção, nomeadamente evitar a picada por mosquitos, controlar os vetores, reduzir a transmissão por via sexual e também por transfusões sanguíneas e transplantes.[5]

Como técnicas de diagnóstico, a mais fiável é a Reação de Polimerização em Cadeia após Transcrição Reversa (RT-PCR), sendo também utilizado o Ensaio Imunoenzimático por Absorção em Fase Sólida (técnica de ELISA) e o Teste de Neutralização por Redução em Placas (PRNT). No entanto, a técnica de ELISA, ao pesquisar anticorpos IgM e IgG contra o ZIKV, tem o inconveniente de poderem ocorrer reações cruzadas com anticorpos contra outros flavivírus.[6]

2| CARACTERIZAÇÃO DO VÍRUS ZIKA

O vírus Zika é um arbovírus (vírus transmitido por artrópodes) do género *Flavivirus*, pertencente à família *Flaviviridae*.[1] Ao género *Flavivirus* pertencem, por exemplo, o vírus da Febre Amarela (YFV), o primeiro vírus humano que se descobriu como sendo transmitido por um vetor artrópode,[5] bem como o vírus da Dengue (DENV) ou o vírus do Nilo Ocidental (WNV).[1]

Os flavivírus são vírus pequenos, com envelope e com genoma constituído por uma cadeia simples de RNA de polaridade positiva.[1; 2; 5] O genoma do ZIKV é constituído por 10794 nucleótidos de comprimento[1; 2], codificando 3419 aminoácidos.[2] A tradução do genoma resulta numa poliproteína que é clivada em três proteínas estruturais – proteína da cápside (proteína C), percursor da proteína de membrana (prM) e proteína do envelope (proteína E) – e sete proteínas não estruturais.[2; 5]

A função destas proteínas não está completamente esclarecida, no entanto, com base no conhecimento das funções das proteínas de outros flavivírus, como o DENV, WNV ou vírus da Encefalite Japonesa, estas podem ser inferidas[1; 5] A proteína C, juntamente com o RNA, formam a nucleocápside; o prM é o percursor da proteína de membrana (proteína M) que se insere no envelope do vírus, sendo o fragmento pr excretado aquando da saída do vírus da célula hospedeira; a proteína E é a principal constituinte do envelope e medeia a ligação entre o vírus e o seu recetor na célula hospedeira, promovendo a fusão do virião com a membrana endossomal da célula-alvo.[1; 2; 4] Assim, as proteínas estruturais fazem parte da constituição dos viriões e as não estruturais são responsáveis pela replicação do genoma e pela modulação da imunidade da célula hospedeira.[7]

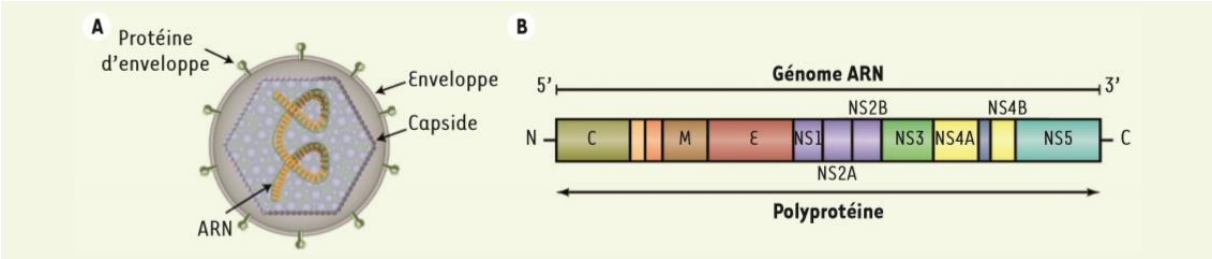


Figura 1 - Estrutura da molécula viral e organização do seu genoma. (Adaptado de SALINAS, Sara et al.[4])

Análises filogenéticas demonstraram existir duas linhagens principais do ZIKV: uma que inclui as estirpes africanas e outra que inclui as estirpes asiáticas.[8]

3| *DESCOBERTA E EPIDEMIOLOGIA*

O vírus Zika foi isolado, pela primeira vez, em Abril de 1947, na floresta Zika, no Uganda, a partir do sangue de um macaco Rhesus, durante um estudo sobre o vírus da Febre Amarela. Mais tarde, em 1948, foi isolado de mosquitos *Aedes africanus* apanhados também na floresta Zika.[2] Nos anos 60, foram confirmados os primeiros casos de infeção pelo ZIKV em humanos no Uganda, Nigéria e Senegal.[9]

Os primeiros casos eram esporádicos e, só recentemente, foram reportados surtos de infeção pelo ZIKV. Em 2007, ocorreu o primeiro surto, na ilha de Yap, nos Estados Federados da Micronésia, estimando-se que tenham sido infetados cerca de 5000 indivíduos.[6] Em 2013, surgiu um surto na Polinésia Francesa, onde cerca de 32000 pessoas foram avaliadas por suspeita de infeção pelo ZIKV.[4; 6] Em 2014, foram confirmados em Nova Caledónia 1400 casos. O surto mais atual, primeiramente identificado no Brasil, no início de 2015, estende-se até ao presente e já afeta, pelo menos, 33 países e territórios do continente americano. Estima-se que, em março de 2016, mais de 50000 casos de infeção tenham sido reportados.[6]

Todos estes surtos recentes se devem às estirpes asiáticas[4], o que leva à questão de como terá esta linhagem sido introduzida no continente americano. Existem duas possíveis teorias: o Campeonato do Mundo de futebol, em 2014, no Brasil, ou um evento internacional de canoagem, também em 2014. A explicação mais plausível será este último evento, uma vez que vários países do Pacífico, incluindo a Polinésia Francesa e Nova Caledónia, participaram.[1; 4]

4| *TRANSMISSÃO DO VÍRUS ZIKA*

4.1|*Transmissão por mosquitos*

A principal via de transmissão do vírus Zika é através da picada de mosquitos. Este vírus é transmitido, principalmente, pelo *Aedes aegypti*, habitante das regiões tropicais e subtropicais, mas pode também ser transmitido pelo *Aedes albopictus*, habitante da zona do Mediterrâneo.[6; 9] Nos surtos na ilha de Yap e na Polinésia Francesa, os vetores foram, respetivamente, *Aedes hensilli* e *Aedes polynesiensis*. No entanto, *A. aegypti* e *A. albopictus* são os únicos vetores conhecidos no continente americano.[6] Os vetores do género *Aedes* são também vetores de outros arbovírus como o DENV, o vírus Chikungunya (CHIKV) e o YFV.[4; 10]

A elevada capacidade vetorial de *A. aegypti* está relacionada com o facto de se alimentar principalmente em humanos, picando vários humanos numa única refeição, sendo a sua picadela praticamente impercetível. Para além disso, estes vetores habitam em estreita proximidade com os humanos[6], estando bem adaptados a ambientes urbanos densamente povoados.[11] *A. aegypti* vive dentro das habitações, picando preferencialmente de dia. Devido a este contacto permanente com os humanos, a transmissão viral está facilitada.[12] Estes mosquitos põem os seus ovos em zonas de água estagnada[13], facto que deve ser tido em conta no controlo desta espécie. Enquanto isso, *A. albopictus* alimenta-se do sangue humano fora das habitações, picando, também de dia, preferencialmente no início da manhã ou ao final da tarde. Para além do sangue de humanos, *A. albopictus* também se alimenta com sangue de outros mamíferos ou mesmo de outros animais, como répteis, pássaros e anfíbios. No entanto, vários estudos demonstraram que este vetor escolhe, preferencialmente, os humanos.[14]

A. aegypti não está adaptado ao clima da Europa e do norte da América, uma vez que é intolerante às temperaturas de inverno. No entanto, a recente invasão destes territórios por *A. albopictus* está a ser fonte de grande preocupação uma vez que este é considerado, também, um vetor para a transmissão do vírus Zika.[11]

Assim, o facto de estas espécies, que se alimentam de sangue humano, serem os principais vetores de transmissão do ZIKV traz uma grande preocupação no que concerne ao controlo das mesmas e, consequentemente, à propagação do vírus.[1]

4.2| *Transmissão por outras vias*

Uma possível forma de transmissão são as **transfusões sanguíneas**. Durante o surto na Polinésia Francesa, a análise a amostras de sangue, pela técnica de RT-PCR, deu positivo para o ZIKV em 3% dos dadores de sangue assintomáticos[15] e a transmissão via transfusão terá também sido reportada no Brasil.[16]

Uma outra forma possível de transmissão é a **via sexual**. Esta forma de transmissão resulta de relações com homens infetados que viajaram para zonas endémicas do ZIKV. As relações sexuais poderão ter ocorrido antes do aparecimento dos sintomas, durante ou rapidamente após o desaparecimento dos mesmos.[6] Foram reportados vários casos em que, mulheres que tiveram relações com os seus maridos, que regressaram de zonas endémicas do ZIKV, obtiveram resultados positivos para o ZIKV, por RT-PCR. A relação sexual foi concomitante com os sintomas de infeção por parte do homem. Alguns dias após a relação, as mulheres desenvolveram também sintomas da infeção pelo ZIKV[17], o que revela fortes

indícios de que realmente ocorra transmissão da infeção por via sexual. Mais ainda, partículas virais replicativas e RNA viral têm sido identificadas no esperma e RNA viral tem sido detetado até 62 dias após o surgimento de sintomas.[6]

Uma das maiores preocupações nos dias de hoje relativamente ao ZIKV é a provável **transmissão materno-fetal**. Vários estudos detetaram a presença de RNA viral no líquido amniótico de mães cujos fetos apresentavam anomalias cerebrais previamente detetadas por ultrassonografia.[3] No tecido cerebral e na placenta de crianças que nasceram com microcefalia e morreram após o parto, e nos tecidos provenientes de abortos, foram detetados antigénios virais, por imunohistoquímica, e RNA, por RT-PCR.[18] Todos estes factos indicam que o ZIKV tem a capacidade de atravessar a barreira placentária e, possivelmente, infetar o feto.

Em amostras de **leite materno** e de **saliva** de mulheres infetadas foi detetado RNA do ZIKV, embora não se tenham encontrado partículas virais. Assim, estas vias de transmissão serão pouco prováveis, no entanto mais estudos são necessários até que se possam descartar estas hipóteses.[19; 20]

É necessário referir ainda o perigo de transmissão em **ambiente laboratorial** para pessoas que estejam em contacto com o vírus durante a sua atividade laboral.[1]

5| *MECANISMO DE INFEÇÃO PELO VÍRUS*

O ZIKV replica-se nas células epiteliais do intestino médio e, subsequentemente, nas células das glândulas salivares dos mosquitos do género *Aedes*. Após um período de incubação de 5 a 10 dias, o vírus está presente na saliva do mosquito, podendo infetar os humanos.[2]

Os mosquitos do género *Aedes* transmitem o vírus durante a picada e, sabe-se que, os fibroblastos da pele, os queratinócitos da epiderme, as células dendríticas e as células de Langerhans são muito permissivas à infeção pelo ZIKV, resultando num aumento gradual da produção de partículas virais.[21] A entrada dos flavivírus é mediada pela proteína do envelope viral (E), que interage com vários recetores e fatores de ligação à superfície da célula hospedeira, cuja expressão diferencial vai influenciar o tropismo do vírus. A entrada do ZIKV é mediada pelo DC-SIGN (recetor da lectina tipo-C, presente nas células dendríticas), AXL (expresso pelos fibroblastos e queratinócitos), Tyro3 e, em menor extensão, TIM-1 (efeito aditivo na eficácia da entrada mediada por AXL, uma vez que faz com que a concentração de viriões na superfície da célula seja maior, facilitando a sua interação com o recetor AXL). No entanto, a contribuição destes recetores e fatores de ligação ainda não é bem conhecida.[21]

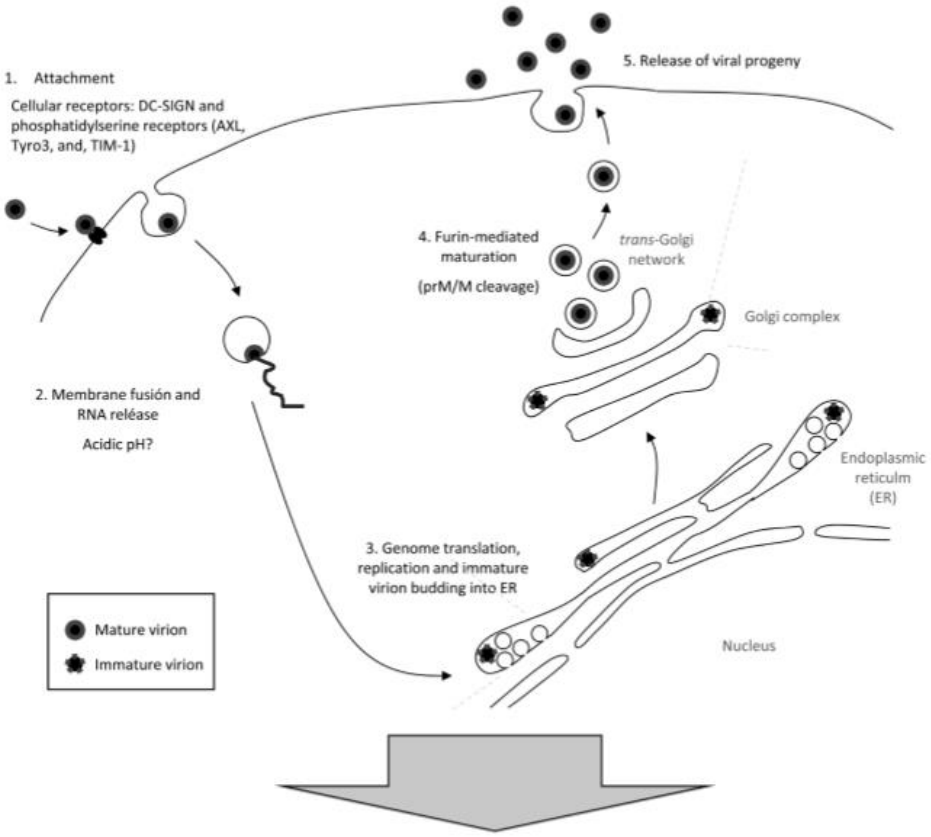


Figura 2 - Representação esquemática do ciclo celular do vírus Zika. (Adaptado de SAIZ, Juan-carlos et al.[1])

Após a ligação das partículas virais à célula, estas são internalizadas por endocitose mediada por recetores e o genoma viral é libertado no citoplasma da célula hospedeira para se iniciar a sua translação e replicação. A libertação do genoma viral no citoplasma dá-se devido à fusão do envelope viral com a membrana dos endossomas celulares da célula hospedeira, cujo pH é ácido.[22; 23]

O RNA viral atua como mRNA no citoplasma, sendo diretamente traduzido nas proteínas virais. A partir desta molécula de RNA é sintetizada uma cadeia de RNA de polaridade negativa que leva à síntese de uma cadeia de polaridade positiva. No retículo endoplasmático formam-se os viriões imaturos com envelope, posteriormente libertados por esta estrutura. Estes viriões imaturos migram até ao complexo de Golgi, onde o prM é clivado, dando-se então a maturação dos viriões, que depois são libertados pela célula infetada.[1]

Foi provado, experimentalmente, que a replicação do ZIKV leva a uma resposta antiviral inata, com uma forte expressão de interferão-β. Para além disso, a infeção pelo ZIKV leva a um aumento da autofagia pelos fibroblastos da pele infetados, podendo levar a um aumento na replicação do vírus.[21]

6| MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

O período de incubação da infeção pelo ZIKV não está completamente estabelecido, no entanto, este período deverá variar entre 3 a 12 dias.[4; 5; 13] Cerca de 80% das infeções são assintomáticas.[4] Os indivíduos que desenvolvem sintomas podem apresentar: erupção maculopapular, que pode ser prurítica (normalmente descendente), febre (regra geral baixa), mal-estar, artralgia, mialgia, conjuntivite, dor de cabeça, dor ocular, edema dos membros e, por vezes, alguns sintomas abdominais, como dor abdominal e diarreia.[5; 6; 9; 13] Na maioria dos casos, as manifestações clínicas são suaves e duram entre 2 a 7 dias.[13] As alterações laboratoriais incluem leucopenia transitória e, em alguns casos, trombocitopenia.[24]

Clinicamente não se consegue diferenciar a infeção pelo ZIKV de outras infeções por arbovírus, como a Dengue ou a infeção pelo CHIKV, para além de que estes são co-circulantes com o ZIKV.[5; 13] No entanto, o edema dos membros e a conjuntivite aparentam ser mais comuns nas infeções pelo ZIKV do que nas infeções pelo DENV ou CHIKV, e as dores de cabeça e mal-estar são mais leves com o ZIKV. Para além disso, as complicações hemorrágicas que podem surgir com a Dengue não foram reportadas com o ZIKV e a artralgia é menos severa do que com a infeção com CHIKV. Porém, é de salientar que a confirmação laboratorial é necessária para que se possam excluir co-infeções por estes arbovírus.[2; 5]

Durante o surto da Polinésia Francesa foi proposta uma possível associação entre a infeção pelo vírus Zika e complicações neurológicas severas, como a síndrome de Guillain-Barré (GBS), uma vez que a incidência desta síndrome foi, aproximadamente, 20 vezes superior à incidência em períodos em que não ocorreram surtos de ZIKV.[25] Esta associação entre a GBS e a infeção pelo ZIKV foi também observada no Brasil, uma vez que os doentes que apresentavam GBS tinham tido sintomas consistentes com infeção pelo ZIKV.[5]

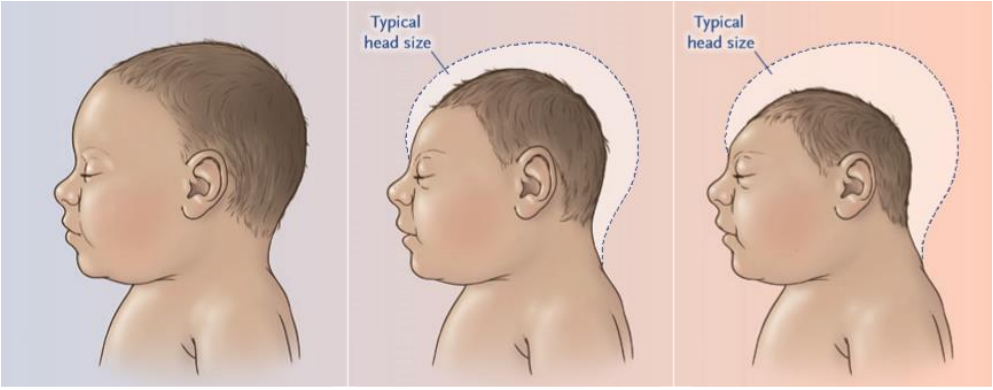
7| CONSEQUÊNCIAS DO VÍRUS ZIKA - MALFORMAÇÕES CONGÉNITAS

O espetro total de consequências que advém da infeção pelo ZIKV ainda não está completamente determinado, mas uma das mais preocupantes será a ocorrência de malformações congénitas, nomeadamente a microcefalia.

A microcefalia caracteriza-se por perímetro cefálico occipitofrontal significativamente abaixo da média dos valores de referência para dada idade e sexo.[26] É definida como o tamanho da cabeça e/ou perímetro cefálico occipitofrontal 2 ou mais desvios-padrão abaixo da média para o sexo e idade gestacional.[2; 9; 27; 28] O perímetro occipitofrontal reduzido é

indicativa de problemas no crescimento cerebral.[6]

A microcefalia pode ocorrer devido a um processo em que, depois de um desenvolvimento normal do cérebro, durante o início da gravidez, ocorre destruição de tecido cerebral, seguido de um colapso do crânio fetal, uma vez que deixa de ocorrer estimulação devido ao défice de crescimento cerebral.[6; 9]



Perímetro cefálico normal | Microcefalia moderada | Microcefalia severa

Figura 3 - Comparação entre um bebé com perímetro cefálico dentro dos valores normais com um bebé com microcefalia moderada e com um bebé com microcefalia severa (Adaptado de BADEN, Lindsey R. et al.[6])

A possível associação entre a infeção pelo ZIKV e a microcefalia surgiu pela primeira vez no surto que se iniciou no Brasil, em 2015, devido ao aumento significativo de casos descritos de microcefalia, após o início deste surto.[5] No estado brasileiro de Pernambuco, o estado que notificou um maior número de casos de microcefalia (mais de 1500), 182 casos foram estudados e confirmou-se que exista uma possível ligação com a infeção pelo ZIKV.[29]

As epidemias da Polinésia Francesa e do Brasil sugerem que há maior risco de desenvolvimento de microcefalia quando a infeção ocorre no primeiro trimestre de gravidez. No entanto, também podem ocorrer lesões cerebrais no final do segundo trimestre ou até mesmo no início do terceiro.[6]

A distância temporal entre os primeiros registos de transmissão do ZIKV e o surto de microcefalia no Brasil é um forte indicativo da correlação entre a infeção e esta trágica consequência, uma vez que é o tempo apropriado para que se possa fazer o diagnóstico das malformações a partir de ultrassonografias. Mais ainda, o aumento de casos de microcefalia ocorreu na mesma área onde há circulação do vírus, havendo então uma correlação espacial, para além da temporal.[9; 27] Para além destas evidências, estudos laboratoriais envolvendo ratos mostraram que o ZIKV é um vírus neurotrópico, podendo levar à morte de células neuronais. [9; 30] No entanto, este aumento exponencial de notificações relativas aos casos de microcefalia pode estar, em parte, relacionado com a consciencialização das populações em

relação a uma possível ligação entre o surto de ZIKV e a microcefalia.[2]

Para além da microcefalia, os fetos com possível infeção congénita pelo ZIKV apresentam também outras malformações, como baixo peso à nascença, excesso de pele no crânio, anasarca fetal, polidrâmnio, artrogripose (contraturas congénitas[27]), lesões cerebrais, disfunção do tronco cerebral, calcificações intracranianas, ausência de capacidade de deglutição, cataratas, tamanho dos olhos assimétrico, calcificações intraoculares, atrofia macular, hipoplasia do nervo ótico, coloboma da íris e subluxação do cristalino.[2] As consequências a longo prazo da microcefalia dependem das restantes malformações que estão associadas e podem variar desde atrasos leves no desenvolvimento até défices motores e intelectuais severos.[27]

É importante salientar que outros agentes patogénicos devem ser excluídos, uma vez que a microcefalia também pode ocorrer na infeção por citomegalovírus (CMV), pelo vírus da rubéola ou pelo vírus varicela-zoster. Calcificações intracranianas também podem ocorrer em infeções por CMV e em situações de toxoplasmose, e cataratas são também comuns na infeção pelo vírus da rubéola.[2] Para além de outras infeções congénitas, a microcefalia pode também advir de anomalias cromossómicas, exposição a drogas, álcool e toxinas ambientais, doenças metabólicas ou fusão prematura dos ossos do crânio.[27]

As principais dificuldades encontradas na gestão da infeção pelo ZIKV em grávidas passam por: incerteza no risco de desenvolvimento de malformações congénitas dos fetos de grávidas infetadas, qual a associação entre a gravidade do risco e as diferentes etapas/períodos da gestação e, por último, a falta de alternativas no diagnóstico pré-natal precoce, para além dos estudos baseados em imagens (ultrassonografias). Assim, tornam-se essenciais medidas como a monitorização de grávidas que tenham viajado para zonas endémicas, um diagnóstico precoce da infeção, uma vigilância e monitorização pré e pós-natal da mulher infetada, a exclusão de outras infeções congénitas e a execução de amniocentese quando são detetadas alterações nas ultrassonografias.[5]

7.1| *Exposição de casos clínicos*

Caso 1: Estudo retrospetivo com 23 crianças diagnosticadas com infeção congénita, possivelmente associada ao ZIKV, durante a epidemia de microcefalia no Brasil. 15 crianças foram analisadas por tomografia computorizada, 7 por tomografia computorizada e ressonância magnética e 1 por ressonância magnética.[29]

Resultados e Conclusões

Os exames realizados detetaram calcificações, predominantemente na junção entre a substância branca cortical e a subcortical, em todas as crianças, bem como malformações no desenvolvimento do córtex e dos seus sulcos. Observou-se também que a microcefalia estava associada a espessamento de zonas do córtex, nomeadamente nos lobos frontais. Para além destas observações, verificou-se a existência de um volume cerebral diminuído, ventriculomegalia (predominantemente nas zonas posteriores dos ventrículos laterais), anomalias no corpo caloso e mielinização atrasada.

Várias características encontradas são semelhantes às descritas em outras infeções congénitas do sistema nervoso central (SNC), nomeadamente as provocadas pelos microrganismos do painel TORCH (*Toxoplasma gondii*, vírus da rubéola, citomegalovírus e vírus herpes simplex), como seja o volume cerebral diminuído ou as malformações no desenvolvimento cortical. Mas, por exemplo, no caso das malformações corticais, estas são predominantemente nos lobos frontais, o que não foi descrito em nenhuma outra infeção congénita do SNC. Também a localização das calcificações intracranianas pode ser indicativa do tipo de infeção, em que, no caso apresentado, se localizam na junção entre a substância branca cortical e a subcortical, enquanto que, em infeções pelo CMV estas calcificações localizam-se em áreas periventriculares.

Para além destas evidências, concluiu-se também que as lesões cerebrais causados pelo ZIKV eram bastante severas, sendo o prognóstico da função neurológica considerado desfavorável.

Caso 2: Estudo de coorte com 35 crianças com microcefalia, nascidas no período de agosto a outubro de 2015, em 8 estados brasileiros.[27]

a) As mães das 35 crianças viveram em zonas afetadas pelo ZIKV ou visitaram áreas afetadas durante a gravidez;
b) 26 mães reportaram erupção cutânea durante o primeiro ou segundo trimestre de gravidez;
c) Todas as crianças foram submetidas a punção lombar, tendo o seu líquido cefalorraquidiano sido enviado para análise laboratorial, não estando ainda os resultados disponíveis;
d) Testes negativos para outras infeções congénitas.

Resultados e Conclusões

25 crianças apresentavam microcefalia severa (perímetro cefálico 3 ou mais desvios-padrão abaixo da média para o sexo e idade gestacional); os resultados de tomografias computorizadas e ecografias cranianas transfontanelares mostraram existir um padrão consistente de calcificações cerebrais nas zonas periventricular, parenquimal e talâmica, bem como ventriculomegalia; 11 casos apresentavam excesso de pele no crânio, indicativo de paragem no crescimento cerebral, mas não no crescimento da pele; 4 crianças apresentavam artrogripose. Existe, então, uma forte possibilidade de haver ligação entre a infeção pelo ZIKV e o desenvolvimento de malformações congénitas nos fetos. De salientar que as mães que não apresentaram erupção cutânea durante a gravidez também podem ter sido infetadas, uma vez que 80% das infeções são assintomáticas.

Caso 3: O Centro de Controlo e Prevenção de Doenças (CDC) testou amostras provenientes de 2 gravidezes que terminaram em aborto e 2 crianças com microcefalia que morreram logo após o nascimento.[27]

a) Os 4 casos eram provenientes do Brasil;
b) Todas as mães apresentaram erupção cutânea e febre durante a gravidez.

Resultados e Conclusões

Todas as amostras foram positivas para o ZIKV, indicando que as crianças foram infetadas durante a gravidez. O vírus Zika foi detetado no cérebro destas crianças e a análise da sequência genética do vírus nos 4 casos permitiu concluir que a estirpe era a mesma que circula no Brasil.

Caso 4: Grávida infetada pelo vírus Zika à 11ª semana de gestação com deteção de malformações cerebrais graves no feto, que levaram à interrupção da gravidez às 21 semanas de gestação.[31]

a) A grávida realizou uma viagem ao México na sua 11ª semana de gestação, tendo apresentado dor ocular, mialgia, febre baixa e erupção cutânea após o seu regresso a casa.

Resultados e Conclusões

A grávida realizou análises serológicas, 4 semanas após o seu regresso, que detetaram IgM e IgG contra o ZIKV, IgG positiva e IgM negativa contra o DENV e resultados negativos

contra CHIKV; as ultrassonografias às semanas 13, 16 e 17 não apresentaram evidências de microcefalia nem calcificações intracranianas mas a ultrassonografia às 19 semanas mostrou anatomia intracraniana anormal; houve diminuição do perímetro cefálico do 47º percentil às 16 semanas para o 24º percentil às 20 semanas, o que indicia redução da taxa de crescimento cerebral durante esse período. Às 20 semanas, uma ressonância magnética fetal mostrou atrofia do córtex cerebral, mais severa nos lobos frontal e parietal e o corpo caloso mais pequeno que o esperado para a idade gestacional. Acredita-se que o período que decorre entre a infeção fetal pelo ZIKV e a deteção da microcefalia e calcificações intracranianas por ultrassonografia é relativamente longo, podendo ocorrer falsos negativos.

A maior carga viral de ZIKV foi encontrada no cérebro, no entanto também foi detetada uma carga viral significativa na placenta, membranas fetais e cordão umbilical e presença de RNA viral no líquido amniótico. O líquido amniótico também foi testado para parvovírus B19, vírus herpes simplex, CMV e *Toxoplasma gondii* tendo os resultados sido negativos. Também negativos foram os resultados para herpes simplex e varicela-zoster no tecido do cérebro fetal.

No soro materno também foi detetado RNA do ZIKV, apesar de baixa carga viral. A pesquisa de IgM contra CMV, parvovírus B19, *Toxoplasma gondii* e rubéola no soro materno foi negativa.

A virémia, normalmente, mantém-se durante uma semana. O facto de a mãe apresentar virémia persistente pode dever-se ao facto de estar a ocorrer replicação viral no feto e na placenta.

O isolamento de partículas virais do cérebro fetal reforça a possível associação entre a infeção congénita pelo ZIKV e os danos cerebrais fetais.

Caso 5: Grávida que apresentou erupção cutânea e febre no final do primeiro trimestre de gravidez, tendo a ultrassonografia realizada às 29 semanas de gestação revelado microcefalia com calcificações no cérebro do feto e na placenta.[3]

a) A grávida vivia no Brasil, na cidade de Natal, tendo engravidado em Fevereiro de 2015;
b) Na 13ª semana de gestação ficou doente com febre alta, mialgia, dor ocular e erupção maculopapular.

Resultados e Conclusões

A ultrassonografia realizada às 14 e às 20 semanas de gestação mostrou crescimento

e anatomia fetal normal; às 29 semanas de gestação, a ultrassonografia já apresentou sinais de anomalias fetais; a ultrassonografia realizada à 30ª semana de gestação confirmou o atraso do crescimento intrauterino, com numerosas calcificações placentárias, microcefalia fetal, ventriculomegalia moderada, diâmetro transcerebelar abaixo do segundo percentil e calcificações cerebrais em variadas áreas do mesmo. Devido ao mau prognóstico em relação à saúde neonatal, a mãe optou por realizar a interrupção da gravidez, cujo procedimento foi realizado às 32 semanas de gestação.

A autópsia, para além da microcefalia detetada no momento do parto, revelou cerebelo e tronco cerebral pequenos, agiria quase completa, hidrocéfalo dos ventrículos laterais, várias calcificações no córtex e substância branca subcortical nos lobos frontal, parietal e occipital. A análise de um homogeneizado de cérebro revelou partículas virais esféricas com características morfológicas consistentes com as dos vírus da família *Flaviviridae*.

A análise de uma amostra de cérebro fetal por RT-PCR revelou a presença de RNA do ZIKV. Amostras de todos os órgãos, placenta e cordão umbilical foram testadas para avaliar a presença de outros flavivírus, CHIKV, CMV, vírus da rubéola, vírus varicela-zoster, vírus herpes simplex, parvovírus B19, enterovírus e *Toxoplasma gondii*, tendo os resultados obtidos sido negativos.

A análise filogenética do vírus permitiu concluir que se tratava de uma estirpe muito semelhante à do surto da Polinésia Francesa, em 2013 e à do surto em São Paulo, no Brasil, em 2015.

A ausência de vírus ou alterações morfológicas em outros órgãos para além do cérebro sugere um forte neurotropismo do vírus, no entanto o mecanismo envolvido ainda não é muito claro. A aparência morfológica das calcificações, que se assemelham a estruturas neuronais destruídas, indica a possível localização do vírus nos neurónios que terá como consequência a interrupção do desenvolvimento do córtex cerebral, aproximadamente às 20 semanas de gestação.

Caso 6: Estudo de coorte com 88 grávidas, no período de setembro de 2015 a fevereiro de 2016.[32]

a) Grávidas provenientes do Rio de Janeiro, Brasil;
b) 72 grávidas tiveram resultado positivo, por RT-PCR, para infeção pelo ZIKV no sangue, urina ou ambos;
c) 16 grávidas apresentaram resultados negativos, por RT-PCR, para o ZIKV;

d) Todas as grávidas apresentaram erupção cutânea (critério de inclusão no estudo), mas o grupo com resultado positivo para o ZIKV apresentou algumas características de uma forma muito mais proeminente que o grupo negativo, como hiperemia conjuntival, linfadenopatia e ausência de sintomas respiratórios.

Resultados e Conclusões

Duas das mulheres infetadas sofreram aborto no primeiro trimestre e das 70 restantes, 42 (60%) procederam a ultrassonografias pré-natais. 29% dos casos revelaram problemas sérios no desenvolvimento fetal e no desenvolvimento do SNC, nomeadamente restrição no crescimento intrauterino, com ou sem presença de microcefalia, calcificações intracranianas e outras alterações do SNC. As alterações foram detetadas em fetos cujas mães foram infetadas em distintas semanas de gestação, tendo-se observado estas alterações inclusive em fetos infetados tardiamente, nomeadamente às 27 semanas de gestação.

A microcefalia foi uma situação isolada apenas num caso, estando nos restantes casos associada ao atraso do crescimento intrauterino.

As mulheres não infetadas realizaram ultrassonografias fetais, sendo os resultados normais.

O facto de se ter identificado RNA viral no líquido amniótico de fetos com microcefalia, no tecido cerebral de fetos e crianças com microcefalia e o número elevado de casos de microcefalia em crianças cujas mães apresentaram infeção pelo ZIKV durante a gravidez permitem concluir que existe uma forte probabilidade de ligação entre a infeção materna pelo ZIKV e o desenvolvimento de microcefalia no feto.[6] Mas é também muito importante salientar que a doença em si não é apenas a microcefalia, mas sim uma nova infeção congénita, que inclui, para além da microcefalia, outras malformações.[29]

Um estudo utilizou os critérios de Shephard, propostos por Thomas Shephard em 1944, para avaliar se as evidências existentes apoiam a hipótese de que a infeção pré-natal pelo ZIKV causa microcefalia e outras malformações cerebrais.[33] O <u>primeiro critério</u> estabelece que a exposição ao agente patogénico deve ocorrer num momento crítico durante o desenvolvimento pré-natal, sendo assim, este critério é cumprido, uma vez que várias informações apontam que uma grande maioria das mães foi infetada durante o primeiro trimestre de gravidez ou início do segundo. O <u>segundo critério</u> exige que 2 estudos epidemiológicos de elevada qualidade apoiem a associação. Como já apresentados anteriormente, há vários estudos que suportam esta hipótese, no entanto é necessário ter

em atenção que há limitações aos mesmos, nomeadamente o número de casos relativamente reduzido. Considera-se então que não se obedece ao segundo critério. Segundo o terceiro critério, deve fazer-se uma delineação criteriosa de casos clínicos em que tenha sido encontrado uma alteração específica ou síndrome. A maioria dos fetos e crianças com provável infeção pelo ZIKV apresentou um padrão de características que inclui microcefalia, calcificações intracranianas e outras malformações que incluem alterações oculares e excesso de pele no crânio. Obedecendo-se, assim, ao terceiro critério. O quarto critério exige uma associação entre exposição rara e alteração rara. Obedece-se a este critério uma vez que a microcefalia é uma alteração rara e pode considerar-se rara a exposição ao vírus no caso de mulheres que viajaram para áreas endémicas por um período limitado de tempo. Os últimos três critérios podem auxiliar se estiverem presentes, mas não são considerados essenciais. O quinto critério exige um modelo animal que comprove a teratogenicidade, não tendo ainda sido comprovado. O sexto critério estipula que a associação deve fazer sentido biológico. Este critério também é cumprido uma vez que partículas virais e o RNA viral foram encontrados no cérebro de recém-nascidos com microcefalia e sabe-se, também, que o ZIKV é neurotrópico. O sétimo critério não se aplica neste caso porque se refere a medicamentos ou agentes químicos e não a agentes infeciosos.

Assim, obedece-se, pelo menos, aos critérios 1, 3 e 4, que permitem classificar o agente infecioso como teratogénico.[33]

Apesar de todas as evidências sugerirem uma associação entre a infeção fetal pelo ZIKV e a ocorrência de malformações congénitas, são ainda necessários estudos em larga escala que permitam concluir se há, efetivamente, esta ligação.[2]

8| *PREVENÇÃO*

A prevenção é essencial, uma vez que não existe nenhuma vacina nem nenhum fármaco antiviral para o ZIKV.[13]

A prevenção baseia-se essencialmente em evitar a picada por mosquitos, controlar os mosquitos vetores, reduzir a possível transmissão por via sexual e reduzir a transmissão através de transfusões sanguíneas e doação de órgãos.[6]

8.1| *Evitar a picada por mosquitos*

Para evitar a picada por mosquitos em pessoas que vivam em áreas afetadas ou que viajem para essas zonas é recomendado o uso de repelentes, de vestuário com mangas

compridas e calças, minimizar as atividades ao ar livre nas alturas de maior atividade dos vetores deste vírus e instalar-se redes mosquiteiras nas portas e janelas das habitações.[1; 2] O uso correto de repelentes é uma medida essencial na proteção contra os mosquitos vetores do ZIKV, sendo o mais eficaz, o N,N-dietil-m-toluamida (DEET), utilizado sob a forma de líquido, aerossóis ou loções, para aplicação na pele ou mesmo na roupa. Quando usado numa concentração de 15%, o DEET é eficaz contra as espécies *A. aegypti* e *A. albopicuts* durante 7 a 8 horas. Este repelente tem um bom perfil de segurança e eficácia.[5; 9; 34] Normalmente, a concentração de DEET recomendada para adultos é de 20% a 30%.[5] Quando usado de forma adequada, o DEET é considerado seguro em crianças com idade superior a 2 meses, assim como em grávidas e lactantes.[35]

Para além do DEET, há outras alternativas seguras como o etil butilacetilaminopropionato (IR3535), a picaridina (concentração >20%) e o *p*-mentano-3,8-diol (PMD). Quando se pretende fazer impregnação de roupas, calçado ou outros equipamentos, a primeira opção é a permetrina.[36] Independentemente do repelente utilizado, é necessário repetir a aplicação após suor intenso, natação ou após se apanhar chuva e a aplicação deve ser realizada cerca de 20 minutos após a aplicação de protetor solar.[5]

Para além do uso de repelentes por pessoas que viajam para zonas afetadas por este vírus, é importante salientar a importância de essas pessoas continuarem a usar repelentes por, pelo menos, mais 14 dias após o regresso ao seu país, por forma a prevenir a aquisição do vírus por mosquitos não infetados, caso estes piquem a pessoa infetada (com infeção sintomática ou assintomática).[2]

Mulheres grávidas ou que estejam a planear engravidar devem evitar viajar para locais onde tenham sido reportados casos de infeção pelo ZIKV. Caso seja inevitável a viagem, todas as medidas de proteção devem ser tomadas por estas pessoas para evitar a picada por mosquitos.[2; 13] Alguns países americanos sugerem mesmo que seja adiada a gravidez durante o surto de Zika.[1]

8.2| *Controlo de mosquitos vetores*

O controlo de vetores passa, acima de tudo, pelo controlo das larvas dos mosquitos. Assim, devem eliminar-se os reservatórios com águas paradas onde os mosquitos possam depositar os seus ovos. Uma das técnicas utilizadas é a colocação de redes de *nylon* sobre os contentores de água, no entanto outros locais mais escondidos ou mesmo o lixo doméstico são locais de reprodução que não são tão facilmente detetados e, por isso, de mais difícil controlo. Assim, é necessário educar-se a população para a limpeza escrupulosa de

contentores de uso diário.[37]

Usar *sprays* inseticidas em habitats de mosquitos vetores pode ser uma boa opção, no entanto levanta-se a questão ecológica.[38] No entanto, não se deve esquecer que vários géneros de mosquitos, incluindo o género *Aedes spp.*, têm a capacidade de hibernar, assim como os seus ovos, que têm a capacidade de resistir a períodos prolongados de seca.[5]

Uma técnica que parece ser bastante promissora para o controlo dos vetores é a libertação para o ambiente de machos estéreis, sendo esterilizados por radiação ou por utilização de produtos químicos. Por sua vez, a libertação de machos geneticamente modificados para o ambiente, que transportam um gene modificado, vai permitir que este gene seja passado às fêmeas, sendo que este transgene tem a capacidade de provocar a morte de mosquitos imaturos bem como provocar alterações nos músculos utilizados no voo, resultando em fêmeas que não têm a capacidade de se alimentar nem procriar.[37; 39]

8.3| *Redução da transmissão por via sexual*

Os indivíduos que viajem para zonas endémicas e doentes que estejam a recuperar da infeção devem usar métodos contracetivos ou mesmo a abstinência, uma vez que existe o risco de transmissão por via sexual. Caso a parceira esteja grávida, quando o parceiro regressa de uma viagem de uma zona endémica, devem usar preservativo até ao final da gravidez.[2]

São ainda necessários estudos que avaliem o tempo de permanência do vírus no sémen para que se possa determinar o tempo durante o qual os métodos de barreira devem ser utilizados por homens regressados de zonas endémicas. Assim, algumas autoridades recomendam o uso de métodos contracetivos barreira durante 28 dias, se o viajante que regressa for assintomático, e 6 meses de contraceção barreira após a recuperação, se for sintomático[5; 13], uma vez que a duração máxima da persistência do vírus no sémen ainda não é conhecida mas sabe-se que este pode ser detetado mesmo após a virémia ter terminado.[40] Assim, o planeamento de uma possível gravidez deve ser adiado.[2]

8.4| Redução da transmissão por transfusão sanguínea e doação de tecidos e órgãos

Em situações de surtos de ZIKV deve ser adiada a **doação sanguínea e de tecidos** nessas zonas. Em zonas não endémicas, os dadores devem responder a questionários relativamente ao seu histórico recente de viagens, por forma a apurar-se se essas pessoas

terão viajado para zonas onde se tenham reportado casos de ZIKV.[1; 2; 5] Os dadores infetados pelo ZIKV ou que tenham tido exposição epidemiológica relevante, como seja viajar para zonas onde se tenham reportados casos de infeção pelo ZIKV ou mantido relações sexuais desprotegidas com pessoas que obedeçam a estes critérios, devem ser considerados não aptos a doação por 6 meses. Dadores após a sua morte devem também ser negados se tiverem tido infeção pelo ZIKV nos últimos 6 meses.[40] Quanto à doação de órgãos, deve testar-se a presença de ZIKV, principalmente aquando de doação de rins, uma vez que este vírus pode manter-se no trato genitourinário por tempo ainda indeterminado[2], no entanto, ainda não há dados suficientes que permitam saber se órgãos onde tenha sido detetado RNA viral podem permitir a infeção se esses órgãos forem transplantados.[40]

9| *DIAGNÓSTICO*

As principais técnicas de diagnóstico utilizadas para detetar infeção pelo vírus Zika são a deteção de ácidos nucleicos virais por RT-PCR e a deteção de anticorpos IgM e IgG através da técnica ELISA.[6]

A **deteção de ácidos nucleicos virais** permite um diagnóstico definitivo[6], no entanto a virémia nesta infeção é transitória, sendo o período de virémia curto e, por isso, a técnica deve ser aplicada em amostras de sangue periférico recolhidas nos primeiros 3 a 5 dias após o início dos sintomas.[1; 2; 5] Para além disso, a virémia é, normalmente baixa, o que dificulta o isolamento do vírus a partir das amostras.[2; 6] Em alternativa a amostras de sangue, podem testar-se amostras de urina e sémen, uma vez que têm uma maior carga viral e são positivas por mais tempo após o aparecimento de sintomas (mais de 30 dias para amostras de urina e mais de 62 dias para amostras de sémen). Visto que se verificaram alguns casos de presença de vírus na saliva de doentes que apresentaram resultados negativos na análise ao seu soro, esta poderá também ser uma amostra a recolher quando se suspeite de infeção.[2] No entanto, as amostras de saliva não podem substituir as amostras de sangue, mas apenas auxiliar na deteção, uma vez que algumas amostras de saliva foram negativas em indivíduos com amostras de sangue positivas.[19] Na técnica de RT-PCR são usados *primers* cujo alvo é o gene E ou o gene NS5 do vírus, permitindo diferenciar o vírus Zika de outros agentes patogénicos que apresentem manifestações clínicas similares.[2; 5]

A deteção de anticorpos IgM e IgG por **técnica de ELISA** é também uma opção para o diagnóstico de infeção pelo ZIKV. A IgM surge nos primeiros dias após o aparecimento de sintomas e estes anticorpos podem permanecer no organismo durante alguns meses.[2; 6] No entanto, estes testes serológicos apresentam reações cruzadas com

anticorpos contra outros flavivírus[1; 2; 6], e, em alguns casos, a reatividade serológica é ainda mais elevada ao primeiro flavivírus.[41] Assim, os resultados positivos obtidos pelo método ELISA devem ser confirmados por técnicas adicionais, como o **Teste de Neutralização por Redução em Placas** (PRNT), em que o título de anticorpos neutralizantes contra o ZIKV deve ser >20 e doentes com primeira infeção pelo ZIKV devem apresentar um aumento do título de anticorpos neutralizantes contra o ZIKV 4 vezes superior ao título de anticorpos em doentes com infeção pelo DENV ou outro flavivírus.[42] Quando o título de anticorpos contra o ZIKV é inferior a 4 vezes o título de anticorpos contra o DENV ou outro flavivírus, os resultados não permitem concluir que tenha ocorrido uma infeção com ZIKV, sendo que, nesta situação, a infeção só é considerada provável.

Infeção Confirmada	***Infeção Provável***
RNA detetado por RT-PCR **OU** IgM detetados por ELISA **+** Título de Ac contra ZIKV >20 (por PRNT) **+** $\frac{\text{Título de Ac contra ZIKV}}{\text{Título de Ac contra outro flavivírus}} > 4$	RNA não detetado por RT-PCR ou sem possibilidade de ser realizada a análise **E** IgM detetados por ELISA **+** Título de Ac contra ZIKV >20 (por PRNT) **+** $\frac{\text{Título de Ac contra ZIKV}}{\text{Título de Ac contra outro flavivírus}} < 4$

Tabela I – Tabela-resumo dos critérios necessários para diagnóstico da infeção.

Os resultados inconclusivos podem ocorrer em doentes que tenham sido vacinados ou que tenham estado previamente expostos a outros flavivírus[1; 42], o que se torna um grande problema em zonas de co-circulação de outros flavivírus transmitidos pelo género *Aedes*.[2] Apesar dos inconvenientes, estas são técnicas valiosas quando os resultados já seriam negativos por RT-PCR.[5]

Quando as ultrassonografias apresentam resultados sugestivos de infeção congénita pelo ZIKV ou quando as mulheres grávidas apresentam infeção pelo ZIKV, deve recolher-se líquido amniótico para que seja testado por RT-PCR. Na altura do parto, o cordão umbilical, o soro do bebé, a sua urina e o seu líquido cefalorraquidiano bem como a placenta devem também ser analisados por RT-PCR para pesquisa de RNA viral, bem como a utilização da

técnica ELISA de pesquisa de anticorpos no soro do recém-nascido ou no seu líquido cefalorraquidiano. Estas técnicas podem também ser aplicadas em tecidos de perdas fetais ou de crianças que morram logo após o parto.[2; 6; 43]

10| *TRATAMENTO*

Ainda não existe um tratamento específico para o vírus Zika e, por isso, toda a gestão desta infeção passa pelo tratamento sintomático. Assim, o descanso e um elevado nível de hidratação através da ingestão de fluidos são medidas que devem ser implementadas. O uso de analgésicos e antipiréticos, como o paracetamol, é recomendado para alívio de dores e febre e o uso de anti-histamínicos é utilizado para aliviar os sintomas a nível cutâneo.[13; 44]

Os Anti-inflamatórios Não Esteróides (AINE's) estão contraindicados até ser excluída a hipótese de Dengue, uma vez que estes poderiam provocar complicações hemorrágicas. O uso de aspirina está contraindicado devido ao risco de hemorragia e, em crianças com menos de 12 anos, também devido ao risco de desenvolvimento de síndrome de Reye.[2; 13; 44]

11| CONCLUSÃO

O vírus Zika, que até há pouco mais de um ano, se pensava ser um vírus inofensivo, que causaria uma infeção com sintomas leves e passageiros, passou a ser encarado como um verdadeiro perigo para a saúde pública. A sua possível ligação a malformações congénitas e ao elevado número de casos de microcefalia reportados veio trazer uma enorme preocupação ao mundo atual, levando autoridades sanitárias de todo o mundo a fazer comunicados de alerta.

Assim, visto não existir ainda uma vacina que proteja contra a infeção pelo ZIKV nem um tratamento eficaz para esta infeção, todos os esforços estão centrados na prevenção. A consciencialização das populações para o correto uso de medidas preventivas em relação ao vetor do vírus, como o uso de repelentes e o evitar ter depósitos de águas paradas e de lixo junto às habitações. São medidas muito importantes para evitar a propagação de uma infeção que, apesar de ainda ser uma suposição, tudo aponta para que tenha consequências graves para a nova geração que surge como descendência de mulheres infetadas.

A transmissão do vírus por via sexual também deve ser evitada, educando a população para a correta utilização de métodos de barreira (preservativo). É também importante sensibilizar a população para a necessidade de adiar uma gravidez, nos casos em que haja a possibilidade de infeção.

Para além destas medidas de prevenção, é fundamental que surja uma vacina capaz de conferir imunidade. Paralelamente, as técnicas de diagnóstico deverão evoluir no sentido de permitir um diagnóstico definitivo da infeção pelo ZIKV.

O vírus Zika considerado até há pouco como um agente patogénico inofensivo constitui atualmente uma grande ameaça à saúde pública.

12| *BIBLIOGAFIA*

1. SAIZ, Juan-Carlos *et al.* - Zika virus: the latest newcomer. **Frontiers in Microbiology**. 7 (2016) 496.

2. CHAN, Jasper F. W. *et al.* - Zika fever and congenital Zika syndrome: an unexpected emerging arboviral disease? **Journal of Infection**. 72:5 (2016) 507–524.

3. MLAKAR, Jernej *et al.* - Zika virus associated with microcephaly. **New England Journal of Medicine**. 374 (2016) 951–958.

4. SALINAS, Sara *et al.* - Le virus Zika - L'émergence d'une menace. **Médecine et Sciences**. 32:4 (2016) 378–386.

5. WONG, Samson Sai-yin; POON, Rosana Wing-shan; WONG, Sally Cheuk-ying - Zika virus infection - the next wave after dengue? **Journal of the Formosan Medical Association**. 115:4 (2016) 226–242.

6. BADEN, Lindsey R. *et al.* - Zika virus. **New England Journal of Medicine**. 374 (2016) 1552–1563.

7. ROBY, Justin A. *et al.* - Post-translational regulation and modifications of flavivirus structural proteins. **Journal of General Virology**. 96:7 (2015) 1551–1569.

8. HADDOW, Andrew D. *et al.* - Genetic characterization of zika virus strains: geographic expansion of the asian lineage. **PLoS Neglected Tropical Diseases**. 6:2 (2012) e1477.

9. CARVALHO, Newton Sérgio DE *et al.* - Zika virus infection during pregnancy and microcephaly occurrence: a review of literature and Brazilian data. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**. 20:3 (2016) 282–289.

10. PONLAWAT, A.; HARRINGTON, L. C. - Blood feeding patterns of Aedes aegypti and Aedes albopictus in Thailand. **Journal of Medical Entomology**. 42:5 (2005) 844–849.

11. IMPERATO, Pascal James - The convergence of a virus, mosquitoes, and human travel in globalizing the Zika epidemic. **Journal of Community Health**. 41:3 (2016) 674–679.

12. SCOTT, Thomas W.; TAKKEN, Willem - Feeding strategies of anthropophilic mosquitoes result in increased risk of pathogen transmission. **Trends in Parasitology**. 28:3 (2012) 114–121.

13. LUPTON, Kelly - Zika virus disease: a public health emergency of international concern. **British Journal of Nursing**. 25:4 (2016) 198–202.

14. PAUPY, C. *et al.* - Aedes albopictus, an arbovirus vector: from the darkness to the light. **Microbes and Infection**. 11:14-15 (2009) 1177–1185.

15. MUSSO, D. *et al.* - Potential for Zika virus transmission through blood transfusion demonstrated during an outbreak in French Polynesia, November 2013 to February 2014. **Eurosurveillance**. 19:14 (2014) 14–16.

16. VASQUEZ, Amber M. *et al.* - Survey of blood collection centers and implementation of guidance for prevention of transfusion-transmitted Zika virus infection - Puerto Rico, 2016. **MMWR. Morbidity and mortality weekly report**. 65:14 (2016) 375–378.

17. HILLS, Susan L. *et al.* - Transmission of Zika virus through sexual contact with travelers to areas of ongoing transmission - Continental United States, 2016. **MMWR. Morbidity and mortality weekly report**. 65:8 (2016) 215–216.

18. MARTINES, Roosecelis Brasil *et al.* - Evidence of Zika virus infection in brain and placental tissues from two congenitally infected newborns and two fetal losses — Brazil, 2015. **MMWR. Morbidity and mortality weekly report**. 65:6 (2016) 159–160.

19. MUSSO, Didier *et al.* - Detection of Zika virus in saliva. **Journal of Clinical Virology**. 68 (2015) 53–55.

20. BESNARD, M. *et al.* - Evidence of perinatal transmission of zika virus, French Polynesia, December 2013 and February 2014. **Eurosurveillance**. 19:13 (2014) 8–11.

21. HAMEL, Rodolphe *et al.* - Biology of Zika virus infection in human skin cells. **Journal of Virology**. 89:17 (2015) 8880–8896.

22. STIASNY, Karin *et al.* - Molecular mechanisms of flavivirus membrane fusion. **Amino Acids**. 41:5 (2011) 1159–1163.

23. VÁZQUEZ-CALVO, Ángela *et al.* - Acid-dependent viral entry. **Virus Research**. 167:2 (2012) 125–137.

24. TAPPE, Dennis *et al.* - Cytokine kinetics of Zika virus-infected patients from acute to reconvalescent phase. **Medical Microbiology and Immunology**. 205:3 (2015) 269–273.

25. OEHLER, E. *et al.* - Zika virus infection complicated by Guillain-Barre syndrome - case report, French Polynesia, December 2013. **Eurosurveillance**. 19:9 (2014) 7–9.

26. LEROY, Jules G.; FRÍAS, Jaime L. - Nonsyndromic microcephaly: an overview. **Advances in Pediatrics**. 52 (2005) 261–293.

27. SCHULER-FACCINI, Lavinia *et al.* - Possible association between Zika virus infection and microcephaly — Brazil, 2015. **MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report**. 65:3 (2016) 59–62.

28. PLAWNER L, Dobyns WB.; ASHWAL S, Michelson D. - Practice parameter: evaluation of the child with microcephaly (an evidence-based review): report of the quality standards subcommittee of the American Academy of Neurology and the Practice Committee of the Child Neurology Society. **Neurology**. 73:11 (2009) 887–97.

29. FATIMA VASCO ARAGAO, Maria DE *et al.* - Clinical features and neuroimaging (CT and MRI) findings in presumed Zika virus related congenital infection and microcephaly: retrospective case series study. **BMJ**. 353 (2016) i1901.

30. BLUM, Jonathan D.; CONWAY, Patrick H.; SHARFSTEIN, Joshua M. - Zika virus as a cause of neurologic disorders. **New England Journal of Medicine**. 374 (2016) 1506–1509.

31. DRIGGERS, Rita W. *et al.* - Zika virus infection with prolonged maternal viremia and fetal brain abnormalities. **The New England Journal of Medicine**. 374:22 (2016) 2142–2151.

32. BRASIL, Patrícia *et al.* - Zika virus infection in pregnant women in Rio de Janeiro — preliminary report. **New England Journal of Medicine**. (2016).

33. RASMUSSEN, Sonja A. *et al.* - Zika virus and birth defects — reviewing the evidence for causality. **New England Journal of Medicine**. 374:20 (2016) 1981–1987.

34. LUPI, Eleonora; HATZ, Christoph; SCHLAGENHAUF, Patricia - The efficacy of repellents against Aedes, Anopheles, Culex and Ixodes spp. - A literature review. **Travel Medicine and Infectious Disease**. 11:6 (2013) 374–411.

35. HENNESSEY, M.; FISCHER, M.; STAPLES, J. E. - Zika virus spreads to new areas - region of the Americas, May 2015-January 2016. **MMWR. Morbidity and mortality weekly report**. 65:3 (2016) 55–58.

36. GOODYER, Larry I. *et al.* - Expert review of the evidence base for arthropod bite avoidance. **Journal of Travel Medicine**. 17:3 (2010) 182–192.

37. BALDACCHINO, Frédéric *et al.* - Control methods against invasive Aedes mosquitoes in Europe: a review. **Pest Management Science**. 71:11 (2015) 1471–1485.

38. DR, Lucey; LO, Gostin - The emerging zika pandemic: enhancing preparedness. **JAMA**. 315:9 (2016) 865–866.

39. JACOB, Julie A. - Researchers focus on solving the Zika riddles. **JAMA**. 315:11 (2016) 1097–1099.

40. **Donor screening recommendations to reduce the risk of transmission of Zika virus by human cells, tissues, and cellular and tissue-based products: Guidance for Industry** - . Rockville : FDA, (2016).

41. LANCIOTTI, Robert S. *et al.* - Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. **Emerging Infectious Diseases**. 14:8 (2008) 1232–1239.

42. DUFFY M. *et al.* - Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. **New England Journal of Medicine**. 360:24 (2009) 2536–2543.

43. STAPLES, JE - Interim guidelines for the evaluation and testing of infants with possible congenital Zika virus infection—United States, 2016. **MMWR. Morbidity and mortality weekly report**. 65:3 (2016) 63–67.

44. SHUAIB, Waqas *et al.* - The reemergence of Zika virus: a review on pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, and treatment. **The American Journal of Medicine**. (2016).