

Co-fatores associados a microcefalia de bebês em gestantes com Zika: uma revisão integrativa

Co-factors associated with microcephaly of babies in pregnant women with Zika: an integrative review

Cofactores asociados a microcefalia de bebés en gestantes con Zika: una revisión integrativa

Letícia de Oliveira Cardoso Freitas¹, Talita Russo Mini²,
Shannon de Oliveira Hunt³, Gabriel Galeazzi Corradi⁴,
Yago Guedes Rodrigues⁵, Bruno Teixeira Marcos Moraes⁶,
Isadora Luísa Borges Bringel⁷, Gabriela Neves Vital Santoro Autran⁸,
Hugo Martins Araujo⁹, Rafaela Rosa-Ribeiro¹⁰

1. Graduação em Medicina. Faculdade de Medicina de Marília (FAMEMA). Marília-SP, Brasil. Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-4515-8664>
2. Graduação em Medicina. Centro Universitário Estácio de Ribeirão Preto. Ribeirão Preto-SP, Brasil. Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-5853-8538>
3. Graduação em Medicina. Universidade Federal de Pernambuco. Recife-PE, Brasil. Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-4211-595X>
4. Graduação em Medicina. Universidade Federal do Mato Grosso do Sul. Campo Grande-MS, Brasil. Orcid: <https://orcid.org/0009-0000-1088-5576>
5. Graduação em Medicina. Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE). Presidente Prudente-SP, Brasil. Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-6068-3593>
6. Graduação em Medicina. Centro Universitário Barão de Mauá. Ribeirão Preto-SP, Brasil. Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-2763-0398>
7. Graduação em Medicina. Instituto Tocantinense Presidente Antônio Carlos (ITPAC). Araguaiana-TO, Brasil. Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-5776-7438>
8. Graduação em Medicina. Universidade Nilton Lins. Manaus-AM, Brasil. Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-6641-6234>
9. Graduação em Medicina. Universidade de Franca. Franca-SP, Brasil. Orcid: <https://orcid.org/0009-0005-7048-9344>
10. Professora Adjunta Colaboradora. Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO). Departamento de Biologia. Guarapuava-PR, Brasil. Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-1297-2205>

Resumo

Introdução. Após o surto de microcefalia em bebês associada a infecção de gestantes pelo ZIKA vírus em 2015 no nordeste brasileiro houve uma grande busca científica para entender tal relação. Observa-se que aproximadamente 3% das gestantes infectadas apresentam síndrome congênita do ZIKA vírus e uma parcela ainda menor dos afetados possuem como sintoma a microcefalia. Considerando tal cenário, acredita-se que coexista outros fatores com a infecção. **Objetivo.** Avaliar a possível existência de fatores associados a infecção congênita do Zika vírus que leva ao desenvolvimento da microcefalia. **Método.** Realizou-se busca em sites de revistas indexadas como "Scielo" e "PubMed" considerando os descritores para encontrar outros fatores que pudessem estar associados com a microcefalia nos últimos 10 anos. Foram selecionados nove artigos para a elaboração da revisão integrativa. **Resultados.** Os principais achados foram que fatores ambientais como as toxinas de cianobactérias na água de consumo diário e a utilização de larvicidas aumentam a possibilidade de desenvolver microcefalia quando há a infecção por ZIKA vírus. Além disso, pré-disposição genéticas do feto associadas ao comprometimento do funcionamento de genes do sistema imune, também estão associadas ao desfecho de microcefalia quando as gestantes estão infectadas. **Conclusão.** Ainda faltam estudos sobre essas associações e que até o momento, além dos cuidados individuais das gestantes para evitar a infecção por ZIKA vírus, há ainda outros fatores que precisam ser considerados.

Unitermos. Infecção por ZIKA vírus; Microcefalia; Gestantes; Fatores ambientais; Genética

Abstract

Introduction. After the outbreak of microcephaly in babies associated with infection of pregnant women by the ZIKA virus in 2015 in northeastern Brazil, there was a great scientific search to understand this relationship. It is observed that about 3% of infected pregnant women have congenital ZIKA virus syndrome and an even smaller portion of those affected have microcephaly as a symptom. Considering this scenario, it is believed that other factors coexist with the infection. **Objective.** To evaluate the possible existence of factors associated with congenital Zika virus infection that leads to the development of microcephaly. **Method.** a search was carried out on indexed journal websites such as "Scielo" and "PubMed" considering the descriptors to find other factors that could be associated with microcephaly between 2015-2022. Ten articles were selected to prepare the integrative review. **Results.** The main findings were that environmental factors such as cyanobacterial toxins in daily drinking water and the use of larvicides increase the possibility of developing microcephaly when infected with ZIKA virus. Furthermore, genetic predispositions of the fetus associated with impaired functioning of immune system genes are also associated with the outcome of microcephaly when pregnant women are infected. **Conclusion.** There is still a lack of studies on these associations and that to date, in addition to individual care for pregnant women to avoid ZIKA virus infection, there are other factors that need to be considered.

Keywords. ZIKA virus infection; Microcephaly; Pregnant women; Environmental factors; Genetics

Resumen

Introducción. Después del brote de microcefalia en bebés asociado a la infección de mujeres embarazadas por el virus ZIKA en 2015 en el noreste de Brasil, hubo una gran búsqueda científica para comprender esta relación. Se observa que a cerca de 3% de las mujeres embarazadas infectadas tienen el síndrome congénito del virus ZIKA y una porción aún menor de las afectadas tienen microcefalia como síntoma. Ante este escenario, se cree que otros factores coexisten con la infección. **Objetivo.** Evalúa la posible existencia de factores asociados a la infección congénita por el virus Zika que conduzca al desarrollo de microcefalia. **Metodo.** se realizó una búsqueda en sitios web de revistas indexadas como "Scielo" y "PubMed" considerando los descriptores para encontrar otros factores que pudieran estar asociados con la microcefalia en los años 2015-2022. Se seleccionaron diez artículos para preparar la revisión integradora. **Resultados.** Los principales hallazgos fueron que factores ambientales como las toxinas cianobacterianas en el agua potable diaria y el uso de larvicidas aumentan la posibilidad de desarrollar microcefalia cuando se infecta con el virus ZIKA. Además, las predisposiciones genéticas del feto asociadas con el funcionamiento deficiente de los genes del sistema inmunológico también se asocian con el resultado de microcefalia cuando las mujeres embarazadas están infectadas. **Conclusión.** Aún faltan estudios sobre estas asociaciones y que a la fecha, además de los cuidados individuales a las mujeres embarazadas para evitar la infección por el virus ZIKA, existen otros factores que deben ser considerados.

Palabras clave. infección por el virus ZIKA; Microcefalia; Mujeres embarazadas; Factores ambientales; Genética

Trabalho realizado na Faculdade de Medicina de Marília (FAMEMA). Marília-SP, Brasil.

Conflito de interesse: não

Recebido em: 24/12/2023

Aceito em: 30/07/2024

Endereço de correspondência: Rafaela Rosa-Ribeiro. Guarapuava-PR, Brasil. E-mail: rafa.rosarib@gmail.com

INTRODUÇÃO

Encontrado inicialmente na floresta de ZIKA na cidade de Kampala em Uganda em 1947, o vírus ZIKA é um vírus pertencente ao gênero *Flavivirus* da família *Flaviviridae*¹.

Seus principais vetores são mosquitos da espécies de *Aedes*, principalmente a *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* e a *Aedes africanus*². Também são vetores os *Anopheles coustani*, *Culex perfuscus*³ e a *Mansonia uniformis*⁴. Sua transmissão ocorre principalmente pela picada do mosquito infectado com o vírus no ser humano. Porém, os humanos também podem transmitir entre si tanto pelo contato sexual, quanto pelo contato entre a genitora e o feto na gestação⁵⁻⁷. Apesar da infecção por ZIKA vírus ser presente em diversos lugares do mundo, o lugar em que há grande incidência epidemiológica é a região da América Latina, Caribe, África e sul da Ásia⁸.

A manifestação clínica em adultos infectados pelo ZIKA vírus ocorre em menos de 30% dos infectados, sendo que a sintomatologia mais frequentemente são: dores de cabeças, erupções cutâneas, febre, conjuntivite e artralgia⁹. Porém, no casos das gestantes infectadas, o vírus não apenas pode gerar danos na saúde da própria gestante, como pode ocasionar o aparecimento de problemas na saúde do feto, podendo-se ressaltar os danos teratogênicos no sistema neurológico o qual é conhecido como Síndrome Congênita do Zika (SCZ) a qual se caracteriza por diversos sintomas, entre eles um dos principais e que recebe destaque, a microcefalia que tem como principal sintoma a microcefalia^{10,11}.

Apesar da infecção pelo ZIKA vírus gerar sintomas em uma pequena minoria dos infectados sendo manifestações consideradas leves, no início de 2015 o vírus chamou atenção de pesquisadores da saúde, principalmente no interior litorâneo do Nordeste brasileiro, o qual foi assolado

por uma epidemia decorrente da infecção por esse vírus^{12,13}. Em meados de setembro de 2015, notou-se o aumento do número de casos de microcefalia em recém-nascidos¹⁴. Tal fato fez com que os órgãos de saúde estabelecessem um nexo causal entre a infecção dessa arbovirose e a manifestação da microcefalia. Já em outubro, o Ministério da Saúde (MS) confirmou a alta prevalência desta infecção congênita, através de uma força tarefa para investigação da correlação até então proposta¹⁵. Diante da intensidade e da gravidade dos casos reportados, no ano de 2016 a Organização Mundial da Saúde (OMS) considerou a epidemia do ZIKA vírus uma emergência de saúde pública de relevância internacional¹⁶.

A microcefalia é definida pelo MS como um perímetro cefálico (PC) igual ou menor do que dois desvios-padrão abaixo da média esperada para o sexo e a idade gestacional do recém-nascido, resultado de um agravo no início do neurodesenvolvimento cerebral¹⁷. Tal agravo pode ser consequência de mutações genéticas, fatores teratogênicos e infecções congênitas, como as causadas pela toxoplasmose, sífilis, rubéola, citomegalovírus, herpes simples e o após os casos ocorridos no Brasil e Polinésia Francesa, pela infecção por ZIKA^{18,19}. Nesse sentido, a associação entre a microcefalia e a infecção congênita por ZIKA vírus ficou mais evidente a partir de dados obtidos pelo estudo de caso controle realizado pelo MS. Estes dados evidenciaram que os recém nascidos com microcefalia eram filhos de mães com relatos de manifestações clínicas típicas

da infecção pelo ZIKA durante a gestação, e que residiam ou viajavam para regiões de circulação do vírus²⁰. Do mesmo modo como outros estudos com testes em camundongos, identificaram o tropismo do vírus pelas células sistema nervoso central, ao sequestrar proteínas celulares para sua replicação viral, estando estas proteínas relacionadas à formação e decomposição dos centrômeros celulares, cuja sua escassez corrobora para as alterações cerebrais da microcefalia^{21,22}.

Todavia, a restrição geografia, a intensidade e gravidade dos casos de microcefalia relacionadas à infecção pelo ZIKA que assolaram o Nordeste brasileiro em 2015, fizeram alçar hipóteses de que outros fatores, além da infecção congênita por este vírus, poderiam ter contribuído para a epidemia²³. Assim, dados sociais obtidos demonstraram que a maior parte das mulheres, mães de filhos com microcefalia, eram jovens, solteiras, negras, residentes em pequenas cidades ou na periferia de grandes cidades e com baixas taxas de vacinação contra febre amarela. Isso sugere a associação de outros fatores biológicos, ambientais e econômicos para o surgimento da microcefalia. Além disso, a presença de limitações nos dados obtidos pelo estudo de caso controle elaborado pelo MS, como a subnotificação de casos anteriores a epidemia, o viés de memória e baixa sensibilidade e especificidades dos testes Elisa IgM para o ZIKA, reforçam a possibilidade da existência outros fatores envolvidos²⁰.

Após a comprovação da relação de ZIKA vírus com os casos de microcefalia, notou-se que nem sempre a infecção da gestante levava ao desfecho clínico de microcefalia. Sabe-se hoje a SCZ não ocorre em todos os embriões expostos a infecção, mas sim em menos de 3% deles²⁴. Devido a essa diferença, outras variáveis ambientais e genéticas foram investigadas para entender fatores que estejam associados a maior susceptibilidade a desenvolver a SCZ, principalmente sobre a microcefalia, como também fatores protetivos.

Nesse estudo, procuramos os artigos que investigaram os fatores ambientais e genéticos que favoreceram o aparecimento da microcefalia em bebês de gestantes infectadas por ZIKA vírus.

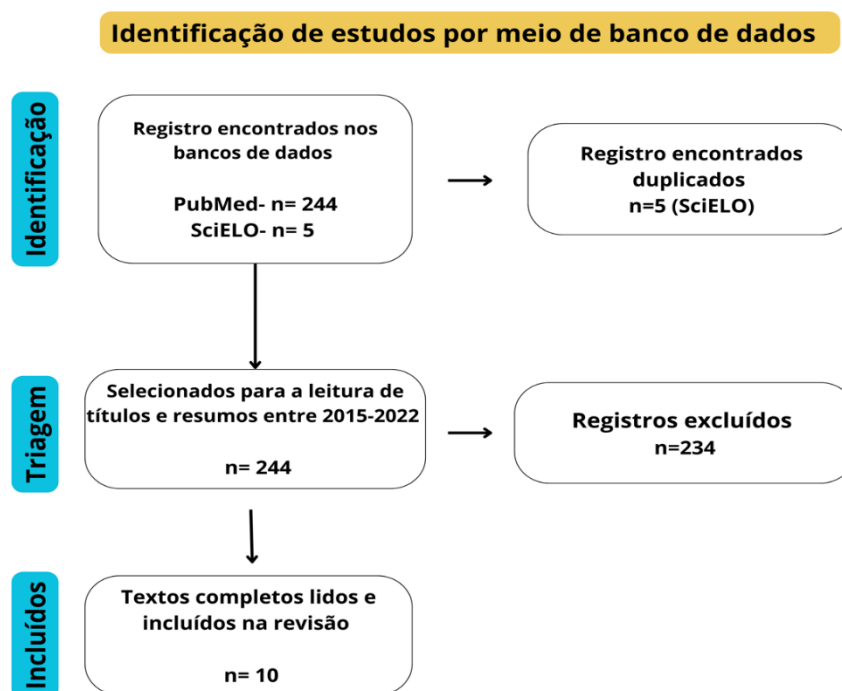
MÉTODO

Para essa revisão integrativa, realizou-se busca em sites de revistas indexadas como "Scielo" e "PubMed" considerando os descritores do DeCs (descritores em Ciências da Saúde) para encontrar outros fatores que pudessem estar associados com a microcefalia e a infecção de ZIKA vírus durante os anos de 2015 até 2021.

Os descritores foram: *(ZIKA virus) AND (microcephaly) AND (co-infection)*; *(ZIKA virus) AND (microcephaly) AND (cyanobacteria)*; *(ZIKA virus) AND (microcephaly) AND (viral vaccine) AND (pregnancy)*; *(ZIKA virus) AND (microcephaly) AND (genetic polymorphism)*; *(ZIKA virus) AND (microcephaly) AND (nutrition)*.

Os artigos encontrados em cada um dos descritores tiveram como critério de inclusão serem estudos feitos entre os anos de 2015-2022. Excluiu-se os artigos que apesar de serem encontrados, não relatavam no título e/ou no resumo assunto relacionados a fatores que pudessem estar associados ao desenvolvimento da microcefalia; e artigos de países da África, da Europa, América do Norte e outros da América Latina (Figura 1).

Figura 1. Fluxograma baseado no PRISMA para revisão integrativa.



RESULTADOS

Como resultado da busca por cofatores associados com o desenvolvimento de microcefalia em bebês de gestantes infectadas com microcefalia, foram encontrados 244 artigos

utilizando os descritores nas plataformas de busca PubMed e SciELO. No banco de dados da SciELO, encontrou-se somente cinco artigos, sendo esses repeditos na plataforma PubMed. Dos 244 artigos, após a leitura de título e resumo e critérios de exclusão, foram selecionados somente 10 para leitura completa e utilização²⁵⁻³⁴.

Os artigos selecionados são dos anos de 2016 até 2021 e foram publicados em jornais internacionais sendo: um no *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*; um no *Plos One*; um no *Rev Med Virology*; dois no *PLOS Neglected Tropical Diseases*; um no *J Infect Dev Ctries*; um no *The Lancet*; um no *Plos Pathology*; um no *Viruses* e um no *J Infect Disease*.

Cada artigo encontrado com o seu descritor específico utilizado para encontrá-lo está apresentado no Tabela 1.

Os resultados dessa pesquisa foram divididos em duas tabelas, sendo a Tabela 2, as análises do conteúdo de cada artigo.

Com base nos levantamentos realizados a partir do estudo, os conteúdos das pesquisas encontradas referiam-se sobre microcefalia causada em bebês de gestantes infectadas por ZIKA vírus e outros fatores associados conforme foi resumido e explicado na Tabela 2.

DISCUSSÃO

A microcefalia neonatal e outras anormalidades do Sistema Nervoso Central (SNC) foram implementadas como notificação obrigatória no Brasil em 2015, pelo MS¹⁶.

Tabela 1. Artigos selecionados em separado por cada descritor.

Descritor	Número de artigos	Título dos artigos selecionados
(ZIKA virus) AND (microcephaly) AND (co-infection)	117	1. Co-circulation of Chikungunya Virus during the 2015-2017 Zika Virus Outbreak in Pernambuco, Brazil: An Analysis of the Microcephaly Epidemic Research Group Pregnancy Cohort ²⁵ . 2. Zika might not be acting alone: Using an ecological study approach to investigate potential co-acting risk factors for an unusual pattern of microcephaly in Brazil ²⁶ . 3. Emerging arboviruses in Rio Grande do Sul, Brazil: Chikungunya and Zika outbreaks, 2014-2016 ²⁷ . 4. Congenital abnormalities associated with Zika virus infection-Dengue as potential co-factor? A systematic review ²⁸ .
(ZIKA virus) AND (microcephaly) AND (cyanobacteria)	2	5. The cyanobacterial saxitoxin exacerbates neural cell death and brain malformations induced by Zika virus ²⁹ .
(ZIKA virus) AND (microcephaly) AND (viral vaccine) AND (pregnancy)	100	6. Zika virus infection, associated microcephaly, and low yellow fever vaccination coverage in Brazil: is there any causal link? ³⁰ 7. Association between microcephaly, Zika virus infection, and other risk factors in Brazil: final report of a case-control study ³¹
(ZIKA virus) AND (microcephaly) AND (genetic polymorphism)	3	8. Association between Genetic Variants in NOS2 and TNF Genes with Congenital Zika Syndrome and Severe Microcephaly ³² . 9. Association Between Zika Virus Microcephaly in Newborns With the rs3775291 Variant in Toll-Like Receptor 3 and rs1799964 Variant at Tumor Necrosis Factor- α Gene ³³ .
(ZIKA virus) AND (microcephaly) AND (nutrition)	22	10. Preventive effects of folic acid on Zika virus-associated poor pregnancy outcomes in immunocompromised mice ³⁴ .

Já em 2016, a infecção pelo Zika vírus associada à microcefalia na América Latina foi declarada como emergência de saúde pública de interesse internacional pela Organização Mundial da Saúde (OMS)¹⁷.

A gravidade do cenário foi constatada por dados, uma vez que antes de 2015, a prevalência de microcefalia grave ao nascer no Brasil era de 0,5 por 10.000 nascidos vivos³⁵. Posterior à identificação da possível associação entre a infecção e a microcefalia, em especial no Nordeste, essa prevalência subiu para cerca de 20 casos por 10.000 nascidos vivos³⁶.

Tabela 2. Resumo com as informações pertinentes sobre os artigos encontrados na busca para a revisão.

Ref.	Objetivo dos autores	O que foi observado	Considerações finais
25	Pesquisar a co-circulação dos vírus de Chikungunya (CHIKV) e Zika (ZIKV) comparando geograficamente e temporal (2015-2017) a circulação dos vírus e ainda comparar os sintomas das infecções isoladas ou combinadas em gestantes nesse período.	Foi observado a co-circulação de CHIKV e ZIKV em Recife durante dezembro de 2015 e maio de 2016 e com menor circulação entre Junho de 2016 até Agosto. Das 707 gestantes com <i>rash</i> (critério de inclusão do estudo) recrutadas, 694 participaram do estudo. Somente 58 participantes foram identificados com ambas as infecções sequenciais. Dentre os sintomas mais graves e em maior quantidade foram nas participantes infectadas com CHIKV somente ou com ambas as infecções.	Apesar do estudo mostrar a circulação e a presença de ambas as infecções virais nas gestantes, o estudo não relatou a associação da coinfeção com o aparecimento de microcefalia dos bebês das mães co-infectadas.
26	Investigação sobre dados epidemiológicos sobre a co-distribuição de arbovirose, condições ambientais e fatores socioeconômicos em diferentes regiões do Brasil utilizando diferentes bancos de dados do Ministério da Saúde Brasileiro.	Com as análises pode-se observar que o número de arboviroses transmitida pelo mosquito Aedes foram distribuídos entre dengue e ZIKA por todo o país, mas com alta concentração na região Centro-Oeste. Chikungunya teve alta distribuição no Nordeste. Análise sobre os fatores socioeconômicos e de gerenciamento ambiental apontaram que a região Nordeste é a mais pobre nesse sentido.	Considerando que a microcefalia atingiu a região Nordeste com maior prevalência que as demais regiões, mas que os arbovírus e o mosquito Aedes estava distribuído de forma homogênea no país com concentração não somente na região nordeste. O estudo aponta que não é somente a infecção por ZIKA responsável pela microcefalia, mas que acentuada pobreza e infecção prévia ou coinfeção estejam associados, sendo necessário estudos mais robustos com grandes coortes para comprovação de resultados.
27	O estudo descreveu casos de infecção por CHIKV e ZIKV durante os anos de 2014 e 2016 no Rio Grande do Sul, na tentativa de entender como esses vírus se espalham na região e ainda colaborar para o controle e prevenção da doença.	Durante o período houve co-circulação de ambos foram encontrados 101 casos de infecção de CHIKV e 88 casos de ZIKV e não foram investigados casos de coinfeção. No estudo eles mostraram que dos 189 bebês investigados com microcefalia, somente 3 casos foram devido a infecção por ZIKV.	
28	Relação da infecção prévia pelo vírus da dengue afetando o ZIKA vírus e suas complicações	Correlacionar as interações imunológicas do ZIKV e do vírus da dengue e seu potencial teratogênico. Dos estudos analisados, somente um mostrou que a coinfeção altera agravaria os casos de infecção com ZIKV desenvolvendo microcefalia. Os outros estudos, mostraram efeito protetivo da infecção prévia por DENV.	Conclui-se que a associação do ZIKV com a infecção prévia de dengue é fator protetor para microcefalia.
29	Relacionar a microcefalia do ZIKA vírus com a elevada incidência de cianobactérias e suas toxinas nas regiões do Brasil.	A ingestão crônica de água contaminada com neurotoxinas associada a infecção pelo ZIKA vírus em camundongos prenhas leva a desfecho semelhante a microcefalia.	Conclui-se que a falta de saneamento básico aumenta a proliferação das cianobactérias que leva ao aumento das toxinas na água. Essa toxina presentes na região Nordeste do Brasil contribuem para que a infecção de ZIKA vírus em mulheres gestante desencadeie microcefalia em bebês.
30	Analisar a possível associação da vacina para febre amarela como efeito protetivo do desenvolvimento de microcefalia relacionado a infecção materna por ZIKV.	Os pesquisadores encontraram uma associação entre 7 locais onde havia significantes casos de microcefalia relacionados com infecção por ZIKV e baixa taxa de vacinação para febre amarela.	Apesar da associação demonstrar uma associação entre a baixa vacinação e o agravamento da infecção por ZIKV em gestantes, os pesquisadores concluem que há necessidade de um estudo sistemático nesse sentido para que haja melhor compreensão e a vacinação para a febre amarela seja considerado um fator protetivo para as gestantes infectadas.
31	Realizar um estudo de caso-controle que possa mostrar como o uso de larvicida e da vacina dTpa pode estar relacionada com casos de microcefalia após infecção por ZIKV.	Foi feita uma análise prospectiva com recrutamento de 91 casos de infecção e 173 casos controle. Mostrou-se que a microcefalia estava relacionada com a infecção e que não houve fator potencial com relação ao uso de larvicida e vacinação de gestantes com dTpa.	Ausência de co-associação da exposição ao piriproxifeno e vacinas durante a gravidez e aumento de casos de microcefalia em gestantes infectadas com ZIKV.
32	Analisar a existência de polimorfismo de único nucleotídeo (SNP) nos genes CD209, TNFα, CXCL8, IL-6, CCL-2, TLR3, TLR4, MICB de mãe com filhos com microcefalia para associar com a pré-disposição genética a desenvolver SCZ com microcefalia.	15 mulheres que deram a luz a bebês com microcefalia e apresentavam IgG para ZIKA vírus foram avaliadas para a presença de SNP em genes do sistema imunológico. Observou-se que SNP rs3775291 no TLR3 está associada com a ocorrência de SCZ e a SNP rs1799964 no gene TNFα está associado com os casos severos de microcefalia.	Sugerem que variações nos genes TLR3 e TNFα das gestantes infectadas por ZIKA, influenciam no risco e severidade de ocorrência de SCZ e microcefalia, sendo essas SNP candidatas a futuros estudos.

Tabela 2 (cont.). Resumo com as informações pertinentes sobre os artigos encontrados na busca para a revisão.

Ref.	Objetivo dos autores	O que foi observado	Considerações finais
33	Acessar variáveis do ambiente como sociodemográfico, características clínicas e variações genéticas envolvidas no processo inflamatório de fatores risco ou protetivos para SCZ causada pelo vírus ZIKA.	Obteve-se o DNA de 40 crianças com SCZ e de 48 crianças expostas à infecção pelo ZIKA vírus, mas que não tiveram anomalias congênitas. Nas crianças acometidas, foram encontradas alterações nos alelos rs2297518[A] de NOS2; do alelo T e os genótipos TT/CT do gene TNF rs1799724; e ainda dos haplotonos associados com a expressão de TNF.	Os resultados mostram que os polimorfismos dos genes NOS2 e TNF aumentam o risco de desenvolver SCZ e microcefalia. Mostra-se também maior risco a SCZ quando a mãe é infectada durante o primeiro trimestre.
34	Entender se a suplementação nutricional de gestantes com ácido fólico reduz casos de microcefalia nos bebês quando elas são infectadas com ZIKV.	Utilizando modelos de cultura celular (células de barreira placentária e células endoteliais) e camundongos, foi observado que o tratamento com ácido fólico está associado com a redução da infecção pela via Fra-AMPK, diminuição da carga viral, redução da resposta inflamatória, diminuindo a infecção pelo vírus e suas repostas no sistema nervoso.	Pelos resultados encontrados, os autores salientam ainda mais a importância em suplementar gestantes com ácido fólico principalmente em regiões com alto índice de circulação do ZIKV.

Muito já se discute sobre a forma com que a infecção pelo ZIKV resulta em danos neurológicos, sobretudo a microcefalia. Entretanto, há também investigações sobre quais cofatores têm sido associados à potencialização desses efeitos neurais, já que a microcefalia acontece somente em aproximadamente 3% dos casos das gestantes infectadas²⁴ e ainda foi encontrada como discordante em gestantes de gêmeos, onde um dos bebês desenvolveu a SCZ e outro não^{27,28} apontando para possíveis outros fatores associados^{37,38}.

Uma das primeiras hipóteses que surgiu é que havia um sinergismo tóxico entre a arbovirose e a infecção pelas cianobactérias, também conhecidas como “algas azuis” ou cianofíceas. Tal associação tem por fundamento a correlação entre o maior período de seca no Nordeste brasileiro, entre os anos de 2012 e 2016, e a maior incidência de microcefalia associada ao ZIKV nesse mesmo local e período²⁹. Os

períodos de seca severa favorecem a proliferação de cianobactérias, devido à redução dos reservatórios a volumes críticos, e essas cianobactérias liberam neurotoxinas, responsáveis pela morte de células progenitoras neurais, o que intensifica os efeitos deletérios ao sistema nervoso causados pelo vírus. A espécie de cianobactéria mais encontrada no território brasileiro, na região nordeste é a *Raphidiopsis raciborskii*³⁹. Essa, por sua vez, secreta a neurotoxina saxitoxina (STX), um dos mais potentes PST (sigla do inglês *paralytic shellfish toxin*), composto que contamina mariscos por bioacumulação, o qual trata-se de um alcaloide neurotóxico, hidrossolúvel, que perpassa sistemas de tratamento de água, podendo causar outros efeitos também, como desordens intestinais, disfunções do fígado e neuromusculares, reações alérgicas, câncer e até mesmo levar à morte^{40,41}. O contato humano com essas substâncias se dá por conta da proliferação das bactérias devido ao descarte inadequado de esgoto e lixo doméstico, levando à contaminação de água doce e de reservatórios para abastecimento humano. A hipótese foi comprovada por um estudo onde a presença da citocina STX dobrou a quantidade de morte de células neurais induzida pelo ZIKV em células neuroprogenitoras de organoides do cérebro humano, além disso, a ingestão crônica de água contaminada com STX antes e durante a gestação causou anormalidades cerebrais na prole do imunocompetente C57BL/6J infectado pelo ZIKV²⁹.

Nesse sentido, pode-se confirmar que a Síndrome

Congênita do Zika (SCZ) tem associação cianobactérias, já que esse sinergismo aumenta a morte celular e malformações graves, com exacerbação das consequências neurológicas da infecção viral congênita.

Ainda entre os cofatores, o piriproxifeno, um larvicida para controle de epidemias de Dengue, Chikungunya e ZIKA vírus também foi considerado. Trata-se de um composto à base de piridina, classificado como um análogo do hormônio juvenil que regula uma ampla gama de processos no desenvolvimento do mosquito, inclusive para o *Aedes aegypti*⁴².

No Brasil em 2015, municípios que faziam uso de piriproxifeno tinham 69 com microcefalia por 10.000 nascidos vivos uma taxa alta quando comparada com municípios que utilizaram o larvicida Bti (*Bacillus thuringiensis israelensis*), onde havia 82 casos de microcefalia por 10 mil nascidos vivos⁴³. Isso fez acender um alerta sobre alguma associação com a infecção, agravando os sintomas em municípios onde houve com a identificação do Zika vírus e uso de piriproxifeno e o aumento da ocorrência de microcefalia.

Estudos utilizando camundongos mostram que a ingestão de piriproxifeno na água por mulheres gestantes, isoladamente, não causa microcefalia⁴⁴. Além disso, foram publicados trabalhos onde não existe associação do agravamento de microcefalia do uso desse larvicida com a infecção por ZIKV. Uma abordagem ecológica demonstrou que não há correlação de piriproxifeno nos municípios e a

epidemia de microcefalia⁴³, outro estudo realizando monitoramento de gestantes na maternidade do hospital público em Recife, mostrou que o uso de larvicida não tem associação com os casos de gravidade de infecção por ZIKV e microcefalia³¹.

Ao buscar relações causais entre a infecção pelo ZIKV e complicações neurológicas graves, a coinfeção com o vírus da Dengue também foi sugerida como cofator. Um estudo analisou a existência de interações imunológicas entre o ZIKV e infecções anteriores pelo vírus da Dengue, tanto devido à estreita relação filogenética entre DENV e ZIKV, quanto pelo fato de que doença grave por ZIKV ser frequente naqueles com infecções prévias por DENV. A associação baseia-se no mecanismo patológico da intensificação ou aprimoramento dependente de anticorpos (ADE, sigla do inglês *antibody-dependent enhancement*), que teria como resultado um potencial efeito teratogênico para o feto. Tal mecanismo é decorrente da falha na ligação do vírus a anticorpos, que não impede a entrada viral nas células hospedeiras, pelo contrário, aumenta sua capacidade de entrada, promovendo replicação e agravando a doença⁴⁵.

Desde 2015 foram mostrados diversos estudos utilizando métodos *in vitro*, *in vivo*, casos controles e monitoramento em mulheres gestantes em vários locais do Brasil, como Bahia, Rio de Janeiro, Recife, e a relação entre o sistema imunológico, se a infecção prévia por Dengue agravaria ou não os casos de ZIKV⁴⁶. Analisando todos os trabalhos apresentados a infecção prévia por DENV

relacionada ao aumento da infecção por ZIKV e neurovirulência, foi constatada apenas em um único estudo *in vitro*³⁹. Outros estudos *in vivo* exibiram um quadro heterogêneo, de resultados mistos, sendo que três deles mostraram efeito protetor de infecções prévias por DENV e os demais, nenhum efeito. Se presente, essa associação é tempo-dependente, com uma janela de proteção cruzada e subsequente aumento do risco de intensificação, dependendo do intervalo de tempo e dos níveis de anticorpos para o vírus da Dengue. Portanto, pela ausência de comprovações diretas, ainda não se assume como um cofator⁴⁷. Outras investigações também foram feitas sobre a existência de coinfeção com outros arbovírus como Chikungunya (CHIKV) e no agravamento da infecção por ZIKV e a microcefalia. Nesse sentido dois estudos encontraram co-circulação de CHIKV e ZIKV tanto na região nordeste e na região sul, em Recife e Rio Grande do Sul respectivamente, com algumas gestantes co-infectadas e também com bebês portadores de microcefalia devido a infecção por ZIKV. Porém, nenhum dos estudos associou ou comprovou que a coinfeção de ZIKV com outras arboviroses é um fator para o desfecho de microcefalia^{25,27}.

Na época, suspeitava-se também que os casos de microcefalia estavam agravados pela administração de vacinas dTpa. O efeito da administração de vacinas durante a gestação foi questionado, em especial a dTpa (tríplice bacteriana acelular do tipo adulto) contra tétano, difteria e coqueluche. A recomendação das Sociedades Brasileiras de

Imunização e de Ginecologia e Obstetrícia é que a gestante seja vacinada a partir da 20ª semana de gestação. Caso não tenha histórico de vacinação prévia com dT (dupla adulto), fazer duas doses de dT, sendo uma no início da gestação e outras quatro semanas após a primeira dose. A terceira dose deverá ser feita após a 20ª semana com a dTpa⁴⁸. Por conta dos casos de microcefalia devida à infecção por ZIKV terem aumentado por coincidência com o início do programa materno de dTpa no Brasil, essa associação também foi levanta. Entretanto, segundo estudo de coorte retrospectivo, a dTpa materna não está significativamente associada ao aumento do risco de microcefalia para vacinações ocorrendo em qualquer semana de gravidez, confirmando a segurança de sua administração⁴⁹. Além da vacina de dTpa, também surgiu a suspeita de que a baixa vacinação para febre amarela poderia estar associado com os sintomas de microcefalia. Um estudo identificou por análise espacial de diferentes municípios, que sete locais tinham baixa de vacinação para a febre amarela com alta associação de casos de microcefalia, sendo quatro deles na região do nordeste brasileiro, porém, nenhuma conclusão sobre essa associação como fator de agravamento foi identificada³⁰.

Em relação aos fatores genéticos, suspeitou-se principalmente por conta de casos de microcefalia em bebês gêmeos dizigóticos, onde um apresentava o fenótipo e outro não^{27,28}. Análises de variantes genéticas funcionais em VEGFA, PTGS2, NOS3, TNF e NOS2, genes relacionados à resposta imune e inflamatória, foram encontradas diferentes

frequências alélicas, genotípicas e haplotípicas entre crianças com e sem Síndrome Congênita associada à infecção pelo ZIKV.

No gene NOS2, foi encontrado uma maior prevalência do alelo rs2297518 em crianças com SCZ, portanto, esse alelo está associado a um risco aumentado para SCZ. O gene NOS2 rs2297518 é um gene funcional polimórfico que afeta a atividade da proteína iNOS, aumentando a atividade da proteína e provocando maior produção de óxido nítrico. Essa desregulação dos genes NOS está envolvida na progressão de muitos distúrbios do neurodesenvolvimento, neurocomportamentais e neurodegenerativas. Desse modo, a desregulação dos genes NOS durante a infecção pelo ZIKV, causada tanto pela resposta do hospedeiro ao vírus e pelo genótipo do indivíduo, pode afetar o processo de desenvolvimento, causando uma anomalia congênita³².

Em estudo com gêmeos dizigóticos, a infecção pelo ZIKV gerou uma regulação negativa significativa de genes para a adesão do trofoblasto e da ativação da resposta imune, somente no trofoblasto de gêmeos acometidos pela SCZ. Um grupo de 64 genes foram expressos diferentes, quando foi analisada as diferenças entre as expressões gênicas desses gêmeos. Dentre esses genes, temos incluso o FOXG1 e LHX2, que são fatores de transcrição para o desenvolvimento neural, tendo sido regulados negativamente em gêmeos afetados por SCZ em comparação com gêmeos não afetados⁵⁰.

Além dos estudos realizados com gêmeos dizigóticos,

um estudo comparativo entre mães que deram à luz a bebês com SCZ com mães que deram à luz a bebês saudáveis, mesmo ambas com a exposição e infecção com ZIKV, foram encontrados a associação entre um polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) no gene da proteína *Toll-like receptor 3* (TLR3) e a microcefalia causada pelo ZIKV, o que pode afetar a função de sinalização do TLR3 em cerca de 50%, desse modo, é afetada a via de sinalização para a produção de Interferons tipo 1 (IFN1) e respostas pró-inflamatórias que têm efeitos antivirais³³. Além disso, os IFN1 têm ação na melhora da função da barreira hematoencefálica dos bebês. Portanto, o mal controle da infecção em mães e a carga viral elevada em seus bebês estão associados com danos ao sistema nervoso central dos bebês⁵¹.

Além dos já citados anteriormente, com relação a nutrição das mães serem um dos gatilhos que possam estar associados com a microcefalia, foi encontrado usando modelos de camundongos e em linhagem de células da placenta e do trofoblasto, que a suplementação de ácido fólico promove a inibição da replicação viral o qual age inibindo a entrada do vírus e ainda diminuição significativa dos casos de microcefalia³⁴.

Por fim, é notório que a etiologia da microcefalia relacionada ao ZIKV é complexa e pode ser afetada por múltiplos fatores, mas principalmente genéticos. Indagamos também se existem correlações com radiação, desnutrição grave durante a vida fetal, certos distúrbios metabólicos e

até mesmo infecção no útero, como toxoplasmose, rubéola, herpes, sífilis, citomegalovírus e HIV na nossa população, porém artigos que relacionem tais fatores não foram encontrados.

CONCLUSÃO

Apesar de sabermos que o ZIKV é capaz de desregular o processo de neurogênese em bebês de gestantes infectadas pelo vírus, conclui-se que esse não é o único fator associado com o desencadeamento de microcefalia. Fatores ambientais, como a produção da saxitoxina por algas na água de abastecimento; falta de vacinação para outras doenças infecciosas como a febre amarela; fatores genéticos intrínsecos do indivíduo ligados ao funcionamento do sistema imunológico e movimentação celular, mostraram serem outros fatores relacionados com a infecção de gestantes por ZIKV que comprometem o desenvolvimento embrionário de forma correta.

Com relação a coinfeção por outras arboviroses, estudos mostram a co-circulação viral em diferentes partes do país, porém nenhum deles foi conclusivo sobre o agravamento e desenvolvimento da microcefalia estar associado com essa questão. Para evitar a microcefalia, há indicações do uso de ácido fólico e também vacinação para febre amarela em gestantes infectadas.

Além disso, precisa-se de estudos que ampliem o entendimento e a busca por cofatores relacionados com o desenvolvimento da doença em gestantes, já que aspectos

socioeconômicos mostrou ser um fator importante. Portanto, faz-se necessário entendimento sobre coinfeção por DST (doenças sexualmente transmissíveis), subnutrição, falta de saneamento, exposição a poluentes entre outros para melhor entender esse cenário.

REFERÊNCIAS

1. Dick GW, Kitchen S, Haddow A. Zika Virus (I). Isolations and serological specificity. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1952;46:509-20. [https://doi.org/10.1016/0035-9203\(52\)90042-4](https://doi.org/10.1016/0035-9203(52)90042-4)
2. Chouin-Carneiro T, Vega-Rua A, Vazeille M, Yebakima A, Girod R, Goindin D, *et al.* Differential Susceptibilities of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from the Americas to Zika Virus. *PLoS Negl Trop Dis* 2016;10:e0004543. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004543>
3. Guedes DR, Paiva MH, Donato MM, Barbosa PP, Krokovsky L, Rocha SWS, *et al.* Zika virus replication in the mosquito *Culex quinquefasciatus* in Brazil. *Emerg Microbes Infect* 2017;6:1-11. <https://doi.org/10.1038/emi.2017.59>
4. Epelboin Y, Talaga S, Epelboin L, Dusfour I. Zika virus: An updated review of competent or naturally infected mosquitoes. *PLoS Negl Trop Dis* 2017;11:e0005933. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005933>
5. Basu R, Tumban E. Zika Virus on a Spreading Spree: what we now know that was unknown in the 1950's. *Virol J* 2016;13:165. <http://doi.org/10.1186/s12985-016-0623-2>
6. Foy BD, Kobylinski KC, Foy JLC, Blitvich BJ, Travassos da Rosa A, Haddow AD, *et al.* Probable Non-Vector-borne Transmission of Zika Virus, Colorado, USA. *Emerg Infect Dis* 2011;17:880-2. <http://doi.org/10.3201/eid1705.101939>
7. Pereira-Silva JW, Nascimento VA, Belchior HCM, Almeida JF, Pessoa FAC, Naveca FG, *et al.* First evidence of Zika virus venereal transmission in *Aedes aegypti* mosquitoes. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2017;113:56-61. <https://doi.org/10.1590/0074-02760170329>
8. Carlson CJ, Dougherty ER, Getz W. An Ecological Assessment of the Pandemic Threat of Zika Virus. *PLoS Negl Trop Dis* 2016;10:e0004968. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004968>
9. Noorbakhsh F, Abdolmohammadi K, Fatahi Y, Dalili H, Rasoolinejad M, Rezaei F, *et al.* Zika Virus Infection, Basic and Clinical Aspects: A Review Article. *Iran J Public Health* 2019;48:20-31. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30847308>
10. França GVA, Schuler-Faccini L, Oliveira WK, Henriques CMP, Carmo EH, Pedi VD, *et al.* Congenital Zika virus syndrome in Brazil: a case series of the first 1501 livebirths with complete investigation. *Lancet* 2016;388:891-7. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30902-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30902-3)

11. Adibi JJ, Marques ETA, Cartus A, Beigi RH. Teratogenic effects of the Zika virus and the role of the placenta. *Lancet* 2016;387:1587-90. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00650-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00650-4)
12. Miranda-Filho DB, Martelli CMT, Ximenes RAA, Araújo TVB, Rocha MAW, Ramos RCF, *et al.* Initial Description of the Presumed Congenital Zika Syndrome. *Am J Public Health* 2016;106:598-600. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2016.303115>
13. 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, 2013–15: a retrospective study. *Lancet* 2016;387:2125-32. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00651-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00651-6)
14. Teixeira MG, Conceição N, Costa M, Oliveira WK, Nunes ML, Rodrigues LC. The Epidemic of Zika Virus–Related Microcephaly in Brazil: Detection, Control, Etiology, and Future Scenarios. *Am J Public Health* 2016;106:601-5. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2016.303113>
15. Ministério da Saúde (BR). Situação epidemiológica de ocorrência de microcefalias no Brasil, 2015. *Bol Epidemiológico* 2015;46:1-3. https://repositorio.ipea.gov.br/bitstream/11058/8282/1/td_2368.pdf
16. Gulland A. Zika virus is a global public health emergency, declares WHO. *BMJ* 2016;352:i657. <https://doi.org/10.1136/bmj.i657>
17. Ministério da Saúde (BR). Microcefalia. 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/m/microcefalia>
18. Quintans MDS, Bueno AC, Cardoso CAA. Microcephaly caused by or associated with congenital infections in the last 20 years in Brazil: a systematic review. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2022;64:e7. <https://doi.org/10.1590/S1678-9946202264007>
19. Hanzlik E, Gigante J. Microcephaly. *Children* 2017;4:47. <https://doi.org/10.3390/children4060047>
20. Schuler-Faccini L, Ribeiro EM, Feitosa IML, Horovitz DDG, Cavalcanti DP, Pessoa A, *et al.* Possible Association Between Zika Virus Infection and Microcephaly - Brazil, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2016;65:59-62. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6503e2>
21. Cugola FR, Fernandes IR, Russo FB, Freitas BC, Dias JLM, Guimarães KP, *et al.* The Brazilian Zika virus strain causes birth defects in experimental models. *Nature* 2016;534:267-71. <https://doi.org/10.1038/nature18296>
22. Garcez PP, Nascimento JM, Vasconcelos JM, Madeiro da Costa R, Delvecchio R, Trindade P, *et al.* Zika virus disrupts molecular fingerprinting of human neurospheres. *Sci Rep* 2017;7:40780. <https://doi.org/10.1038/srep40780>
23. Butler D. Brazil asks whether Zika acts alone to cause birth defects. *Nature* 2016;535:475-6. <https://doi.org/10.1038/nature.2016.20309>
24. Coelho A, Crovella S. Microcephaly Prevalence in Infants Born to Zika Virus-Infected Women: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Int J Mol Sci* 2017;18:1714. <https://doi.org/10.3390/ijms18081714>
25. Lobkowicz L, Miranda-Filho DB, Montarroyos UR, Martelli CMT, Araújo TVB, Souza WV, *et al.* Co-circulation of Chikungunya Virus

- during the 2015–2017 Zika Virus Outbreak in Pernambuco, Brazil: An Analysis of the Microcephaly Epidemic Research Group Pregnancy Cohort. *Am J Trop Med Hyg* 2022;106:1711-20. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.21-0449>
- 26.Campos MC, Dombrowski JG, Phelan J, Marinho CRF, Hibberd M, Clark TG, *et al.* Zika might not be acting alone: Using an ecological study approach to investigate potential co-acting risk factors for an unusual pattern of microcephaly in Brazil. *PLoS One* 2018;13:e0201452. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201452>
- 27.Gregianini TS, Ranieri T, Favreto C, Nunes ZMA, Tumieto Giannini GL, Sanberg ND, *et al.* Emerging arboviruses in Rio Grande do Sul, Brazil: Chikungunya and Zika outbreaks, 2014-2016. *Rev Med Virol* 2017;27:1-10. <https://doi.org/10.1002/rmv.1943>
- 28.Petzold S, Agbaria N, Deckert A, Dambach P, Winkler V, Drexler JF, *et al.* Congenital abnormalities associated with Zika virus infection–Dengue as potential co-factor? A systematic review. *PLoS Negl Trop Dis* 2021;15:e0008984. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008984>
- 29.Pedrosa CSG, Souza LRQ, Gomes TA, Lima CVF, Ledur PF, Karmirian K, *et al.* The cyanobacterial saxitoxin exacerbates neural cell death and brain malformations induced by Zika virus. *PLoS Negl Trop Dis* 2020;14:e0008060. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008060>
- 30.De Góes Cavalcanti LP, Tauil PL, Alencar CH, Oliveira W, Teixeira MM, Heukelbach J. Zika virus infection, associated microcephaly, and low yellow fever vaccination coverage in Brazil: is there any causal link? *J Infect Dev Ctries* 2016;10:563-6. <https://doi.org/10.3855/jidc.8575>
- 31.de Araújo TVB, Ximenes RAA, Miranda-Filho DB, Souza WV, Montarroyos UR, Melo APL, *et al.* Association between microcephaly, Zika virus infection, and other risk factors in Brazil: final report of a case-control study. *Lancet Infect Dis* 2018;18:328-36. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30727-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30727-2)
- 32.Gomes JA, Sgarioni E, Boquett JA, Terças-Trettel ACP, Silva JH, Ribeiro BFR, *et al.* Association between Genetic Variants in NOS2 and TNF Genes with Congenital Zika Syndrome and Severe Microcephaly. *Viruses* 2021;13:325. <https://doi.org/10.3390/v13020325>
- 33.Santos CNO, Ribeiro DR, Cardoso Alves J, Cazzaniga RA, Magalhães LS, Souza MSF, *et al.* Association Between Zika Virus Microcephaly in Newborns With the rs3775291 Variant in Toll-Like Receptor 3 and rs1799964 Variant at Tumor Necrosis Factor- α Gene. *J Infect Dis* 2019;220:1797-801. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz392>
- 34.Simanjuntak Y, Ko H-Y, Lee Y-L, Yu G-Y, Lin Y-L. Preventive effects of folic acid on Zika virus-associated poor pregnancy outcomes in immunocompromised mice. *PLOS Pathog* 2020;16:e1008521. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008521>
- 35.Yadav S, Rawal G, Baxi M. Zika virus: A pandemic in progress. *J Transl Intern Med* 2016;4:42-5. <https://doi.org/10.1515/jtim-2016-0009>

36. Kleber de Oliveira W, Cortez-Escalante J, Oliveira WTGH, Carmo GMI, Henriques CMP, Coelho GE, *et al.* Increase in Reported Prevalence of Microcephaly in Infants Born to Women Living in Areas with Confirmed Zika Virus Transmission During the First Trimester of Pregnancy - Brazil, 2015. *MMWR* 2016;65:242-7. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6509e2>
37. Linden V van der, Linden Junior H van der, Leal MC, Rolim Filho EL, Linden A van der, Aragão MFVV, *et al.* Discordant clinical outcomes of congenital Zika virus infection in twin pregnancies. *Arq Neuropsiquiatr* 2017;75:381-6. <https://doi.org/10.1590/0004-282X20170066>
38. Joob B, Wiwanitkit V. Congenital Zika virus infection in twin pregnancies. *Arq Neuropsiquiatr* 2017;75:762. <https://doi.org/10.1590/0004-282X2017011>
39. Cardoso AS, Marwell DTB, Sobral MCM, Melo GL, Casé MCC. Análise da presença do fitoplâncton em bacia integrante do Projeto de Integração do Rio São Francisco, região semiárida, Nordeste brasileiro. *Eng Sanit e Ambient* 2016;22:261-9. <https://doi.org/10.1590/S1413-41522016146707>
40. Sato S, Kodama M, Ogata T, Saitanu K, Furuya M, Hirayama K, *et al.* Saxitoxin as a toxic principle of a freshwater puffer, *Tetraodon fangi*, in Thailand. *Toxicon* 1997;35:137-40. [https://doi.org/10.1016/S0041-0101\(96\)00003-7](https://doi.org/10.1016/S0041-0101(96)00003-7)
41. Viana-Veronezi M, Giani A, Melo CS, Gome LL, Libânio M. Avaliação da remoção de saxitoxinas por meio de técnicas de tratamento das águas de abastecimento. *Eng Sanit Amb* 2009;14:193-204. <https://doi.org/10.1590/S1413-41522009000200007>
42. Sihuincha M, Zamora-Perea E, Orellana-Rios W, Stancil JD, López-Sifuentes V, Vidal-Oré C, *et al.* Potential Use of Pyriproxyfen for Control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Iquitos, Perú. *J Med Entomol* 2005;42:620-30. <https://doi.org/10.1093/jmedent/42.4.620>
43. Albuquerque MFPM, Souza WV, Mendes ACG, Lyra TM, Ximenes RA, Araújo TV, *et al.* Pyriproxyfen and the microcephaly epidemic in Brazil - an ecological approach to explore the hypothesis of their association. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2016;111:774-6. <https://doi.org/10.1590/0074-02760160291>
44. Vani JM, Carvalho Schweich-Adami L, Auharek SA, Antonioli-Silva ACMB, Oliveira RJ. Pyriproxyfen does not cause microcephaly or malformations in a preclinical mammalian model. *Environ Sci Pollut Res* 2021;28:4585-93. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-10517-5>
45. Tirado SMC, Yoon K-J. Antibody-Dependent Enhancement of Virus Infection and Disease. *Viral Immunol* 2003;16:69-86. <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2021-0264>
46. Metz SW, Thomas A, White L, Stoops M, Corten M, Hannemann H, *et al.* Dengue virus-like particles mimic the antigenic properties of the infectious dengue virus envelope. *Virol J* 2018;15:60. <https://doi.org/articles/10.1186/s12985-018-0970-2>
47. Oliver SL, Ribeiro H. Zika virus syndrome, lack of environmental policies and risks of worsening by cyanobacteria proliferation in a climate change scenario. *Rev Saude Publica* 2020;54:83.

<https://doi.org/10.11606/s1518-8787.2020054002159>

48.Ministério da Saúde (BR). Saiba quais vacinas devem ser administradas durante a gestação. 2022. <https://www.gov.br/pt-br/noticias/saude-e-vigilancia-sanitaria/2022/11/saiba-quais-vacinas-devem-ser-administradas-durante-a-gestacao>

49.DeSilva M, Vazquez-Benitez G, Nordin JD, Lipkind HS, Romitti PA, DeStefano F, *et al.* Tdap Vaccination During Pregnancy and Microcephaly and Other Structural Birth Defects in Offspring. JAMA 2016;316:1823. <http://doi.org/10.1001/jama.2016.14432>

50.Amaral MS, Goulart E, Caires-Júnior LC, Morales-Vicente DA, Soares-Schanoski A, Gomes RP, *et al.* Differential gene expression elicited by ZIKV infection in trophoblasts from congenital Zika syndrome discordant twins. PLoS Negl Trop Dis 2020;14:e0008424. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008424>

51.Oliveira DMS, Miranda-Filho DB, Ximenes RAA, Montarroyos UR, Martelli CMT, Brickley EB, *et al.* Comparison of Oropharyngeal Dysphagia in Brazilian Children with Prenatal Exposure to Zika Virus, With and Without Microcephaly. Dysphagia 2021;36:583-94. <https://doi.org/10.1007/s00455-020-10173-4>