UNIVERSIDADE
EDUARDO
MONDLANE

FACULDADE DE MEDICINA

MESTRADO EM SAÚDE PÚBLICA

INFECÇÃO PELO VÍRUS ZIKA EM PACIENTES COM FEBRE AGUDA DE ORIGEM DESCONHECIDA NO HOSPITAL GERAL DA POLANA CANIÇO, EM MAPUTO, 2016-2018.

Argentina Felisbela Muianga

Versão Final

Maputo, Março de 2025

UNIVERSIDADE
EDUARDO
MONDLANE

FACULDADE DE MEDICINA

MESTRADO EM SAÚDE PÚBLICA

INFECÇÃO PELO VÍRUS ZIKA EM PACIENTES COM FEBRE AGUDA DE ORIGEM DESCONHECIDA NO HOSPITAL GERAL DA POLANA CANIÇO, EM MAPUTO, 2016-2018.

Argentina Felisbela Muianga

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade Eduardo Mondlane, como parte dos requisitos para a obtenção do Grau de Mestre em Saúde Pública, com orientação à Planificação, Gestão e Informação de Saúde.

JURÍ:

Oponente: Prof. Doutor Mohsin Sidat, MD, PhD

Presidente: Dr. Alfeu Passanduca, MSc

Supervisor: Doutor Eduardo Samo Gudo, MD, PhD

Co-Supervisor: Doutor Osvaldo Frederico Inlamea, DVM, PhD

Co-Supervisor: Profa. Doutora Tufária Mussá, DVM, MSc, PhD

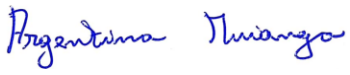
Co-Supervisor: Doutora Sádia Ali Pereira, MSc, PhD

Maputo, Março de 2025

Declaração de Originalidade do Trabalho

Declaro que esta dissertação nunca foi apresentada para a obtenção de qualquer grau ou num outro âmbito e que ela constitui o resultado do meu labor individual. Esta dissertação é apresentada em cumprimento parcial dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Saúde Pública da Universidade Eduardo Mondlane.

Maputo, Março de 2025



(Argentina Felisbela Muianga)

Agradecimentos

Primeiramente a Deus, pela vida e saúde, pelas oportunidades criadas e pelas pessoas que Ele colocou em minha vida.

Aos meus supervisores, Dr. Eduardo Samo Gudo, Dr. Osvaldo Inlamea, Dra. Tufária Mussá e Dra. Sádia Ali Pereira pela oportunidade, pela disponibilidade e acompanhamento pontual, pelos ensinamentos e paciência durante desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço a minha família, meu alicerce, ao meu esposo Eude Tsamba, a minha filha Diana Tsamba e ao meu filho Donovan Tsamba, pelo suporte, pelo incentivo nos momentos desafiadores, que pela sua presença tornaram-nos mais leves para mim, por compreenderem a minha ausência enquanto me dedicava a realização deste trabalho.

A gradeço aos meus pais Grabriel Muianga (*in memorian*) e Maria Argentina, pela vida e pelo amor incondicional, pelo sacrifício, por me terem feito crescer com educação e tornar-me na pessoa que sou hoje. Por estarem comigo em todos momentos difícies e felizes da minha vida.

Agradeço aos meus irmãos Carmen, Elísio, Parcídio, Nelson, Gabriel, Evangelina, Tânia, Dolácio, meus tios Maria Isabel e Mateus, minha caçula Bélia, meus sobrinhos Amakwé, Gabriel, Elisio, Igor, João Carlos, Princesa, Allan, Edwin, Kayanda, Flor, Alicia, Otto por fazerem parte da minha vida.

Agradeço ao corpo docente da faculdade de Medicina, em especial do Mestrado em Saúde Pública que durante a minha formação contribuíram para o meu desenvolvimento académico e técnico-científico.

Agradeço a todos os funcionários do Instituto Nacional de Saúde (Laboratório de Virologia, Laboratório de Serologia e CISPOC), em especial a Jorfélia Chilaúle, Dércio Chaúque, Marlene Djedje, Domingos Mulungo, Imelda Chelene, Mirela Pale e a todos que de forma directa ou indirecta contribuiram para a realização deste trabalho.

Agradeço ao grupo de doenças emergentes a Vanessa Monteiro, Onélia Guiliche, John Oludele, Inocêncio Chongo, Virgílio António, Plácida Maholela, Bibiana Melchior, Emidio Nhavoto, Paulo Notiço, Pedro Inguana, Gizela Rabanete, Jéssica Mandlaze, Rassula Dzimba.

Agradeço aos meus colegas do MSP 2017-2018.

Agradeço aos pacientes do Hospital Geral da Polana Caniço.

Agradeço a todos que não pude cá mencionar, que de forma directa ou indirecta contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

Dedicatória

Dedico este trabalho a minha família: ao meu esposo Eude Tsamba, meus filhos Diana Tsamba e Donovan Tsamba. Aos meus pais Grabriel Muianga (*in memorian*) e Maria Argentina.

Epígrafe

"Não há nada bom nem mau a não ser estas duas coisas:
a sabedoria que é um bem e a ignorância que
é um mal."

Platão

Índice

Declaração de Originalidade do Trabalho iii

Dedicatória vi

Epígrafe vii

Índice viii

Índice de Figuras xi

Índice de Tabelas xii

Abreviaturas xiii

Resumo 1

Abstract… 2

1. Contextualização 3

2. Motivação 5

3. Objectivos 6

3.1. Objectivo geral do estudo principal 6

3.2. Objectivo geral do estudo secundário 6

3.3. Objectivos específicos do estudo secundário 6

4. Problematização / Problema 7

5. Revisão bibliográfica 9

5.1. O vírus zika 9

5.2. Virologia e replicação do ZIKV 9

5.3. Transmissão do ZIKV 11

5.4. Epidemiologia do ZIKV 12

5.5. Manifestações Clínicas 15

5.6. Teste de Diagnóstico do ZIKV 16

6. Enquadramento conceptual 16

7. Material e Métodos 18
7.1. Resumo dos procedimentos do estudo principal 18
7.2. Tipo/ desenho do estudo 19
7.2.1. Local do estudo 19
7.2.2. Período do estudo 20
7.2.3. População do estudo 20
7.2.4. Modo de selecção dos participantes, amostra, amostragem 20
7.2.5. Critérios de inclusão 21
7.2.6. Critérios de exclusão 21
7.2.7. Procedimentos, técnicas e instrumentos de recolha de dados 22
7.2.8. Colheita e Transporte de Amostras 22
7.2.9. Testagem laboratorial 23
7.2.9.3. Outros Testes Laboratoriais 26
7.2.10. Variáveis 26
7.3. Plano de gestão e análise de dados 26
7.3.1. Bases de dados e variáveis 26
7.3.2. Procedimentos de análise de dados 27
8. Limitações 27
9. Considerações éticas 28
10. Potenciais riscos e como estes foram minimizados 28
11. Consentimento informado 28
12. Confidencialidade 28
13. Potenciais benefícios 29
14. Resultados 30
14.1. Análise descritiva do grupo de estudo 30

14.2. Ocorrência do vírus zika 31
14.2.1. Co-ocorrência do vírus zika, dengue e malária 32
15. Discussão 52
15.1. Positividade para o vírus zika em pacientes com febre atendidos no HGPC 52
15.2. Perfil clínico e sociodemográfico dos pacientes diagnosticados com vírus zika 54
15.3. Co-ocorrência do ZIKV, DENV e malária 55
16. Conclusões 59
17. Recomendações 60
17.1. Recomendações para Controlo e Prevenção 60
17.2. Recomendações para Pesquisa e Saúde Pública 61
17.3. Outras medidas 62
18. Referências 63
19. Anexos 74
Apêndices 78

Índice de Figuras

Figura 1- Representação esquemática da estrutura e genoma (A) e genoma (B) do vírus zika. .. 10
Figura 2- Mosquito Aedes aegypti e Aedes Albopictus responsáveis pela transmissão do ZIKV 11
Figura 3- Distribuicão geográfica e temporal do vírus ZIKV de 1947 até 2016 13
Figura 4- Distribuição do ZIKV 14
Figura 5- Sintomas clinicos da infecção pelo ZIKV..... 15
Figura 6- Enquadramento conceptual do zika 17
Figura 7- Localização geográfica dos bairros e do Hospital Geral da Polana Caniço..... 19
Figura 9- Proporção de casos por grupo etário 30
Figura 10-Caracteristicas clínicas dos pacientes do estudo 31
Figura 11- Fluxograma de testagem de amostras..... 31
Figura 12- Positividade por patógeno e coinfecções. 32
Figura 13- Analise de tendencias temporais da positividade. 33

Índice de Tabelas

Tabela 1- Conjunto de iniciadores e sondas usados na amplificação do RNS..... 25

Tabela 2- Associação entre variaveis demograficas e com a infecção pelo ZIKV 34

Tabela 3.a- Características clínicas do grupo com infecção pelo ZIKV 35

Tabela 3.b- Características clínicas do grupo com infecção pelo ZIKV (continuação)..... 36

Tabela 4- Análise no modelo de regressão logística 37

Tabela 5.a- Características sociodemográficas do grupo com infecção pelo DENV. 38

Tabela 5.b- Características sociodemográficas do grupo com infecção pelo DENV (continuação)..... 39

Tabela 6.a- Características clínicas do grupo com infecção pelo DENV 39

Tabela 6.b- Características clínicas do grupo com infecção pelo DENV (continuação) 40

Tabela 7- Factores de risco para Dengue 41

Tabela 8.a- Características sociodemográficas do grupo com coinfecção pelo vírus zika e dengue 42

Tabela 8.b- Características sociodemográficas do grupo com coinfecção pelo vírus zika e dengue (continuação)..... 43

Tabela 9.a- Características clínicas do grupo com coinfecção pelo vírus ZIKV e DENV 44

Tabela 9.b- Características clínicas do grupo com coinfecção pelo vírus ZIKV e DENV 45

Tabela 10- Factores de risco para Zika + Degue..... 46

Tabela 11.a- Características sociodemográficas do grupo com coinfecção pelo vírus ZIKV e malária..... 47

Tabela 11.b- Características sociodemográficas do grupo com coinfecção pelo vírus ZIKV e malária (continuação)..... 48

Tabela 12.a- Características clínicas do grupo com coinfecção pelo vírus ZIKV e malária 48

Tabela 12.b- Características clínicas do grupo com coinfecção pelo vírus ZIKV e malária (continuação)..... 49

Tabela 13- Factores de risco coinfecção ZIKV e Malária 50

Abreviaturas

ARBOMAP	*Arbovirus Maping* (Mapeamento de Arboviroses)
CDC -	*Centers for Desease Control and Prevention* (Centro de Controlo e Prevenção de Doenças)
CISPOC-	Centro de Investigação em Saúde da Polana Caniço
CHIKV -	Vírus Chikungunya
CIBS-INS -	Comité Institucional de Bioética para Saúde do Instituto Nacional de Saúde
DENV-	Vírus Dengue
EDTA-	Ácido etilenodiaminotetracético
ELISA-	*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ensaio de imunoabsorção enzimática)
HIV -	Vírus de Imunodeficiência Humana *(Human Immunodeficiency Virus)*
IgM	Imunoglobulinas M
INE -	Instituto Nacional de Estatística
INS -	Instituto Nacional de Saúde
MISAU -	Ministério da Saúde
OMS -	Organização Mundial da Saúde
RT-PCR -	*Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction* (Reação em Cadeia da Polimerase com Transcrição Reversa).
RNA -	*Ribonucleic Acid* (Àcido Ribonucleico)
ZIKV -	Vírus Zika
WHO -	*World Health Organization* (Organização Mundial da Saúde)

Resumo

Introdução: O vírus zika foi pela primeira vez isolado a partir do macaco Rhesus em 1947 em Uganda. Este, causa doença febril, acompanhada de outros sintomas, tais como cefaleia, exantema, mal-estar, edema e artralgia, por vezes intensas, que se fazem confundir com doenças endémicas tais como a malária, sarampo e rubéola. **Objectivos:** Este estudo teve como objectivo avaliar a ocorrência da infecção pelo vírus zika em pacientes com febre de origem desconhecida no Hospital Geral da Polana Caniço em Maputo, de Janeiro de 2016 à Dezembro de 2018. **Metodologia:** Trata-se de um estudo transversal, no qual foram incluídos um total de 877 indivíduos, com febre aguda e uma positividade de 20,4% para malária, sem outras causas identificáveis de febre. Foram colhidos 10mL de sangue total de cada individuo do estudo, dos quais, 5mL em tubo com anticoagulante K_3EDTA e os restantes 5mL em tubo seco. Na testagem laboratorial foi usada a técnica ELISA para a detecção qualitativa de anticorpos IgM anti-ZIKV, IgM anti-DENV e antígeno viral NS1 do DENV, e a técnica RT-PCR em tempo real para a detecção qualitativa de ácidos nucleicos virais. A análise de dados incluiu a estatística descritiva, análises uni e multivariadas realizadas usando o pacote estatístico IBM SPSS versão 26. **Resultados:** A maior parte dos indivíduos eram do sexo feminino (60.16% de 524/876) e do grupo etário dos 25<50 anos (46,1%). Foi observada uma positividade de 15,6% (133/852) [IC95% 13.2 -18.0)] para os anticorpos IgM anti-zika, 7% (58/877) [IC95% 4.6 – 9.4)] para os anticorpos IgM anti-dengue, 3,6% (32/877) [IC95% 2.7 – 4.5)] para o antígeno NS1 do vírus dengue. Para RT-PCR em tempo real, nenhuma amostra foi positiva para o ZIKV e 0.7% (2/288) [IC95% 0.3 – 1.3)] foi a frequência de amostras positivas para o DENV. Os casos de monoinfecções por zika, dengue e malária corresponderam a 7% (60/852) [IC95% 5.8 – 8.2)], 7% (61/877) [IC95% 5.8 – 8.2)] e a 12,2% (105/858) [IC95% 10.1 – 14.3)] respectivamente. Para as coinfecções foi identificada uma positividade correspondente a 2,1% (18/859) [IC95% 1.0– 3.2)] para ZIKV+DENV, 8%(65/812) [IC95% 6.3 – 9.7)] ZIKV+MAL, 2,3%(20/857) [IC95% 1.4– 3.2)] para DENV+MAL, 1,2%(10/867) [IC95% 0.3 – 2.1)] para ZIKV+DENV+MAL. **Conclusão:** Os resultados do estudo evidenciam a circulação activa não só do ZIKV, mas também do DENV no bairro da Polana caniço em Maputo em pacientes com síndrome febril. A circulação activa e silenciosa do ZIKV e DENV em Maputo, contribuem significativamente para a morbilidade na população estudada.

Palavras-chave: Síndrome febril, vírus zika, Moçambique

Abstract

Introduction: Zika virus was first isolated from a Rhesus monkey in 1947 in Uganda. It causes a febrile illness accompanied by other symptoms such as headache, rash, malaise, edema, and sometimes intense arthralgia, which can be mistaken for endemic diseases like malaria, measles, and rubella. **Objectives:** This study aimed to evaluate the occurrence of Zika virus infection in patients with fever of unknown origin at Polana Caniço General Hospital in Maputo, from January 2016 to December 2018. **Methodology:** This is a cross-sectional study, which included a total of 877 individuals with acute fever and a 20.4% positivity for malaria, with no other identifiable causes of fever. A total of 10mL of whole blood was collected from each study participant, with 5mL in a K3EDTA anticoagulant tube and the remaining 5mL in a dry tube. The ELISA technique was used for the qualitative detection of anti-ZIKV IgM antibodies, anti-DENV IgM antibodies, and the DENV NS1 viral antigen, and the real-time RT-PCR technique was used for the qualitative detection of viral nucleic acids. Data analysis included descriptive statistics, and univariate and multivariate analyses were performed using the IBM SPSS statistical package, version 26. **Results:** Most individuals were female (60.16% of 524/876) and from the 25<50-year-old age group (46.1%). A positivity rate of 15.6% (133/852) [95% CI 13.2-18.0)] was observed for anti-Zika IgM antibodies, 7% (58/877) [95% CI 4.6–9.4)] for anti-dengue IgM antibodies, and 3.6% (32/877) [95% CI 2.7–4.5)] for the dengue NS1 antigen. For real-time RT-PCR, no samples were positive for ZIKV, and 0.7% (2/288) [95% CI 0.3–1.3)] was the frequency of positive samples for DENV. The cases of monoinfections by Zika, dengue, and malaria corresponded to 7% (60/852) [95% CI 5.8–8.2)], 7% (61/877) [95% CI 5.8–8.2)], and 12.2% (105/858) [95% CI 10.1–14.3)] respectively. For coinfections, a positivity rate of 2.1% (18/859) [95% CI 1.0–3.2)] was identified for ZIKV+DENV, 8% (65/812) [95% CI 6.3–9.7)] for ZIKV+MAL, 2.3% (20/857) [95% CI 1.4–3.2)] for DENV+MAL, and 1.2% (10/867) [95% CI 0.3–2.1)] for ZIKV+DENV+MAL. **Conclusion:** The study results indicate the active circulation of not only ZIKV but also DENV in the Polana Caniço neighborhood in Maputo among patients with febrile syndrome. The active and silent circulation of ZIKV and DENV in Maputo contributes significantly to morbidity in the studied population.

Key words: febrile syndrome, zika virus, Mozambique

1. Contextualização

Moçambique possui um clima tropical húmido, caracterizado por elevados níveis de precipitação e temperaturas que favorecem o desenvolvimento do vector responsável pela transmissão do vírus Zika. Além disso, o país é frequentemente atingido por desastres naturais, como ciclones e inundações, que contribuem para o aumento de doenças infecciosas transmitidas por mosquitos, como a malária, que é endêmica em todo o território nacional (MISAU, 2010).

Os factores climáticos e ambientais propícios, exacerbados pelas mudanças climáticas, aliados a fatores socioeconômicos, como moradias inadequadas relacionadas à pobreza e à falta de acesso a meios de prevenção, também condicionam a ocorrência do vírus Zika e outras arboviroses comuns na região (Kisuya *et al.*, 2019). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), todo o continente africano corre o risco de enfrentar um surto de Zika. Neste contexto, é imperativo investigar a ocorrência do vírus Zika para fornecer ao Ministério da Saúde (MISAU) evidências científicas que fundamentem a formulação de políticas e acções integradas voltadas ao controlo e prevenção do Zika em Moçambique. Essas medidas incluem vigilância activa, controlo vectorial, educação da população e outras intervenções.

Nas últimas décadas, em Moçambique, têm se observado um rápido crescimento e expansão populacional, particularmente das zonas suburbanas onde a densidade populacional se mostra elevada (INE, 2017). O Censo populacional de 2017 demonstrou que cerca de 66,6% da população da cidade de Maputo residia nos subúrbios de Maputo (INE, 2017). No entanto, este rápido crescimento da zona suburbana não tem sido acompanhado por uma planificação urbanística adequada, sendo caracterizado na sua maioria por saneamento precário, sistemas de esgotos e abastecimento de deficientes, ausência de sistemas de drenagem adequados com consequente proliferação de áreas de imundície, acúmulo de lixo nas áreas residenciais. Este cenário tem propiciado a existência de criadouros de vectores responsáveis pela transmissão do vírus em áreas residenciais e de recreação, o que representa uma ameaça para a saúde das populações que vivem nestas áreas devido ao risco em que se encontram de exposição constante aos vectores responsáveis pela transmissão do vírus zika e outras arboviroses (WHO, 2022).

Estudos entomológicos realizados no país evidenciaram a presença de vectores responsáveis não só pela transmissão do ZIKV mas também de outras arboviroses, portanto, a probabilidade de ocorrência deste vírus torna-se alta em Moçambique, particularmente nas zonas peri-urbanas sendo

por isso importane a realização de pesquisas para avaliar o nível de ocorrência deste vírus, sua transmissão e os factores de risco envolvidos (Kampango and Abílio, 2016; Kampango *et al.*, 2018).

A malária, consiste em uma das maiores causas registadas de febre no país, contudo, estudos indicam que menos de 50% dos casos suspeitos de malária constituem casos confirmados, alguns dos casos suspeitos com resultados negativos são tratados como malária clínica e/ou sendo prescrito antibióticos ou antimaláricos sem necessidade (Hume *et al.*, 2008; Salomão *et al.*, 2015).

Com a informação sobre a ocorrência do vírus zika e outras arboviroses será fornecida evidência de que outros agentes para além do plasmódio estão por trás dos casos febris o que irá auxiliar na melhoria do manejo da febre e na redução do uso indiscriminado de antimaláricos e antibióticos com impacto na saúde pública e economia do país.

Para além da análise da presença do vírus Zika, é igualmente importante investigar o vírus da dengue, um flavivírus que ocorre no norte de Moçambique (Muianga *et al.*, 2017) que para além da similaridade estrutural de ambos, zika e dengue, estes compartilham os mesmos mecanismos de transmissão, o mesmo vector e apresenta sintomas semelhantes. Determinar a ocorrência de coinfecções por Zika, dengue e malária, que é endêmica no país, é crucial, pois essas coinfecções podem agravar os sintomas, complicar o diagnóstico e dificultar o tratamento. Portanto, a investigação das coinfecções é essencial para desenvolver uma resposta eficaz de saúde pública em Moçambique.

O presente estudo sobre a ocorrência do zika, consiste em uma análise secundária de dados, sendo que, o mesmo faz parte de um estudo principal (Aprovação ética: 220/CNBS/2021, IRB00002657) denominado “Investigação Epidemiológica, Imunológica e Entomológica de Arbovírus em 11 distritos de Moçambique”. Este estudo foi realizado com o objetivo de: i) determinar a frequência de arbovírus entre pacientes febris em 11 distritos de Moçambique, ii) avaliar o perfil da resposta imune contra CHIKV circulante em Moçambique e iii) investigar a ocorrência de mosquitos Aedes em 11 distritos em moçambique. Para este propósito, foram recrutados cerca de 360 pacientes febris em cada um dos 11 distritos, os soros destes foram testados para arbovírus. O perfil da resposta imune foi avaliado em indivíduos infectados com arbovírus e seus controlos correspondentes. Para a componente entomologica, os mosquitos foram colhidos nos mesmos bairros para identificação morfológica e triagem molecular de arbovírus por PCR.

2. Motivação

A similaridade sintomatológica da infecção pelo vírus zika com a infecção pelo vírus dengue, chikungunya, sarampo, rubéola, malária e outros patógenos responsáveis pela doença febril aguda, pode levar ao subdiagnóstico clínico e laboratorial do zika, resultando em um manejo inadequado dos casos contribuindo significativamente para a ocorrência de desfechos complicados e/ou graves de infecção; por outro lado a não implementação de medidas de controlo especificas aos moquitos do genero *Aedes* considerando também aspectos comportamentais destes, pode contribuir para o aumento da propagação da doença. Por outro lado, poucos estudos serológicos e moleculares que evidenciam a ocorrência do vírus zika em pacientes febris foram realizados, não apenas em Moçambique, mas também em outros países da região subsahariana (Gudo *et al.*, 2016). Esta lacuna de conhecimento limita a capacidade dos sistemas de saúde na identificação e resposta eficaz a possíveis surtos de zika, dificultando o monitoramento e a gestão da doença.

A relevância deste problema é ainda mais acentuada pelas graves consequências associadas ao zika, como microcefalia em recém-nascidos e síndrome de Guillain-Barré em adultos (WHO, 2016). Estes desfechos neurológicos sublinham a necessiade urgente de uma compreensão mais profunda da epidemiologia do ZIKV na região. Com uma base evidências sobre a ocorrência deste vírus no país, poderão ser realizados estudos subsequentes que relacionam a positividade com a incidência de casos de síndrome neurológica, bem como outros factores de gravidade.

A realização deste estudo em Moçambique é, portanto, importante não apenas para melhorar o diagnóstico e manejo do ZIKV, mas também para contribuir para a formação de políticas de saúde pública e estratégias de prevenção, minimizar as complicações associadas ao ZIKV e melhorar os desfechos de saúde para a população.

3. Objectivos

3.1. Objectivo geral do estudo principal

Avaliar as características epidemiológicas, imunológicas e entomológicas de arbovírus em 11 distritos de Moçambique.

3.2. Objectivo geral do estudo secundário

- Avaliar a frequência da ocorrência da infecção pelo vírus zika e factores de risco em pacientes com febre de origem desconhecida no Hospital Geral da Polana Caniço em Maputo, de Janeiro de 2016 à Dezembro de 2018.

3.3. Objectivos específicos do estudo secundário

- Determinar a frequência da ocorrência da infecção pelo vírus zika em pacientes com febre atendidos no Hospital Geral da Polana Caniço;
- Descrever o perfil clínico e sociodemográfico dos pacientes positivos para o vírus zika;
- Determinar a ocorrência de co-infecções por zika, dengue e malária;
- Analisar os factores de risco associados as mono e coinfecções por zika, dengue e malária.

4. Problematização / Problema

Moçambique possui uma extensa área suburbana, com factores biológicos, climaticos e socioeconómicos que propiciam a proliferação de mosquitos, aumentando a probabilidade da ocorrência de zika e outras arboviroses. Tais factores incluem a expansão territorial e populacional desorganizada que exarcebam problemas de gestão de águas resíduais, higiene e saneamento contribuindo para o aumento de criadouros de mosquitos responsáveis pela transmissão do zika (Kisuya *et al.*, 2019). Por outro lado, as mudanças climáticas que resultam em inundações, o aumento da temperatura (1º-2ºC) têm como consequência altas densidades populacionais de vectores e aumento na capacidade de replicação viral (Ali Ou Alla and Combe, 2011), contribuindo para o aumento do peso de infecções por zika e outras doenças emergentes e negligenciadas em países em desenvolvimento incluindo Moçambique (Mugabe *et al.*, 2023).

A avaliação da ocorrência do zika no nosso país constitui um desafio, de modo a entender a etiologia dos casos de complicações neurológicas graves tais como a sindrome de Guillain-Barré, a microcefalia em recém-nascidos, reduzir o superdiagnótico da malária e sugerir a adopção de diagnóstico diferencial para o zika e outros arbovirus, evitando deste modo, elevados níveis de morbilidade e mortalidade em Moçambique.

Estudos entomológicos realizados por Abilio e Kampango (2016), confirmam a ocorrência em Moçambique de *Aedes albopictus*, uma espécie invasora e um importante vector de arbovírus humanos com papel potencial como vetor dos vírus da dengue, Chikungunya e Zika. Abilio *et al.* (2020), também relatam os novos flavivírus específicos de insetos e novos fenuivírus, bem como formas de ácidos nucleicos virais semelhantes a flavivírus frequentes em várias espécies de vetores amplamente conhecidos em Moçambique, por outro lado, um outro estudo feito por Abilio et al. (2020), fez a primeira detecção de *Aedes luteocephalus* em território moçambicano, uma espécie de vector do vírus da febre amarela (YFV), vírus Zika (ZIKV) e vírus da dengue (DENV) na África. Estas evidências incitam a necessidade de estudos sobre a ocorrência do zika, visto que, os vectores responsáveis pela transmissão deste vírus e outras arboviroses circulam no país, potencializando ainda mais a transmissão destes patógenos a humanos, em Moçambique.

Outro estudo realizado por Kampango *et al.* (2018), em 32 distritos de Moçambique, encontrou mosquitos *Aedes eagypti* em todos os locais, e *Aedes albopictus* no distrito de Moatize, foi evidênciada a ocorrência em cerca de 22,4% (628/2807) de *Aedes eagypti* e 0,03% de *Aedes albopictus*. No distrito Kamaxaquene, no bairro da polana caniço foi evidenciada a ocorrência

correspondente a cerca de 50% (2/4) do *Aedes stregomyia* (Kampango *et al.*, 2018), dados estes que suportam a ocorrência e potencial transmissão destes patógenos em Moçambique, mas também especificamente na área do estudo localizada no bairro da Polana Caniço, cujos pacientes foram também atendidos no Hospital Geral com o mesmo Nome.

A primeira evidencia serologica da circulação do vírus de zika foi demonstrada em um estudo realizado em 1957 em Moçambique e outros países de África, onde identificou-se a presença de anticorpos neutralizantes contra o vírus Zika com uma positividade de 4% para zika (Kokernot et al., 1960). Outro estudo realizado por Chelene *et al.* (2019), identificou uma seroprevalência de 4,9% (42/850) em 9 províncias do norte, centro e sul de Moçambique, em pacientes negativos para sarampo e rubéola. Estes estudos evidenciam a circulação do zika no país, contudo pouco se sabe sobre a circulação deste vírus na actualidade.

Portanto, um estudo sobre o vírus zika em Moçambique é importante visando esclarecer sobre a sua ocorrência e factores de risco, servirá também como estudo de base para estudos futuros.

5. Revisão bibliográfica

5.1. O vírus zika

O vírus zika (ZIKV) é um arbovírus, da família *Flaviviridae* que inclui vários outros vírus transmitidos por artrópodes, nomeadamente, o vírus dengue, febre amarela, Nilo ocidental e outros (Hayes, 2009; Virus *et al.*, 2016). O nome zika provém de uma floresta com o mesmo nome localizada no Uganda, local onde este vírus foi pela primeira vez isolado a partir do macaco *Rhesus* em 1947, tendo sido primeiramente diagnosticado em humanos em 1952 em Uganda e Tanzânia (WHO, 2016; Faye *et al.*, 2020; Olawoyin and Kribs, 2020).

O vírus zika tem causado doença febril, acompanhada de outros sintomas, tais como cefaleia, exantema, mal-estar, edema e dores articulares, por vezes intensas. No entanto, apesar da aparente benignidade da doença, mais recentemente na Polinésia Francesa e no Brasil, quadros mais severos, incluindo comprometimento do sistema nervoso central (síndrome de Guillain-Barré, mielite transversa e meningite), associados ao zika têm sido comumente registados, o que mostra quão pouco conhecida ainda é esta doença (Vasconcelos, 2015; Kayiwa *et al.*, 2018), sendo que, antes do surto que começou no Brasil em 2015 o zika não foi considerado um patógeno humano relevante (Barzon *et al.*, 2016), motivo pelo qual em 1 de fevereiro de 2016 a Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou o ZIKV com sendo uma Emergência de Saúde Pública de preocupação internacional (WHO, 2016).

5.2. Virologia e replicação do ZIKV

Semelhante aos outros Flavivírus, o vírus zika, é um vírus com envelope icosahédrico que contém um RNA de fita simples, linear e polaridade positiva com aproximadamente 10,7 kb que é constituído por várias cópias da proteína da cápside. O genoma codifica uma única poliproteína de 3423 aminoácidos que é processada por proteases vasculares e celulares em três proteínas estruturais, ou seja, as proteínas da cápside (C), da membrana (prM) e do envelope (E) que formam a partícula de vírus e medeia a ligação, entrada e encapsidação do vírus e sete proteínas não estruturais (NS) (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B e NS5), que funcionam na replicação do genoma viral, no processamento de poliproteínas e na resposta antiviral inata do hospedeiro (Fig. 1) (Barzon *et al.*, 2016). Análises filogenéticas mostram que o vírus Zika pode ser classificado em duas linhagens distintas, africana e asiática; ambas emergiram da África Oriental durante o final dos anos 1800 ou início dos anos 1900 (Plourde &Bloch, 2016).

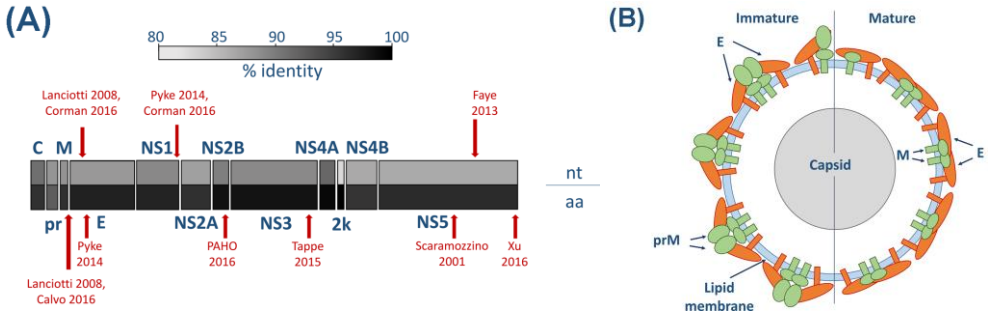


Figura 1- Representação esquemática da estrutura dos genomas (A) e (B) do vírus zika.

Fonte: Barzon *et al.* (2016).

A similaridade de outros flavivírus, o genoma do ZIKV possui duas regiões não traduzidas (UTRs) as extremidades 5’ e 3’dosnucleótidos 107 e 429, respectivamente. A região UTR 5’ tem uma estrutura do tipo I, enquanto que a região UTR 3’ não possui uma cauda de poliadenilato e contém blocos conservados, que provavelmente desempenham diferentes funções durante a replicação em hospedeiros vertebrados e invertebrados (Barzon *et al.*, 2016).

A replicação do vírus zika ocorre no citoplasma das células infectadas. Após a endocitose mediada por um receptor celular ainda desconhecido, a fusão viral ocorre com as membranas endossômicas, levando ao descolamento da partícula viral e à liberação do genoma viral, que é imediatamente traduzida como uma única poliproteína no retículo endoplasmático (RE) (Barzon *et al.*, 2016). A poliproteína é processada por protease NS2B-NS3 viral e proteases celulares para gerar proteínas virais maduras; O genoma de RNA viral de sentido positivo é então copiado para dar uma molécula de RNA de sentido negativo, que serve como modelo para síntese do RNA genômico de sentido positivo com o genoma completo. A síntese do genoma viral ocorre em associação com o RE e é catalisada por um complexo de replicação que inclui o ARN-ARN-dependente de ARN-poliacarase e outras proteínas NS. Os novos genomas são embalados pela proteína C e adquirem o envelope enquanto brotam do RE. Estes viriões imaturos são transportados através das vias secretoras celulares, onde ocorre glicosilação e clivagem de prM por protease furina hospedeira, resultando na formação de viriões maduros que são liberados por exocitose (Barzon *et al.*, 2016).

5.3. Transmissão do ZIKV

O ZIKV é transmitido aos seres humanos pelos mosquitos da espécie *Aedes* (principalmente o mosquito *Aedes Aegypti* que é altamente antropofílico), onde os humanos apresentam o papel de hospedeiro de amplificação (Ioos *et al.*, 2014; Barzon *et al.*, 2016). O *Aedes aegypti* é o vector primário responsável pela transmissão nas áreas urbanas e ocorre em regiões rurais (fig. 2), sendo que, esta espécies de mosquitos é amplamente distribuída nos trópicos (Ali Ou Alla and Combe, 2011).

Figura 2- Mosquito *Aedes aegypti* e *Aedes Albopictus* responsáveis pela transmissão do ZIKV
Fonte: (Schaffner and Mathis, 2014)

Os mosquitos *Aedes* desenvolvem-se em ambientes domésticos como vasos de flores, recipientes que contém água; áreas peri domésticas como locais de construção, cascas de coco, objectos descartados. A fêmea adulta do mosquito é encontrada em locais frios e sombrios em áreas domésticas e peri domésticas e alimenta-se durante o dia (OMS, 2008).

Um ciclo silvático de transmissão de ZIKV ocorre entre primatas não humanos e *Aedes spp* zoofílico arbórico. Mosquitos também existem em florestas africanas e asiáticas, nas quais os seres humanos podem ser incidentalmente infectados.

Em África, o vírus foi isolado ou detectado por PCR em *Aedes africanus, Aedes Furcifer, Aedes vittatus, Aedes taylori, Aedes Luteo-cefalus, Aedes albopictus* e outros mosquitos de espécies de *Aedes*, enquanto na Ásia o *Aedes aegypti* é considerado o vector principal de epidemia de ZIKV fora de África (Grard *et al.*, 2014). *Aedes hen- silli*, a espécie de mosquito mais abundante na ilha de Yap é o vector competente para transmissão de ZIKV, foi o principal vector de transmissão de

ZIKV durante o surto de 2007, mesmo que o vírus não pudesse ser detectado em amostras de mosquitos (Barzon *et al.*, 2016). *Aedes aegypti* e *Aedes polinesienses*, espécies de mosquitos mais comuns na Polinésia Francesa, estavam provavelmente envolvidos na transmissão local de ZIKV. Enquanto *Aedes Aegypti* e possivelmente também *Aedes albopictus* são considerados os vectores responsáveis pela transmissão no Brasil e em outros países da América do Sul e Central, embora faltem relatos de isolamento do ZIKV em mosquitos de campo. Ambos *Aedes aegypti* e *Aedes Albopicus* são vectores competentes para o ZIKV (Barzon *et al.*, 2016). Mas a transmissãode *Ae. Albopictus* é menos eficiente do que de *Aedes aegypti* devido a um período de incubação extrínseco mais longo (Di Luca *et al.*, 2016).

5.4. Epidemiologia do ZIKV

Após o primeiro isolamento do vírus no macaco Rhesus, em Uganda em 1947 (Vasconcelos, 2015; Kayiwa *et al.*, 2018), pesquisas serológicas em humanos e estudos entomológicos em mosquitos mostraram que o vírus era endémico em áreas do centro, oeste, leste e norte da África e no sul e sudeste da Ásia (Barzon *et al.*, 2016).

O primeiro grande surto de infecção por ZIKV ocorreu em Yap, Estados Federados da Micronésia, em 2007 (Lanciotti *et al.*, 2008). Este surto, que foi identificado retrospectivamente, foi estimado em mais de 70% dos residentes de Yap, correspondendo a cerca de 5000 indivíduos. Uma cepa ZIKV pertencente à linhagem asiática foi responsável pelo surto, enquanto que, uma linhagem africana ZIKV estava envolvida em outro surto que ocorreu no mesmo período no Gabão (Lanciotti *et al.*, 2008) (figura 3).

Uma grande epidemia de ZIKV com mais de 30 000 casos suspeitos foi identificada no final de 2013 na Polinésia Francesa (Hancock, Marfel and Bel, 2014). Durante esta epidemia, foram observadas pela primeira vez, uma maior incidência de síndrome de Guillain-Barré e outras complicações neurológicas graves, incluindo a microcefalia fetal. Dai, o vírus espalhou-se para outras ilhas da região do Pacífico, com a maioria das infecções humanas registadas em 2014 na Nova Caledônia e as Ilhas Cook (Hancock, Marfel and Bel, 2014). Desde 2012 *clusters* de infecção por ZIKV foram identificados no Sudeste Asiático, em outubro de 2015, um surto começou em Cabo Verde, causado pela mesma cepa ZIKV que circulava nas Américas (Vasconcelos, 2015). No Brasil, o primeiro caso de infecção por ZIKV foi notificado em Maio de 2015 em um paciente do Rio de Janeiro infectado pelo HIV (Calvet *et al*., 2015). No entanto, os relatórios subsequentes

indicaram que o vírus já circulava no país pelo menos desde Janeiro até Março de 2015 (Vasconcelos, 2015), enquanto que o análogo filogenético e molecular do relógio de sequências do genoma viral previa que o vírus foi introduzido da Polinésia Francesa e no Brasil entre Maio e Dezembro de 2013 (Faria *et al.*, 2016).

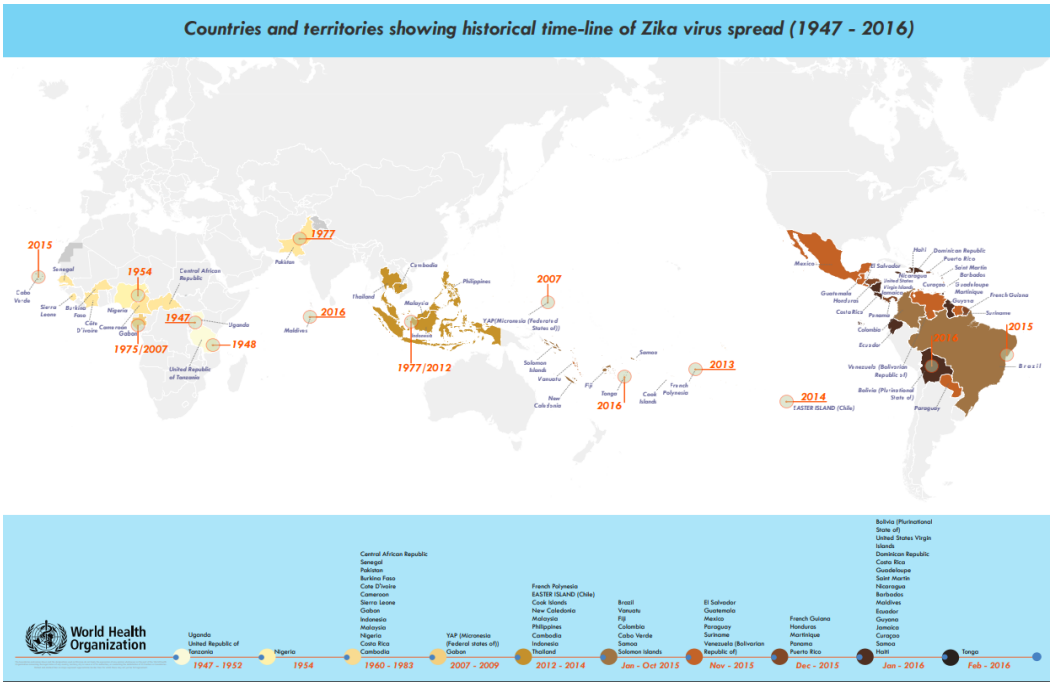


Figura 3- Distribuição geográfica e temporal do vírus ZIKV de 1947 até 2016

Fonte: WHO (2016)

Posteriormente, o ZIKV espalhou-se rapidamente no Brasil, onde cerca de 500 000 a 1 500 000 casos de doença de ZIKV foram estimados desde o início do surto até o início de Fevereiro de 2016 (OMS 2016b), para outros países da América do Sul, América Central e no Caribe, onde também foram relatados milhares de casos, a maioria dos quais da Colômbia e Venezuela (OMS 2016b). Foram registados vários casos de infecção ZIKV importada na Europa, América do Norte, Ásia e Austrália, incluindo infecções em mulheres grávidas (CDC, 2016), mas também infecções autóctones de ZIKV devido a possíveis transmissões sexuais foram registadas nos EUA e na Europa (CDC, 2016). De acordo com a Organização Mundial de Saúde, todo o continente africano corre o risco de um surto de zika, contudo apenas alguns casos esporádicos ou pequenos *clusters* de infecção por ZIKV e a doença em seres humanos foi relatada até as epidemias recentes, em parte devido à subestimação devido à sua apresentação clínica não específica que pode ser

diagnosticada como outras infecções por arbovírus mais comumente diagnosticadas, como dengue e chikungunya (Barzon *et al.*, 2016).

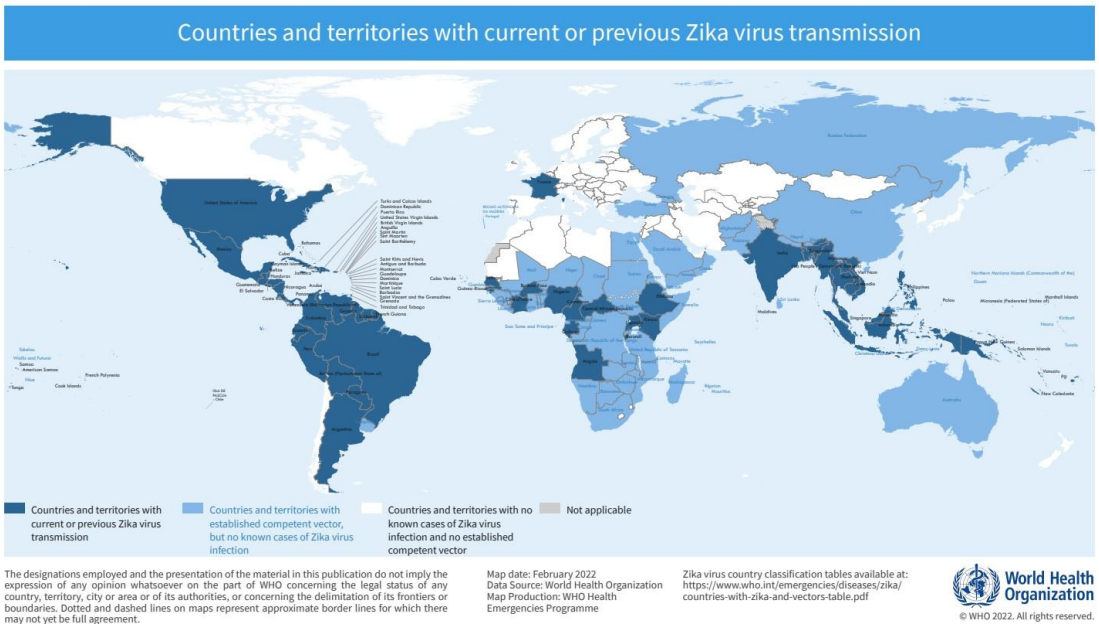


Figura 4- Distribuição do ZIKV

Fonte: WHO (2022)

Um estudo foi desenvolvido para avaliar a imunidade ao zika vírus em uma coorte selecionada de indivíduos da África Ocidental entre 2007 e 2012, para aumentar a disponibilidade de dados sobre a epidemiologia da circulação do zika vírus em África (Marchi *et al.*, 2020). Resultados deste estudo mostram que em 2007, a prevalência mais alta foi de 21,9%, encontrada no Senegal entre indivíduos de 18 a 29 anos; Em 2011/2012, a prevalência mais alta, 22,7%, foi encontrada ainda no Senegal, mas em indivíduos de 11 a 17 anos. Durante ambos os períodos de estudo, a prevalência mais baixa foi encontrada em Mali, onde poucos casos positivos foram encontrados apenas em indivíduos de 18 a 29 anos de idade. A Gâmbia apresentou uma prevalência intermediária. Nos três países, a prevalência foi fortemente associada ao aumento da idade (Marchi *et al.*, 2020). Estes dados mostram a circulação do ZIKV em diferentes países africanos (três contextos ecológicos e demográficos diferentes), entre 2007 e 2012 (figura 4). Alguns países da África Subsahariana e do Sudeste Asiático tiveram casos humanos autolimitados de infecção pelo vírus Zika nas últimas seis décadas (Kisuya *et al.*, 2019). Estudos relataram Uganda como um hotspot para muitas infecções virais e recentes estudos relataram a presença de mosquitos vetores

competentes para a transmissão do ZIKV em todo Uganda, pelas condições ambientais favoráveis à disseminação de arbovírus, incluindo ZIKV (Kayiwa *et al.*, 2018).

5.5. Manifestações Clínicas

Em cerca de 80% dos casos, a infecção por ZIKV é assintomática (Mark R Duffy *et al.*, 2009). Em pacientes com sintomas, a doença apresenta-se como uma doença febril que pode ser subdiagnosticada como dengue ou chikungunya. Os sintomas ocorrem após um período de incubação de 3-12 dias, geralmente são leves e duram 4-7 dias sem complicações severas (Mark R Duffy *et al.*, 2009). No entanto, durante os surtos recentes, foram notificados sintomas graves e sequelas, incluindo microcefalia em recém nascidos, síndrome Guillain-Barré e outros distúrbios neurológicos, complicações hemorrágicas e até mesmo a morte (Mark R Duffy *et al.*, 2009; WHO, 2016). A Zika em pacientes sintomáticos, pode ser caracterizada por erupção macular ou papular (90%), febre, tipicamente de baixo grau (70%), artralgia (60-70%), fadiga (70%), conjuntivite não purulenta (55%), mialgia (45%) e dor de cabeça (45%), enquanto outros sintomas, por exemplo, dor orbital, edema, vômitos, dor de garganta, uveíte e linfo adenopatia, são menos frequentes (Mark R Duffy *et al.*, 2009) (figura 5).

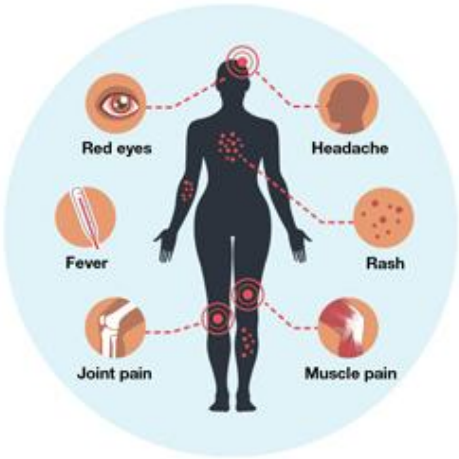


Figura 5- Sintomas clínicos da infecção pelo ZIKV

Fonte: CDC (2019)

Uma característica típica da infecção por ZIKV é a erupção maculopapular que muitas vezes é pruriginosa e começa na face e/ou tronco e depois se espalha por todo o corpo, mas pode ser também focal e fugaz; Em áreas de co-circulação de ZIKV, DENV e chikungunya, como o Brasil,

onde muitas infecções provavelmente não são incomuns, nenhum aumento na incidência de doença grave foi relatado, sugerindo a ausência de efeitos sinérgicos (Mark R Duffy *et al.*, 2009).

5.6. Teste de Diagnóstico do ZIKV

As técnicas para o diagnóstico de infecção aguda por ZIKV incluem métodos moleculares para a detecção de RNA ZIKV no sangue e na urina, ensaios imunoenzimáticos (ELISA) ou ensaios de imunofluorescência (IFA) para a detecção de anticorpos IgM e IgG do ZIKV (Barzon *et al.*, 2016). Ensaios de neutralização do vírus, são necessários para confirmar a especificidade de anticorpos detectados por ELISA ou IFA, e isolamento de vírus em culturas celulares são realizados apenas em laboratórios especializados de referência (Barzon *et al.*, 2016).

De acordo com o ECDC, um caso de infecção por ZIKV é definido como confirmado na presença de pelo menos um dos seguintes critérios laboratoriais: detecção de RNA ZIKV ou antígenos numa amostra clínica; isolamento viral de uma amostra clínica; detecção de anticorpos IgM específicos de ZIKV em amostras de soro e confirmação por teste de neutralização; seroconversão ou aumento de quatro vezes no título de anticorpos específicos de ZIKV em amostras de soro pareadas. Um caso é definido como provável se os anticorpos IgM específicos de ZIKV forem detectados no soro, mas outros testes confirmatórios não estão disponíveis (Barzon *et al.*, 2016).

6. Enquadramento conceptual

A informação sobre zika é escassa em Moçambique assim como em países da África sub-sahariana. Moçambique tem um clima tropical húmido, com níveis de precipitação e temperaturas adequadas que propiciam o desenvolvimento do vector, para além do facto de ser propenso a ciclones e inundações que muitas vezes tem contribuído para o aumento da transmissão de doenças infecciosas, tais como a malária (MISAU, 2010), que é endémica em todo o país, para além do facto da ocorrência de factores climáticos/ambientais apropriados e agravados pelas mudanças climáticas, factores socioeconómicos como abrigo inadequado relacionado à pobreza e meios de prevenção inacessíveis (figura 6).

Neste contexto, há uma necessidade urgente de investigar a ocorrência do vírus zika, com vista a fornecer ao MISAU evidência científica para a formulação de políticas e a definição de uma série de acções para prevenção do zika em Moçambique. Tendo em conta que Moçambique é um país

tropical, com clima apropriado para a disseminação dos mosquitos envolvidos na transmissão do vírus zika, é provável que o vírus zika circule em Moçambique em níveis basais ou altos, particularmente nas zonas peri-urbanas, portanto:

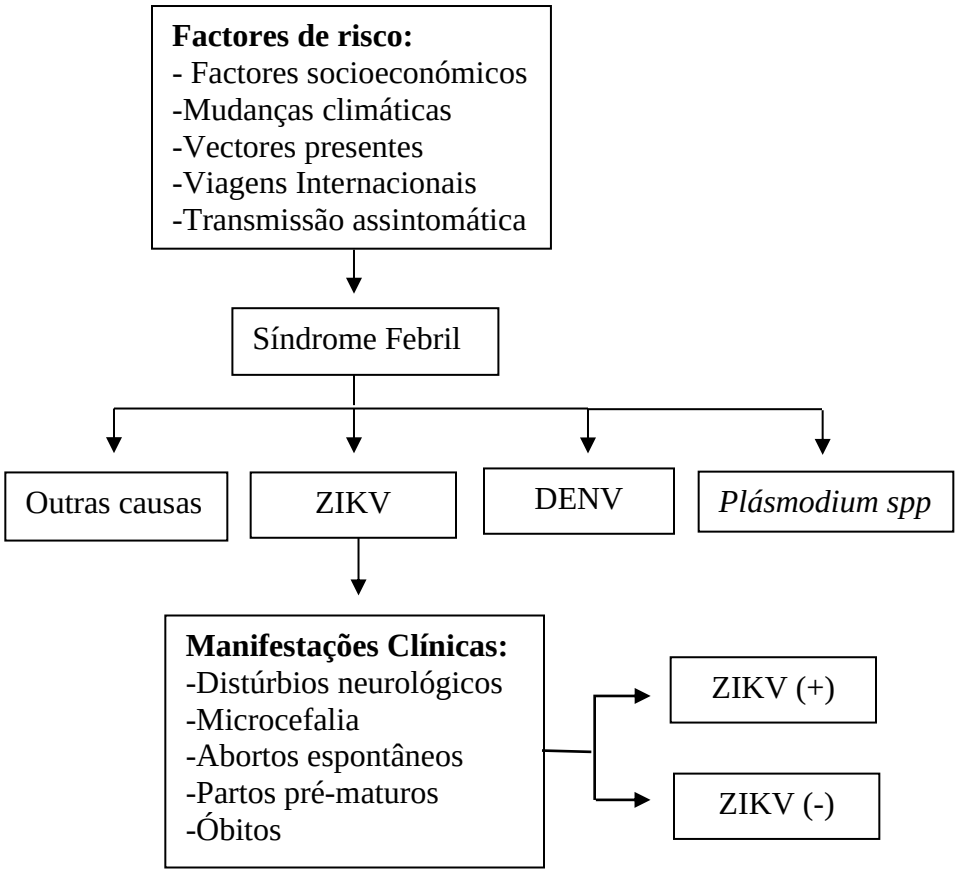


Figura 6- Enquadramento conceptual da infecção pelo ZIKV (adaptado de Teixeira *et al*., 2020).

Moçambique apresenta factores socio-demográficos (urbanização desordenada e saneamento precário) contribuintes para o desenvolvimento do vector, por outro lado, aspectos clínicos tais como a transmissão assintomática e vertical, os distúrbios neurológicos, para além dos factores climáticos, incitam a necessidade de investigar a ocorrência deste vírus no país.

7. Material e Métodos

7.1. Resumo dos procedimentos do estudo principal

O estudo principal denominado ARBOMAP, consistiu em um estudo transversal descritivo realizado entre junho de 2016 e junho de 2019 em 11 províncias de Moçambique. Apenas 11 distritos urbanos ou suburbanos situados dentro de cada capital provincial foram selecionados. Em cada um distrito do total de 11, uma unidade sanitária foi selecionada onde pacientes com doença febril aguda foram recrutados. Em cada unidade sanitária, os pacientes elegíveis que atendiam aos critérios de inclusão foram recrutados pelo clínico do estudo. Cada paciente assinou voluntariamente o formulário de consentimento antes do recrutamento. Os critérios de seleção desses bairros urbanos ou suburbanos são os seguintes: i) presença de urbanização rápida e não planeada com saneamento deficiente: existência de lixo, concentração de água da chuva próximo às residências, brejos de água estagnada; ii) alta densidade populacional: Será considerada a média da densidade populacional (Hab / km2) para cada distrito urbano ou suburbano.

O teste de HIV foi solicitado a todos os participantes durante a visita de inscrição. Cada participante foi solicitado a retornar à unidade de saúde duas semanas após a primeira colheita para colher a amostra de convalescença de casos prováveis de arbovírus. As amostras biológicas foram colhidas durante um período de 36 meses, de formas a obter amostras ao longo do ano, tanto no verão como no inverno e assim, determinar a sazonalidade na ocorrência das arboviroses em Moçambique. Nesse período, foram selecionados cerca de 300 indivíduos com febre em cada unidade de saúde, com uma perda de seguimento de 20% entre a primeira e a segunda visita. Assim, nesse sentido, o tamanho total da amostra foi de 360 pacientes em cada unidade de saúde. Portanto, o número total de amostras para o estudo foi de de 3.960.

O tamanho da amostra para cada local foi calculado usando um teste de proporção de amostra com base na suposição de que a prevalência esperada de arbovírus de 10,0% com um erro máximo de estimativa de 3,4% a um nível de confiança de 5%. Essas suposições foram baseadas em publicação recente de nosso grupo em que demonstramos altas taxas de prevalência de Dengue e Chikungunya. A seguinte fórmula foi usada para o cálculo do tamanho da amostra:

$$n = \frac{Z^2 P(1-P)}{d^2}$$

Onde:

n = tamanho da amostra

Z = nível de confiança

P = prevalência esperada

d = nível de erro

De cada participante do estudo, foi colhido o sangue venoso (20 mL) durante a fase inicial da doença febril usando as precauções padrão, em tubo Vacutainer com K3EDTA (10 mL) e sem anticoagulante (10 mL) no dia da primeira consulta médica. Na segunda visita (duas semanas depois da primeira colheita), cada paciente forneceu 10 mL de sangue venoso colhido no tubo Vacutainer com tubo seco. As amostras foram transportadas em cadeia de frio entre 2-8°C, para o laboratório de referência de Virologia do INS, Maputo. No laboratório, o sangue foi posteriormente centrifugado para a separação de soro e plasma e depois congelado a 70°C negativos, até o uso. Um questionário foi aplicado a cada indivíduo que aceitou participar deste estudo. O questionário do estudo foi desenvolvido para obter informações demográficas, socioeconômicas, de saúde, data de início da febre e contato com os animais (ver anexo 1). O questionário foi testado em comunidades semelhantes às do estudo real.

7.2. Tipo/ desenho do estudo

Este é um estudo epidemiológico observacional descritivo transversal, realizado no Hospital Geral da Polana Caniço em Maputo, que envolveu amostras de pacientes febris atendidos nas triagens da unidade sanitária anteriormente mencionada provenientes do estudo principal (ARBOMAP).

7.2.1. Local do estudo

Este estudo foi conduzido no Hospital Geral da Polana Caniço em Maputo, localizado em uma área suburbana no bairro Polana Caniço na cidade de Maputo em Moçambique (figura 7).

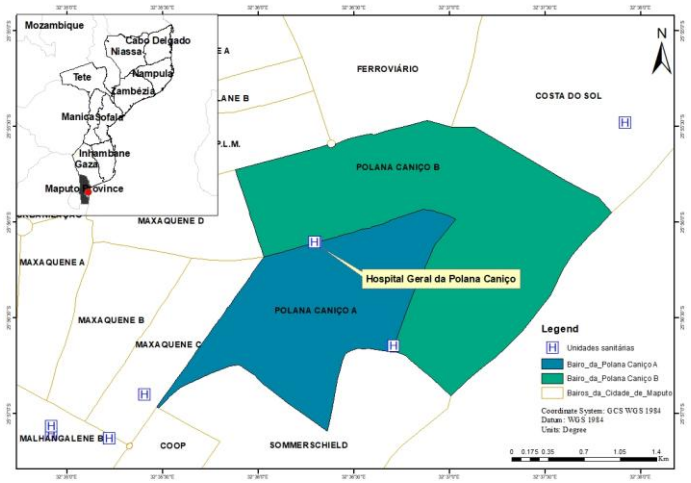


Figura 7- Localização geográfica dos bairros e do Hospital Geral da Polana Caniço

Fonte: Software ArcGIS Desktop versão 10.7 no modulo ArcMap (CISPOC, 2023).

O bairro Polana Caniço é um bairro central de Maputo no qual a dualidade de habitação é visível. Um lado vive abaixo dos padrões de habitação com os terrenos relativamente longe de ruas acessíveis e o outro lado está a formar um bairro de empreendimentos de moradias de luxo.

Este local de estudo está incluido no estudo principal, portanto, a escolha deste local foi efectuada tomando em consideração o habitat usual do vector responsável pela transmissão do vírus zika, é uma região muito povoada, onde as condições do saneamento (escoamento de águas através de drenagens ou valas, recolha regular do lixo) e o fornecimento de água são deficientes, associado a urbanização rápida e desordenada, o que favorece a formação de criadouros de mosquitos e outros vectores.

7.2.2. Período do estudo

O período do estudo foi de Janeiro de 2016 à Dezembro de 2018, quando as amostras foram colhidas tanto no verão, bem como na época fria para determinar além da ocorrência, a frequência deste vírus nas duas épocas em Moçambique. A analise de dados foi feita em Fevereiro de 2024.

7.2.3. População do estudo

Os participantes deste estudo foram recrutados no Centro de Saúde Polana Caniço em Maputo. A população que frequentava este centro de saúde vive em habitações localizadas em ambiente propício para o crescimento de mosquitos, para além do facto de esta área ser altamente endémica para a malária. Este centro de saúde foi selecionado tendo em conta que o vírus zika é suburbano e está associado ao pobre saneamento.

Indivíduos que apresentavam os critérios de inclusão, foram recrutados para a visita de despiste na unidade sanitária e eram convidados a participar no estudo após o fornecimento da informação sobre o estudo e seus procedimentos. Foi aplicado um consentimento para participar, um questionário e posteriormente foi efectuada a colheita de sangue de cada participante.

7.2.4. Modo de selecção dos participantes, amostra, amostragem

Para este estudo, foram recrutados um total de 877 indivíduos, com febre aguda e uma positividade de 20,4% para malária e sem outras causas identificáveis de febre (otite média, sinusite, faringite

purulenta, celulite, infecção do tracto urinário, abcesso dentário, artrite séptica, pneumonia e doença inflamatória pélvica). Este tamanho da amostra foi calculado tendo em conta a fórmula que se segue:

onde, n = tamanho da amostra

$$n=\frac{Z^2\ P(1-P)}{d^2}$$

Z = estatística para o nível de confiança.

P = prevalência esperada.

d = erro máximo de estimativa

Para alcançar o tamanho de amostra foram recrutados por dia 3 indivíduos elegíveis. Este tamanho de amostra, foi calculado usando teste de proporção para uma amostra com base nas assumpções de uma prevalência esperada do vírus zika de 10% com erro máximo de estimativa de 2,5% num nível de confiança de 95%. Estas assumpções foram baseadas em estudos prévios (Gudo *et al*, 2016).

7.2.5. Critérios de inclusão

Síndrome febril aguda (temperatura axilar > 37.5°C) com diagnóstico negativo para malária e sem nenhuma causa identificável de febre (otite, sinusite, faringite purulenta, celulite, infecção do tracto urinário, abcesso dentário, artrite séptica, pneumonia e doença inflamatória pélvica). Para determinar as coinfecções com malária, foram incluidadas 21%(179/858) de amostras positivas para malária (uma amostra diária).

7.2.6. Critérios de exclusão

- Gestantes;
- Indivíduos com distúrbios psiquiátricos;
- Indivíduos com doença febril cujo foco de infecção é identificável, tal como otite média, sinusite, faringite purulenta, celulites, infecção do tracto urinário, abcesso dentário, atrite séptica, pneumonia e doença inflamatório pélvica.

7.2.7. Procedimentos, técnicas e instrumentos de recolha de dados

Sendo este, parte de um estudo principal com o número de referência 220/CNBS/2021 no dia 26 de Abril de 2021, a técnica de colheita de dados foi entrevista com base em um questionário e foi aplicado a cada um dos participantes no estudo que apresentasse a definição de caso anteriormente descrita para o estudo (febre aguda e diagnóstico negativo para malária e sem nenhuma causa identificável de febre tais como otite, sinusite, faringite, celulite, infecção do tracto urinário, artrite séptica, pneumonia e doença inflamatória pélvica). Para excluir indivíduos com outras causas identificáveis de doença, durante a colheita de amostras, foram realizados outros testes tais como o esfregaço e teste rápido para Malária.

O questionário foi elaborado com o objectivo de obter os dados clínicos, demográficos, socioeconómicos, data de início da febre e história de contacto com animais (Questionário em anexo) de formas a determinar o perfil sociodemográfico dos pacientes.

Após o convite para participar no estudo, o fornecimento da informação sobre o estudo, seus procedimentos, assinatura do consentimento informado e colheita de dados dos pacientes, foram colhidos cerca de 10ml de sangue total, sendo que, 5ml foram colhidos usando um tubo com anticoagulante e os restantes 5ml usando um tubo seco sem anticoagualnte. Após a colheita o sangue foi centrifugado por 10min a 1500rpm para a separação de soro e plasma, colocado em microtubos de base cónica e posteriormente transportadas em cadeia de frio entre 2-8°C, para o laboratório de referência de Virologia do INS, Maputo, onde estão conservadas a -70°C para o uso.

As amostras foram colhidas de cada participante durante a fase aguda da febre para a realização da testagem serológica e molecular visando detectar o RNA do vírus zika e anticorpos IgM e IgG anti-ZIKV, seguidamente, foi feita a testagem diferencial usando as mesmas técnicas, serológicas e moleculares, para diagnosticar o vírus dengue de formas a observar casos de cocirculação e coinfecção de zika e dengue, pois estes vírus apresentam sintomatologia, ocorrência e formas de transmissão semelhante (Kisuya *et al.*, 2019).

7.2.8. Colheita e Transporte de Amostras

O consentimento para participar, aplicação do questionário e colheita de sangue de cada participante foi efectuado pela equipe do estudo. Indivíduos que apresentaram os critérios de

inclusão foram convidados para participar no estudo após o fornecimento da informação sobre o estudo e seus procedimentos.

Foram colhidos cerca de 10ml de sangue total, sendo que, 5ml foram colhidos usando um tubo com anticoagulante o K_3EDTA e os restantes 5ml usando um tubo seco sem anticoagulante. As amostras foram transportadas em cadeia de frio entre 2-8°C, para o laboratório de referência de Virologia do INS, Maputo. No laboratório, o sangue foi posteriormente centrifugado para a separação de soro e plasma e depois congelado a 70°C negativos, até o uso.

7.2.9. Testagem laboratorial

As amostras foram colhidas de cada paciente durante a fase aguda da doença febril (até 7 dias após o início dos sintomas) para a realização dos ELISAs, com o objectivo de efectuar a detecção qualitativa de anticorpos IgM anti-ZIKV, IgM anti-DENV e antígeno viral NS1 do DENV, mas também para a detecção qualitativa dos ácidos nucleicos virais por RT-PCR em tempo real.

7.2.9.1. Detecção de anticorpos IgM anti-ZIKV, IgM anti-DENV e antígeno viral NS1 do DENV

As amostras foram testadas para determinar a presença de anticorpos IgM anti-ZIKV através do ensaio imunoenzimático (ELISA) da EUROIMMUN (AG, Lubeck, Germany), por outro lado foi determinada a presença dos IgM anti-DENV e antígeno viral NS1 do DENV através do ensaio imunoenzimático (ELISA) da InBios (InBios International, Inc, USA).

7.2.9.1.1. ELISA

- **Princípio do teste para a detecção de anticorpos e antígenos**

Os kits para a detecção dos anticorpos IgM anti-ZIKV e anti-DENV, foram criados exclusivamente para a determinação *in vitro* de anticorpos humanos no soro ou plasma. A determinação pode ser feita de forma qualitativa ou quantitativa.

Amostras de soro ou plasma, contendo anticorpos primários (Ab1) são adicionadas a um antígeno revestido no poço da tira que compõem a placa do kit, após a reação antígeno-anticorpo, através de um processo de lavagem é retirado o remanescente dos anticorpos não ligados. O anticorpo

ligado ao antígeno é detectado pela adição de um anticorpo secundário conjugado com enzima (Ab2) que se liga a Ab1. Os Ab2 livres são novamente retirados através da lavagem, posteriormente, o substrato é adicionado a enzima. A reação deste complexo resulta em uma solução colorida, fluorescente ou luminescente na qual é medida a densidade óptica através de um leitor de placas especializado (um ensaio ELISA direto, para a detecção de antígenos, detectaria a quantidade de antígeno na placa usando enzima anticorpos acoplados).

7.2.9.2. Detecção qualitativa dos ácidos nucleicos por RT-PCR em tempo real

7.2.9.2.1. Preparação de amostra e extração do RNA viral

As amostras para a detecção qualitativa dos ácidos nucleicos antes da testagem deverão passar por um processo de centrifugação, por aproximadamente 10 minutos a 1500 rpm e aliquotadas a 1mL em dois crioviais de 2 mL, e posterior armazenadas a -80ºC.

Para o processamento das amostras, foi descongelada apenas uma alíquota de cada amostra. Para a extração do RNA, foi usado o kit comercial *QIAamp RNA Viral Mini Kit* (QIAGEN Inc., CA), seguindo o seguinte procedimento:

1- Registou-se os tubos de microcentrífuga de 1.5 mL com os códigos de cada amostra,

2- Adicionou-se a cada tubo 560 µL de tampão de lise AVL+RNA carreador e 140 µL de amostra,

3-Homogeneizou-se com auxílio de um *vortex* e incubou-se por 10 minutos a temperatura ambiente.

4- Adicionou-se 560 µL de álcool a 99.9%, homogeneizou-se por cinco segundos com auxílio de um *vortex.*

5- Centrifugou-se rapidamente por 10 segundos, transferiu-se 630 µL da solução para a coluna QIAmp previamente identificada e centrifugou-se a 6000g por um minuto.

6- Transferiu-se a coluna para um tubo colector e os restantes 630 µL da solução novamente para a coluna QIAmp previamente identificada e centrifugou-se a 6000g por um minuto.

7- Adicionou-se 500 µL da solução de lavagem AW1, centrifugou-se a 6000g por um minuto.

8- Adicionou-se 500 µL da solução da lavagem AW2 e centrifugou-se a 8000g por três minutos e meio.

9- Transferiu-se a coluna para um tubo colector, centrifugou-se a 8000g por um minuto e transferiu-se a coluna para um tubo cónico de 1.5 mL previamente identificado com o código de cada amostra.

10- Adicionou-se 80 μL do tampão de eluição AVE e incubou-se a temperatura ambiente por um minuto.

11- Descartou-se a coluna e armazenou-se o tubo contendo o RNA a -80ºC para posterior realização do RT-qPCR.

7.2.9.2.2. Detecção do acido nucleico pela técnica de RT-PCR em tempo real

Para a detecção do acido nucleico viral foi usada a técnida da RT-PCR em tempo real numa única etapa de reacção, usando o kit da enzima Super Script III, iniciadores (directo e reverso) e sondas para a preparação do *master mix*; posteriormente, foi adicionado o RNA extraído. A reacção foi submetida a ciclos de amplificação nas ciclagens definidas e descritas nos procedimentos operacionais padrão do laboratório de referência. A detecção do RNA foi realizada no termociclador com sistema de detecção da PCR em tempo real (Quanti Studio 5/7).

Tabela 1- Conjunto de iniciadores e sondas usados na amplificação do RNS

Patógeno	Conjunto de iniciadores e sondas	Sequência (5'-3')
DENV	PanDEN_11062P	CAGAGATCCTGCTGTC
	PanDEN_11201R	YTCTGTGCCTGGATWGATGTTG
	DEN_PAN 11095R	TTCTGTGCCTGGAATGATGCTG
	DEN_PAN 11040F	GCATATTGACGCTGGGARAGAC
ZIKAV	ZIKV P	CACAAGGTGAAGCCTAC
	ZIKV F	ATATCGGACATGGCYTCGGA
	ZIKV R	CATATTGAGTGTCTGAYTGCTTGTCA
	ZIKV R2	CATATTGGGTGTCTGAYTGCTTATCA
HSC	RnaseP F	AGA TTT GGA CCT GCG AGC G
	RnaseP R	GAG CGG CTG TCT CCA CAA GT
	RnaseP P	TTC TGA CCT GAA GGC TCT GCG CG

7.2.9.3. Outros Testes Laboratoriais

Para excluir indivíduos com outras causas identificáveis de doença, durante a colheita de amostras, foram realizados outros testes tais como o TDR e esfregaço para Malária. Dos 877 pacientes no estudo, formam incluídos por conveniência 20.89% (179/876) com resultado positivo para malária.

7.2.10. Variáveis

Foram colhidas variáveis clínicas e sociodemográficas, tais como sexo, idade, residência, data de início dos sintomas e o tipo de sintomas que o paciente apresenta aquando da consulta (Questionário em anexo).

7.3. Plano de gestão e análise de dados

7.3.1. Bases de dados e variáveis

Um questionário foi elaborado para o estudo mãe com o objectivo de obter os dados clínicos, demográficos, socioeconómicos, data de início da febre e história de contacto com animais (Questionário em anexo), a mesma informação foi usada para este estudo secundário. As variáveis do estudo tais como dores de cabeça, febre, mialgia, artralgias, dados clínicos e sexo, idade, proveniência, dados demográficos, foram previamente colhidos no estudo mãe através dos questionários (anexo 1). Esta informação foi digitada em duplicado em bases de dados do programa Microsoft Office Access 2007 elaboradas previamente para o efeito, com os resultados das testagens laboratoriais adicionados na base de dados, foi posteriormente analisada a positividade (variáveis de desfecho) em relação as variáveis do estudo (variáveis independentes).

Variáveis independentes:

- Dados clínicos (cefaleia, artralgia, mialgia, febre, fotofobia, exantema)
- Dados demográficos (sexo, idade, raça, residência)
- Dados socioeconómicos (profissão, escolaridade)

Variáveis dependentes:

- IgM+ para ZIKV
- IgM+ para DEVN

- NS1+ para DENV
- IgM+ e NS1+ para DENV
- PCR para ZIKAV +
- PCR para DENV +

7.3.2. Procedimentos de análise de dados

Após a introdução dos dados, as bases de dados foram comparadas usando a função ANALYSIS do software EpiInfo versão 3.3.2, com o objetivo de eliminar qualquer erro da digitação. A base de dados está localizada no Instituto Nacional de Saúde, local onde o estudo decorreu.

Os dados foram analisados utilizando o pacote estatístico IBM SPSS (*IBM Statistical Package for the Social Sciences*) versão 26. O teste Mann Whitney e Kruskall Wallis foram utilizados para Comparar os grupos em relação as variáveis numéricas. A associação entre as variáveis categóricas foi determinada usando o teste Qui quadrado. A correlação de regressão linear foi utilizada para determinar a correlação entre variáveis numéricas. A análise de regressão logística foi utilizada para realizar a análise multivariada. O valor de $p< 0.05$ foi utilizado para determinar a significância estatística.

8. Limitações

Como limitações do estudo é possível que haja dificuldades na deteção dos anticorpos, antígeno viral ou acido nucleico viral, visto o tempo de vida das amostras, devido a instabilidade do mesmo. Contudo, foi garantido que as amostras estivessem conservadas a temperaturas adequadas e transportadas em gelo seco de formas a minimizar o risco de degradação do ácido nucleico. A positividade os anticorpos por ELISA, indica a probabilidade de infecção pelo agente, que por falta de condições não houve confirmação pelo ensaio de neutralização. Vírus da mesma família podem apresentar reações cruzadas nos testes de diagnósticos, portanto, de formas a minimizar o risco, foram usados testes de diagnóstico serológico com valores de especificidade e sensibilidade aceitáveis (acima de 90%). Foi também uma limitação do estudo a quantidade reduzida de reagentes de PCR que possibilitou apenas a testagem de cerca de 33% (288/877) das amostras do estudo.

9. Considerações éticas

Este estudo é um sub-estudo de um estudo mãe entitulado " *Epidemiology, Immunological and Entomological Investigation of Arbovirus in 11 Districts in Mozambique*", já teve aprovação por parte do Comité Institucional de Bioética para a Saúde do INS, com o número de aprovação CIBS-INS:040/CIBS-INS/2015 e pelo Comité Nacional de Bioética para Saúde (CNBS), com o número IRB00002657, referencia: 220/CNBS/2021 na sua versão 1.8 de 26 de Abril de 2021; o protocolo do sub-estudo teve aprovação a 01 de Fevereiro de 2022, pelo Comité Institucional de Bioética em Saúde da Faculdade de Medicina/Hospital Central de Maputo (CIBS FM&HCM) com o número de registo registado com o número CIBS FM&HCM/071-2021.

O recrutamento dos participantes foi de carácter voluntário, sendo que os mesmos assinaram o consentimento e as questões de confidencialidade foram cumpridas através do fornecimento de códigos as amostras de cada paciente no estudo. Para o presente estudo ancilar houve isenção de consentimento dos pacientes por se tratar de um sub-estudo. A informação contida nos questionários e nas bases provenientes do estudo principal são suficientes para a analise em causa, visto que o ZIKV está contido na lista das arboviroses em causa nesse estudo.

10. Potenciais riscos e como estes foram minimizados

Pelo desconforto ou dor ligeira no momento da colheita de sangue, de formas a evitar tais circunstâncias os técnicos envolvidos foram devidamente treinados.

11. Consentimento informado

O investigador principal do estudo mãe foi responsável por garantir que o protocolo, o formulário do consentimento informado e qualquer outra informação apresentada aos potenciais participantes (e.g., anúncios ou informação que suporta ou suplementa o consentimento informado) fossem revistos e aprovadas pelos Comités de Revisão Ética apropriados.

12. Confidencialidade

Toda a informação ou dados relativos aos participantes que possam identificá-los incluindo os questionários, as amostras e resultados foram mantidos em sigilo através da atribuição de códigos do paciente ao aceitar a participação do estudo; somente o investigador tem acesso às informações

dos pacientes. Os documentos que contêm a informação do participante foram guardados em um lugar seguro no INS e apenas o investigador principal tem acesso a eles. Quando o estudo terminar, os documentos contendo os resultados e informações pessoais serão destruídos. O relatório final do estudo não mencionará o nome dos participantes.

13. Potenciais benefícios

Não houve benefícios monetários ou incentivo neste estudo. No entanto, as amostras foram analisadas para algumas doenças já mencionadas, aumentando a informação sobre as causas da febre na população residente no bairro da Polana Caniço e deste modo, com o objectivo de melhorar o diagnóstico, tratamento e o manejo da síndrome febril em Moçambique. A participação neste estudo foi totalmente voluntária e não houve penalidade por não participação.

14. Resultados

14.1. Análise descritiva do grupo de estudo

14.1.1. Análise sociodemográfica

Foram incluídos neste estudo 877 indivíduos com idade superior aos 5 anos, onde, 60.16% (524/876) de indivíduos eram do sexo feminino com idade mediana de 27 anos (IQR: 21-39), o grupo etário de 25<50 anos de idade, constituiu o maior grupo etário com 46,1% (400/868) dos pacientes, seguido do grupo etário de 15<25 anos de idade com 39,3%(341/868) e os indivíduos com 50+ anos de idade 14,1%(122/868) (figura 8).

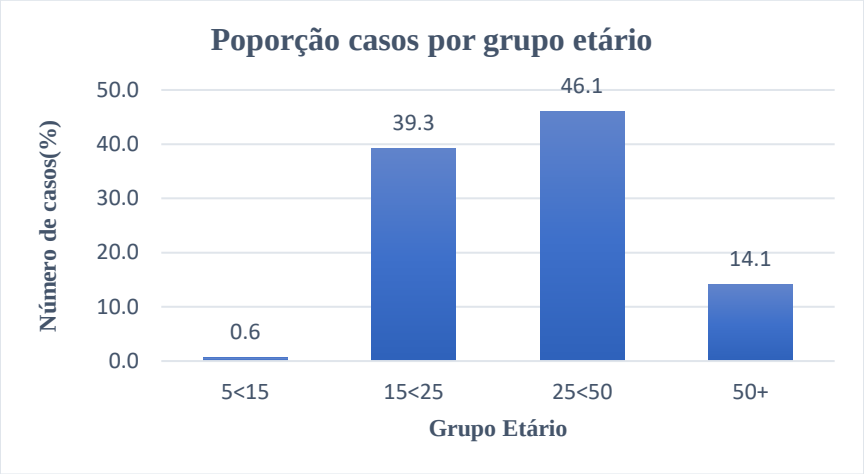


Figura 8- Proporção de casos por grupo etário

14.1.2. Análise descritiva dos sintomas

Foi realizada a analise descritiva dos principais sintomas que caracterizaram o grupo de estudo (figura 10), onde verificou-se que os sintomas mais comuns apresentados pelos pacientes do estudo foram calafrios com 60,4%(530/877) [IC95% 57.2 - 63.6)] , mialgia com 48,2% (423/877) [IC95% 44.9 – 51.5)] e artralgia com 25,2% (221/877) [IC95% 22.2 – 28.2)], o exantema foi reportado pelo grupo de estudo em proporção correspondente a 0,8% (7/877) [IC95% 0.2 – 1.4)].

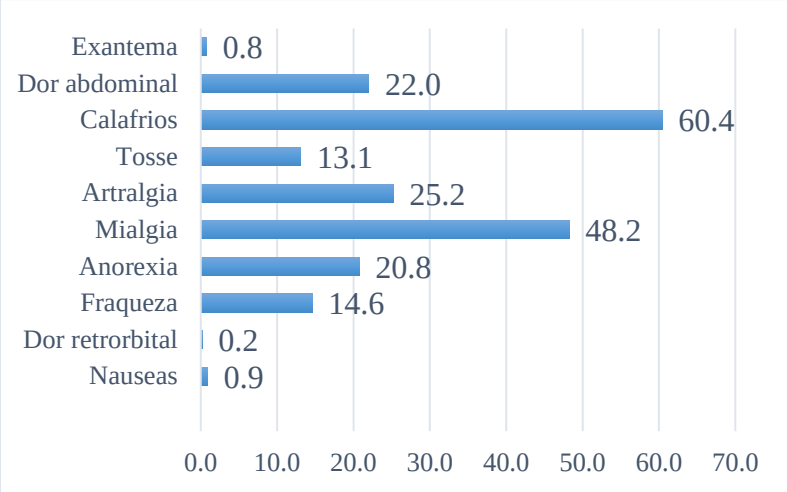


Figura 9-Caracteristicas clínicas dos pacientes do estudo

14.2. Ocorrência do vírus zika

Foi realizada a descrição do processo de testagem das amostras dos participantes do estudo (figura 11). As técnicas empregadas incluem o ELISA para a detecção de anticorpos IgM anti-zika e anti-dengue, a análise do antígeno viral NS1 do vírus dengue, e a RT-PCR em tempo real para a detecção qualitativa do ácido nucleico viral do ZIKV e DENV.

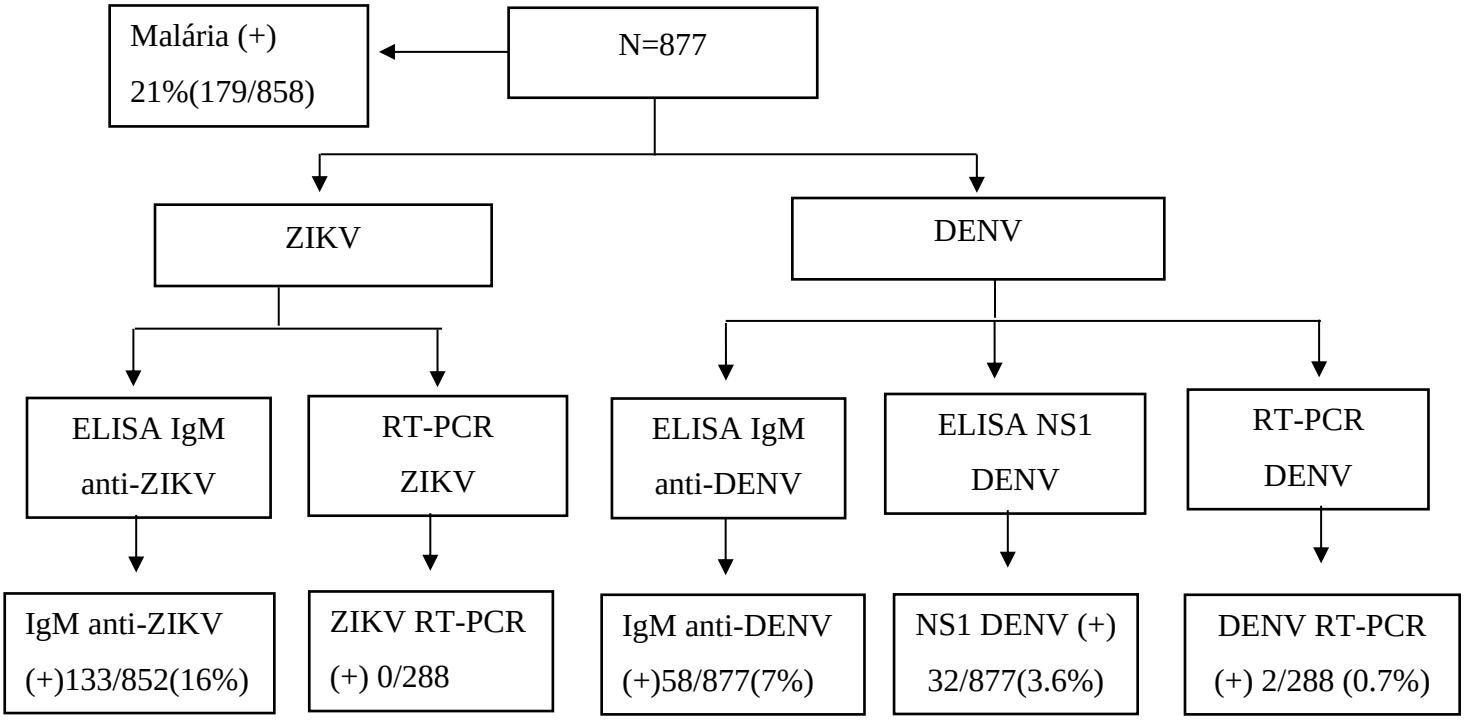


Figura 10- Fluxograma de testagem de amostras dos participantes do estudo.

Dos resultados laboratoriais por ELISA foi observada uma frequência de positividade de 16% (133/852) [IC95% 13.2 – 18.0)] para os anticorpos IgM anti-zika, 7% (58/877) [IC95% 13.2 – 18.0)] para os anticorpos IgM anti-dengue, 3,6% (32/877) [IC95% 2.4 – 4.8)] para o antígeno NS1 do vírus dengue (figura 11), 21%(179/858) [IC95% 18.2 – 23.6)] apresentavam positividade para malária, dos resultados da RT-PCR em tempo real obtidos, nenhuma amostra foi positiva para o vírus zika e 0,7% (2/288) [IC95% 0 – 1.7)] amostras foram positivas para o vírus dengue.

14.2.1. Co-ocorrência do vírus zika, dengue e malária

Foi realizada a discriminação por patógeno, pelo tipo de infecção (monoinfecção e coinfecção), Onde, os casos de monoinfecções por zika, dengue e malária corresponderam 7%(60/852), 7%(61/877) e 12,2%(105/858) respectivamente. Para as coinfecções foi identificada uma positividade correspondente a 2,1%(18/859) para ZIKV+DENV, 8%(65/812) ZIKV+MAL, 2,3%(20/857) para DENV+MAL, 1,2%(10/867) para ZIKV+DENV+MAL (figura 12).

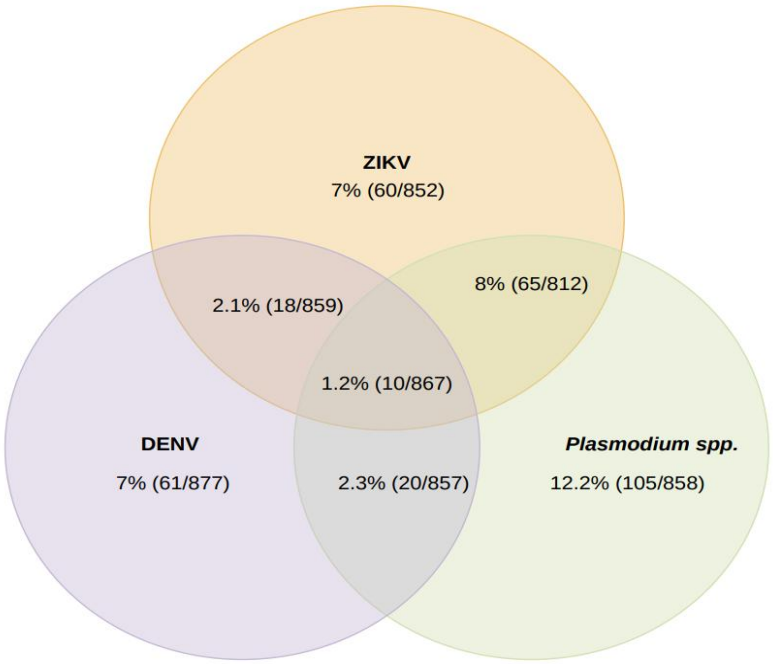


Figura 11- Positividade por patógeno e coinfecções da população do estudo. O valor do denominador exclui os casos indeterminados, portanto, este irá variar de acordo com o alvo de testagem.

14.3. Análise de tendências temporais dos casos positivos (2016-2018)

Foi realizada a analise de tendências temporais da positividade para vírus ZIKV e DENV de 2016 a 2018 conforme a figura 13, na qual, pode-se verificar uma positividade durante todos os anos de ambos vírus.

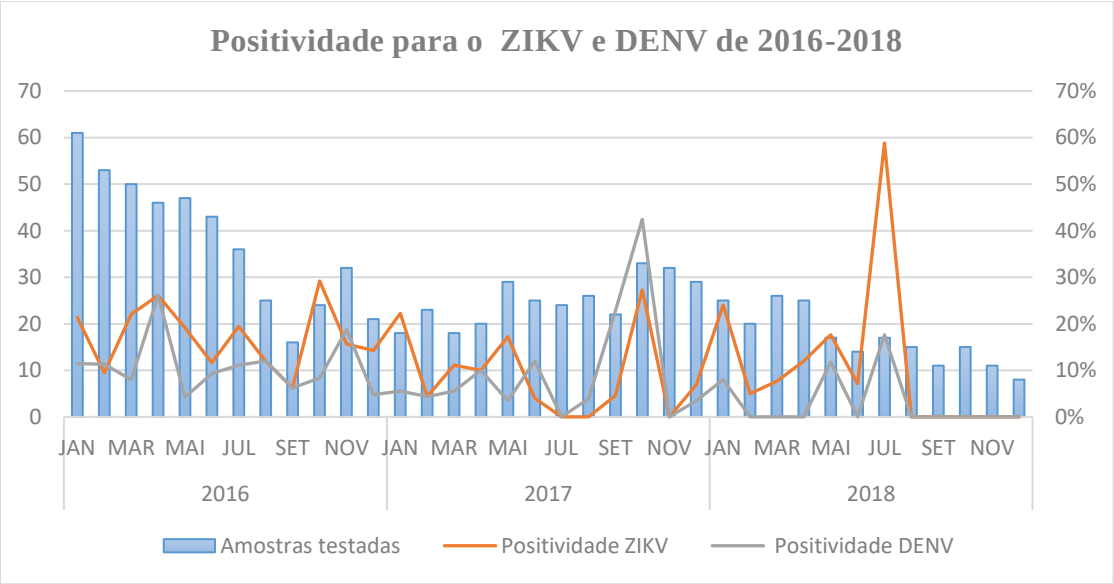


Figura 12- Analise de tendências temporais da positividade.

A positividade para o ZIKV no ano 2017 verificou-se em ambas epocas seca e chuvosa, com excepção dos meses de Julho, Agosto e Novembro do ano em causa. Por outro lado no ano de 2018, a positividade foi observada até Julho, sendo o mês com o maior número positividade.

Na análise temporal dos casos do DENV pode-se verificar uma positividade em ambas epocas secas e chuvosa nos anos de 2016 e 2017. Por outro lado, em 2018 a positividade foi observada nos meses de Janeiro, Maio e Julho apenas.

14.4. Perfil sociodemográfico e clínico do grupo de estudo

14.4.1. Perfil sociodemográfico e clínico dos pacientes diagnosticados com vírus zika

Dos 852 indivíduos testados para ZIKV, foi identificada uma positividade correspondente a 16% (133/852). Nas tabelas 2 e 3 (a e b), estão apresentadas as características sociodemográficas e clínicas que descrevem os grupos em relação a positividade pelo ZIKV.

Tabela 2- Associação entre variáveis demográficas e com a infecção pelo ZIKV

Característica	Negativo, N = 719[1]	Positivo, N = 133[1]	p-value[2]
Grupo etário			**0.005**
5<15	4 (0.6%)	0 (0%)	
15 < 25	265 (37%)	65 (49%)	
25 < 50	346 (49%)	43 (33%)	
50+	97 (14%)	24 (18%)	
Sexo			**0.002**
Feminino	447 (62%)	63 (48%)	
Masculino	269 (38%)	69 (52%)	
Escolaridade			0.775
Nenhum	46 (7.6%)	6 (5.0%)	
Primário	298 (49%)	56 (47%)	
Secundário	244 (40%)	55 (46%)	
Técnico	7 (1.2%)	1 (0.8%)	
Universitário	10 (1.7%)	2 (1.7%)	
Contacto com ratos			0.426
Não	416 (67%)	80 (71%)	
Sim	205 (33%)	33 (29%)	
Contacto com aves			0.652
Não	505 (81%)	90 (80%)	
Sim	115 (19%)	23 (20%)	
Contacto com mosquitos			0.143
Não	14 (2.0%)	0 (0%)	
Sim	670 (98%)	128 (100%)	
Uso de rede mosquiteira			0.133
Não	65 (11%)	19 (16%)	
Sim	512 (89%)	98 (84%)	
Repelente			0.446
Não	514 (89%)	107 (91%)	
Sim	63 (11%)	10 (8.5%)	
Inseticida intra domiciliar			>0.999
Não	563 (98%)	115 (98%)	
Sim	14 (2.4%)	2 (1.7%)	
Inseticida extra domiciliar			>0.999
Não	574 (99%)	117 (100%)	
Sim	3 (0.5%)	0 (0%)	

[1] n (%)

[2] Fisher's exact test; Pearson's Chi-squared test

Dos factores sociodemográficos analisados observa-se que a infecção pelo Zika esteve associada as variáveis referentes ao grupo etário, Sexo, com valores de p correspondentes a 0.005 e 0.002 respectivamente. Por outro lado, todos indivíduos positivos para o ZIKV tiveram contacto com mosquitos.

Tabela 3.a- Características clínicas do grupo com infecção pelo ZIKV

Característica	**Negativo, N = 719[1]**	**Positivo, N = 133[1]**	**p-value[2]**
Cefaleia			0.404
Não	22 (3.6%)	2 (1.6%)	
Sim	584 (96%)	120 (98%)	
Anorexia			0.462
Não	458 (76%)	96 (79%)	
Sim	148 (24%)	26 (21%)	
Nausea			0.632
Não	81 (93%)	17 (89%)	
Sim	6 (6.9%)	2 (11%)	
Fraqueza			0.463
Não	500 (83%)	104 (85%)	
Sim	106 (17%)	18 (15%)	
Calafrio			0.804
Não	177 (29%)	37 (30%)	
Sim	429 (71%)	85 (70%)	
Mialgia			0.939
Não	261 (43%)	53 (43%)	
Sim	345 (57%)	69 (57%)	
Artralgia			**0.002**
Não	442 (73%)	72 (59%)	
Sim	164 (27%)	50 (41%)	
Exantema			0.333
Não	601 (99%)	120 (98%)	
Sim	5 (0.8%)	2 (1.6%)	
[1] n (%)			
[2] Fisher's exact test; Pearson's Chi-squared test			

Tabela 4.b- Características clínicas do grupo com infecção pelo ZIKV (continuação)

Característica	Negativo, N = 719[1]	Positivo, N = 133[1]	p-value[2]
Dor retroorbital			>0.999
Não	604 (100%)	122 (100%)	
Sim	2 (0.3%)	0 (0%)	
Dor na garganta			0.701
Não	595 (98%)	121 (99%)	
Sim	11 (1.8%)	1 (0.8%)	
Tosse			**0.006**
Não	502 (83%)	113 (93%)	
Sim	104 (17%)	9 (7.4%)	
Rinorreia			>0.999
Não	592 (98%)	120 (98%)	
Sim	14 (2.3%)	2 (1.6%)	
Congestão nasal			0.054
Não	542 (89%)	116 (95%)	
Sim	64 (11%)	6 (4.9%)	
Dor toráxica			>0.999
Não	602 (99%)	122 (100%)	
Sim	4 (0.7%)	0 (0%)	
vomito			0.189
Não	533 (88%)	102 (84%)	
Sim	73 (12%)	20 (16%)	
Diarreia			0.742
Não	533 (88%)	106 (87%)	
Sim	73 (12%)	16 (13%)	
Dor abdominal			0.384
Não	455 (75%)	87 (71%)	
Sim	151 (25%)	35 (29%)	

[1] n (%)

[2] Fisher's exact test; Pearson's Chi-squared test

Os resultados das análises dos dados clinicos mostram que a infecção pelo Zika esteve associada as variáveis referentes a artralgia e tosse, com valores de *p* correspondentes a 0.002 e 0.006 respectivamente.

14.4.1.1. Regressão logística multivariada para o ZIKV

As variáveis sociodemográficas e clínicas do grupo de estudo, nomeadamente, o grupo etário, sexo, artralgia e tosse consistem em factores associados ao zika, contudo, ser do grupo etário dos 25<50 anos, apresentar tosse e congestão nasal constituem factores não preditores a infecção pelo ZIKV, conforme descrito na tabela 4. Portanto, o sexo masculino e a artralgia consistem em factores de risco ou preditores a infecção pelo ZIKV.

Tabela 5- Análise no modelo de regressão logística

Característica	**OR[1]**	**95% CI[1]**	**p-value**
Grupo etário			
15 < 25	—	—	
25 < 50	0.51	0.33, 0.77	**0.001**
5<15	0.00		>0.9
50+	1.01	0.59, 1.68	>0.9
Sexo			
Feminino	—	—	
Masculino	1.82	1.25, 2.65	**0.002**
Artralgia			
Não	—	—	
Sim	1.87	1.25, 2.79	**0.002**
Tosse			
Não	—	—	
Sim	0.38	0.18, 0.74	**0.008**

[1] OR = Odds Ratio, CI = Intervalo de Confiança

A tosse e a congestão nasal, são factores não preditores da infecção pelo ZIKV, isto é, individuos com tosse e congestão nasal apresentam uma chance de não ter infecção pelo ZIKV de 62% e 56% respectivamente. Por outro lado, as chances de ter ZIKV aumentam em 87% e 82% em indivíduos com artralgia e do sexo masculino respectivamente.

14.4.2. Perfil sociodemográfico e clínico dos pacientes diagnosticados com vírus dengue

Dos 877 indivíduos testados para dengue, foi identificada uma positividade correspondente a 10% (89/877). Nas tabelas 5 (a e b) e 6 (a e b), estão descritas as características sociodemográficas e clínicas que descrevem os grupos em relação a positividade pelo vírus dengue.

Tabela 6.a- Características sociodemográficas do grupo com infecção pelo DENV.

Característica	**Negativo, N = 788[1]**	**Positivo, N = 89[1]**	**p-value[2]**
Grupo etário			**0.010**
15 < 25	300 (39%)	41 (46%)	
25 < 50	359 (46%)	41 (46%)	
5<15	3 (0.4%)	2 (2.2%)	
50+	117 (15%)	5 (5.6%)	
Sexo			0.132
Feminino	478 (61%)	47 (53%)	
Masculino	305 (39%)	42 (47%)	
Escolaridade			0.070
Nenhum	50 (7.4%)	2 (2.9%)	
Primário	336 (49%)	27 (39%)	
Secundário	273 (40%)	40 (58%)	
Técnico	8 (1.2%)	0 (0%)	
Universitário	12 (1.8%)	0 (0%)	
Contacto com ratos			0.680
Não	457 (68%)	54 (66%)	
Sim	214 (32%)	28 (34%)	
Contacto com aves			0.635
Não	541 (81%)	68 (83%)	
Sim	129 (19%)	14 (17%)	
Contacto com mosquitos			0.383
Não	14 (1.9%)	0 (0%)	
Sim	733 (98%)	88 (100%)	

[1] n (%)

[2] Fisher's exact test; Pearson's Chi-squared test

Tabela 7.b- Características sociodemográficas do grupo com infecção pelo DENV (continuação).

Característica	Negativo, N = 788[1]	Positivo, N = 89[1]	p-value[2]
Rede mosqueteira			0.956
Não	79 (12%)	8 (12%)	
Sim	570 (88%)	59 (88%)	
Repelente			0.431
Não	582 (90%)	58 (87%)	
Sim	67 (10%)	9 (13%)	
Inseticida intra domiciliar			0.182
Não	636 (98%)	64 (96%)	
Sim	13 (2.0%)	3 (4.5%)	
Inseticida extra domiciliar			>0.999
Não	646 (100%)	67 (100%)	
Sim	3 (0.5%)	0 (0%)	
[1] n (%)			
[2] Fisher's exact test; Pearson's Chi-squared test			

Nas análises das variáveis sociodemográficas do estudo, observa-se associação a positividade pelo DENV no grupo etário com um valor de *p* correspondente a 0,010. Para, as restantes variáveis não foram observadas diferenças estatisticamente significativas.

Tabela 8.a- Características clínicas do grupo com infecção pelo DENV

Característica	Negativo, N = 788[1]	Positivo, N = 89[1]	p-value[2]
Cefaleia			0.276
Não	21 (3.1%)	4 (5.8%)	
Sim	661 (97%)	65 (94%)	
Anorexia			0.832
Não	516 (76%)	53 (77%)	
Sim	166 (24%)	16 (23%)	
Náusea			>0.999
Não	91 (93%)	11 (92%)	
Sim	7 (7.1%)	1 (8.3%)	
Fraqueza			**0.015**
Não	573 (84%)	50 (72%)	
Sim	109 (16%)	19 (28%)	
[1] n (%)			
[2] Fisher's exact test; Pearson's Chi-squared test			

Tabela 9.b- Características clínicas do grupo com infecção pelo DENV (continuação)

Característica	Negativo, N = 788[1]	Positivo, N = 89[1]	p-value[2]
Calafrio			0.455
Não	198 (29%)	23 (33%)	
Sim	484 (71%)	46 (67%)	
Mialgia			0.292
Não	302 (44%)	26 (38%)	
Sim	380 (56%)	43 (62%)	
Atralgia			0.847
Não	482 (71%)	48 (70%)	
Sim	200 (29%)	21 (30%)	
Exantema			>0.999
Não	675 (99%)	69 (100%)	
Sim	7 (1.0%)	0 (0%)	
Dor retroorbital			>0.999
Não	680 (100%)	69 (100%)	
Sim	2 (0.3%)	0 (0%)	
Dor na garganta			>0.999
Não	671 (98%)	68 (99%)	
Sim	11 (1.6%)	1 (1.4%)	
Tosse			0.368
Não	575 (84%)	61 (88%)	
Sim	107 (16%)	8 (12%)	
Não	667 (98%)	67 (97%)	
Sim	15 (2.2%)	2 (2.9%)	
Congestão nasal			0.552
Não	618 (91%)	61 (88%)	
Sim	64 (9.4%)	8 (12%)	
Dor toráxica			0.320
Não	679 (100%)	68 (99%)	
Sim	3 (0.4%)	1 (1.4%)	
Dor abdominal			0.430
Não	504 (74%)	54 (78%)	
Sim	178 (26%)	15 (22%)	

[1] n (%)

[2] Fisher's exact test; Pearson's Chi-squared test

Nas análises das variáveis clínicas do estudo, observa-se associação a positividade pelo DENV na variável fraqueza, o com um valor de *p* correspondente a 0,015. Para, as restantes variáveis não foram observadas diferenças estatisticamente significativas.

14.4.2.1. Regressão logística multivariada para o DENV

Foram analisadas as variáveis grupo etário e fraqueza, que consistem em factores associados a dengue, conforme descrito na tabela 7.

Tabela 10- Factores de risco para Dengue

Características	**OR[1]**	**95% CI[1]**	**p-value**
Grupo etário			
15 < 25	—	—	
25 < 50	0.84	0.53, 1.32	0.4
5<15	4.88	0.63, 30.3	0.088
50+	0.31	0.11, 0.74	**0.017**
Fraqueza			
Não	—	—	
Sim	2.00	1.11, 3.47	**0.017**
[1] OR = Odds Ratio, CI = Intervalo de Confiança			

A fraqueza está associada a infeção pelo DENV, isto é, é um factor pretidor a infecção pelo DENV, por outro lado, os indivíduos com mais de 50 anos apresentam maior risco de infecção pelo DENV quando comparado com indivíduos dos outros grupos etários.

14.4.3. Perfil sociodemográfico e clínico dos pacientes diagnosticados com vírus Zika e Dengue

Nos 877 indivíduos testados para ZIKV e DENV, foi identificada uma positividade correspondente a 2,1% (18/877). Nas tabelas 8 (a e b) e 9 (a e b) estão descritas as características sociodemográficas e clínicas que descrevem os grupos em relação a coinfecção pelos vírus dengue e zika.

Tabela 11.a- Características sociodemográficas do grupo com coinfecção pelo vírus zika e dengue

Característica	**Negativo, N = 859[1]**	**Positivo, N = 18[1]**	***p-value*[2]**
Grupo etário			0.094
15 < 25	329 (39%)	12 (67%)	
25 < 50	396 (47%)	4 (22%)	
5<15	5 (0.6%)	0 (0%)	
50+	120 (14%)	2 (11%)	
Sexo			0.167
Feminino	517 (61%)	8 (44%)	
Masculino	337 (39%)	10 (56%)	
Escolaridade			0.506
Nenhum	52 (7.1%)	0 (0%)	
Primário	358 (49%)	5 (36%)	
Secundário	304 (41%)	9 (64%)	
Técnico	8 (1.1%)	0 (0%)	
Universitário	12 (1.6%)	0 (0%)	
Contacto com rato			**0.028**
Não	496 (67%)	15 (94%)	
Sim	241 (33%)	1 (6.3%)	
Contacto com aves			0.522
Não	597 (81%)	12 (75%)	
Sim	139 (19%)	4 (25%)	

[1] n (%)

[2] Fisher's exact test; Pearson's Chi-squared test

Tabela 12.b- Características sociodemográficas do grupo com coinfecção pelo vírus zika e dengue (continuação)

Característica	Negativo, N = 859[1]	Positivo, N = 18[1]	*p-value*[2]
Contacto com mosquitos			>0.999
Não	14 (1.7%)	0 (0%)	
Sim	803 (98%)	18 (100%)	
Rede mosquiteira			**0.019**
Não	82 (12%)	5 (36%)	
Sim	620 (88%)	9 (64%)	
Uso de repelente			0.051
Não	630 (90%)	10 (71%)	
Sim	72 (10%)	4 (29%)	
Inseticida intra domiciliar			>0.999
Não	686 (98%)	14 (100%)	
Sim	16 (2.3%)	0 (0%)	
Inseticida extra domiciliar			>0.999
Não	699 (100%)	14 (100%)	
Sim	3 (0.4%)	0 (0%)	

[1] n (%)

[2] Fisher's exact test; Pearson's Chi-squared test

Nas análises das variáveis sociodemográficas do estudo, observa-se associação a positividade pela coinfecção ZIKV e DENV, no contacto com ratos e uso de rede mosquiteira com um valores de *p* correspondentes a 0,028 e 0,019, respectivamente. Para, as restantes variáveis não foram observadas diferenças estatisticamente significativas.

Tabela 13.a- Características clínicas do grupo com coinfecção pelo vírus ZIKV e DENV

Característica	negativo, N = 859[1]	positivo, N = 18[1]	p-value[2]
Cefaleia			0.380
Não	24 (3.3%)	1 (7.1%)	
Sim	713 (97%)	13 (93%)	
Anorexia			0.753
Não	559 (76%)	10 (71%)	
Sim	178 (24%)	4 (29%)	
Nausea			0.264
Não	99 (93%)	3 (75%)	
Sim	7 (6.6%)	1 (25%)	
Fraqueza			>0.999
Não	611 (83%)	12 (86%)	
Sim	126 (17%)	2 (14%)	
Calafrio			0.768
Não	218 (30%)	3 (21%)	
Sim	519 (70%)	11 (79%)	
Mialgia			0.630
Não	321 (44%)	7 (50%)	
Sim	416 (56%)	7 (50%)	
Artralgia			0.373
Não	522 (71%)	8 (57%)	
Sim	215 (29%)	6 (43%)	
Exantema			>0.999
Não	730 (99%)	14 (100%)	
Dor retroorbital			>0.999
Não	735 (100%)	14 (100%)	
Sim	2 (0.3%)	0 (0%)	

[1] n (%)

[2] Fisher's exact test; Pearson's Chi-squared test

Tabela 14.b- Características clínicas do grupo com coinfecção pelo vírus ZIKV e DENV (continuação)

Característica	negativo, N = 859[1]	positivo, N = 18[1]	p-value[2]
Dor na garganta			>0.999
Não	725 (98%)	14 (100%)	
Sim	12 (1.6%)	0 (0%)	
Tosse			0.144
Não	622 (84%)	14 (100%)	
Sim	115 (16%)	0 (0%)	
Rinorreia			>0.999
Não	720 (98%)	14 (100%)	
Sim	17 (2.3%)	0 (0%)	
Congestão nasal			0.384
Não	665 (90%)	14 (100%)	
Sim	72 (9.8%)	0 (0%)	
Dor toráxica			>0.999
Não	733 (99%)	14 (100%)	
Sim	4 (0.5%)	0 (0%)	
Vomito			0.402
Não	646 (88%)	11 (79%)	
Sim	91 (12%)	3 (21%)	
Diarreia			0.083
Não	648 (88%)	10 (71%)	
Sim	89 (12%)	4 (29%)	
Dor abdominal			0.367
Não	549 (74%)	9 (64%)	
Sim	188 (26%)	5 (36%)	

[1] n (%)

[2] Fisher's exact test; Pearson's Chi-squared test

Nas análises das variáveis clínicas do estudo, não foi observada associação a positividade pela coinfecção ZIKV e DENV, isto é, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos.

14.4.3.1. Regressão logística multivariada para o ZIKV e DENV

Foram analisadas as variáveis contacto com ratos e uso da rede mosquiteira, que apresentaram associação a coinfecção ZIKV e DENV, conforme descrito na tabela 10.

Tabela 15- Factores de risco para Zika + Degue

Características	**OR[1]**	**95% CI[1]**	**p-value**
rato			
Não	—	—	
Sim	0.14	0.01, 0.68	0.055
Rede mosquiteira			
Não	—	—	
Sim	0.24	0.08, 0.79	**0.012**

[1] OR = Odds Ratio, CI = Intervalo de Confiança

O contacto com ratos e o uso da rede mosquiteira concistem em factores não preditivos a coinfecção pelo ZIKV e DENV, isto é, a existência de ratos não está associada ao risco de trasmissão do ZIKV, por outro lado o uso de redes mosquiteiras constitui uma barreira de protecção contra a transmissão do ZIKV.

14.4.4. Perfil sociodemográfico e clínico dos pacientes diagnosticados com coinfecção pelo ZIKV e Malária

Dos 877 indivíduos testados para ZIKV e malária, foi encontrada uma positividade de 8% (65/877). Nas tabelas 11 (a e b) e 12 (a e b) estão descritas as características sociodemográficas e clínicas que descrevem os grupos em relação a coinfecção pelo vírus zika e malária.

Tabela 16.a- Características sociodemográficas do grupo com coinfecção pelo vírus ZIKV e malária

Característica	Negativo, N = 812[1]	Positivo, N = 65[1]	p-value[2]
Grupo etário			**0.027**
15 < 25	308 (38%)	33 (51%)	
25 < 50	381 (47%)	19 (29%)	
5<15	5 (0.6%)	0 (0%)	
50+	109 (14%)	13 (20%)	
Sexo			**0.003**
Feminino	497 (62%)	28 (43%)	
Masculino	310 (38%)	37 (57%)	
Escolaridade			0.305
Nenhum	51 (7.4%)	1 (1.6%)	
Primário	331 (48%)	32 (51%)	
Secundário	284 (41%)	29 (46%)	
Técnico	7 (1.0%)	1 (1.6%)	
Universitário	12 (1.8%)	0 (0%)	
Contacto com ratos			0.753
Não	474 (68%)	37 (70%)	
Sim	226 (32%)	16 (30%)	
Contacto com aves			0.155
Não	570 (82%)	39 (74%)	
Sim	129 (18%)	14 (26%)	
Contacto com mosquitos			0.616
Não	14 (1.8%)	0 (0%)	
Sim	757 (98%)	64 (100%)	
Uso de rede mosquiteira			0.069
Não	75 (11%)	12 (19%)	
Sim	579 (89%)	50 (81%)	

[1] n (%)

[2] Fisher's exact test; Pearson's Chi-squared test

Tabela 17.b- Características sociodemográficas do grupo com coinfecção pelo vírus ZIKV e malária (continuação)

Característica	Negativo, N = 812[1]	Positivo, N = 65[1]	p-value[2]
Uso de repelente			0.802
Não	584 (89%)	56 (90%)	
Sim	70 (11%)	6 (9.7%)	
Insecticida Intra domiciliar			0.641
Não	640 (98%)	60 (97%)	
Sim	14 (2.1%)	2 (3.2%)	
Inseticida extra domiciliar			>0.999
Não	651 (100%)	62 (100%)	
Sim	3 (0.5%)	0 (0%)	

[1] n (%)

[2] Fisher's exact test; Pearson's Chi-squared test

Nas análises das variáveis sociodemográficas do estudo, observa-se associação a positividade pela coinfecção ZIKV e malária, no grupo etário e sexo, com um valores de *p* correspondentes a 0,027 e 0,003, respectivamente. Para, as restantes variáveis não foram observadas diferenças estatisticamente significativas.

Tabela 18.a- Características clínicas do grupo com coinfecção pelo vírus ZIKV e malária

Característica	negativo, N = 812[1]	positivo, N = 65[1]	p-value[2]
Cefaleia			>0.999
Não	23 (3.3%)	2 (3.1%)	
Sim	664 (97%)	62 (97%)	
Anorexia			**0.047**
Não	514 (75%)	55 (86%)	
Sim	173 (25%)	9 (14%)	
Fraqueza			**0.040**
Não	564 (82%)	59 (92%)	
Sim	123 (18%)	5 (7.8%)	
Calafrio			0.050
Não	209 (30%)	12 (19%)	
Sim	478 (70%)	52 (81%)	

[1] n (%)

[2] Fisher's exact test; Pearson's Chi-squared test

Tabela 19.b- Características clínicas do grupo com coinfecção pelo vírus ZIKV e malária (continuação)

Característica	negativo, N = 812[1]	positivo, N = 65[1]	p-value[2]
Mialgia			0.286
Não	296 (43%)	32 (50%)	
Sim	391 (57%)	32 (50%)	
Artralgia			**0.019**
Não	493 (72%)	37 (58%)	
Sim	194 (28%)	27 (42%)	
Exantema			0.465
Não	681 (99%)	63 (98%)	
Sim	6 (0.9%)	1 (1.6%)	
Dor retroorbital			>0.999
Não	685 (100%)	64 (100%)	
Sim	2 (0.3%)	0 (0%)	
Dor na garganta			0.613
Não	675 (98%)	64 (100%)	
Sim	12 (1.7%)	0 (0%)	
Tosse			**0.005**
Não	574 (84%)	62 (97%)	
Sim	113 (16%)	2 (3.1%)	
Rinorreia			>0.999
Não	671 (98%)	63 (98%)	
Sim	16 (2.3%)	1 (1.6%)	
Congestão nasal			0.066
Não	617 (90%)	62 (97%)	
Sim	70 (10%)	2 (3.1%)	
Vomito			0.115
Não	605 (88%)	52 (81%)	
Sim	82 (12%)	12 (19%)	
Diarreia			0.410
Não	604 (88%)	54 (84%)	
Sim	83 (12%)	10 (16%)	
Dor abdominal			0.445
Não	513 (75%)	45 (70%)	
Sim	174 (25%)	19 (30%)	

[1] n (%)

[2] Fisher's exact test; Pearson's Chi-squared test

Nas analises das variáveis clínicas do estudo, observa-se associação a positividade pela coinfecção ZIKV e malária, na anorexia, fraqueza, artralgia e tosse, com um valores de *p* correspondentes a 0.047, 0.040, 0.019 e 0.005, respectivamente. Para, as restantes variáveis não foram observadas diferenças estatisticamente significativas.

14.5.4.1. Regressão logística multivariada para a coinfecção ZIKV e malária

As variáveis grupo etário, sexo, anorexia, fraqueza, artralgia e tosse consistem em factores associados a coninfecção zika e malária, conforme descrito na tabela 13.

Tabela 20- Factores de risco coinfecção ZIKV e Malária

Característica	OR[1]	95% CI[1]	p-value
Grupo etário			
15 < 25	—	—	
25 < 50	0.47	0.26, 0.83	**0.010**
5<15	0.00		>0.9
50+	1.11	0.55, 2.15	0.8
Sexo			
Feminino	—	—	
Masculino	2.12	1.27, 3.56	**0.004**
Fraqueza			
Não	—	—	
Sim	0.39	0.13, 0.90	**0.047**
Artralgia			
Não	—	—	
Sim	1.85	1.09, 3.12	**0.021**
Tosse			
Não	—	—	
Sim	0.16	0.03, 0.53	**0.013**

[1] OR = Odds Ratio, CI = Intervalo de Confiança

O sexo masculino e a artralgia, constituem factores de risco e preditores, a coinfecção ZIKV e malária. Por outro lado, ser parte do grupo etário dos 25 < 50 anos de idade, anorexia, fraqueza e tosse, constituem factores não preditores a coinfecção ZIKV e malária.

14.4.5. Perfil sociodemográfico e clínico dos pacientes diagnosticados com coinfecção pelo ZIKV+ Malaria + DENV

Dos 877 indivíduos testados para ZIKV, DENV e malária, foi encontrada uma positividade de 1,2% (10/877). A distribuição da coinfecção ZIKV+Malária+DENV ocorre de forma regular ou similar entre as variáveis analisadas, não foi idenficada uma relação de dependência entre os casos de coinfecção ZIKV+Malária+DENV e as demais variáveis, isto é, não existem factores associados a coinfecção de ZIKV+Malaria+DENV no grupo de estudo.

14.4.6. Perfil sociodemográfico e clínico dos pacientes diagnosticados com coinfecção pelo DENV + Malária

Dos 877 indivíduos testados para DENV e malária, foi identificada uma positividade correspondente a 2,3% (20/877). Não foi identificada associação dos casos de coinfecção DENV + Malária em relação as variáveis independentes do estudo.

15. Discussão

15.1. Positividade para o vírus zika em pacientes com febre atendidos no HGPC

O presente estudo mostra uma evidência serológica da circulação do ZIKV em pacientes febris, com uma positividade correspondente a 16% (133/852) para os anticorpos IgM anti-zika, o que pressupõe ocorrência deste vírus no bairro da Polana caniço na província de Maputo em Moçambique. Estudo anteriores realizados em Moçambique indicam a frequencia de 4,9% em amostras oriundas de distritos das regiões do sul, centro e norte. Em Tânzania a frequência da positividade para os anticorpos anti ZIKV foi de 6,8%; nos Camarões, a frequência encontrada foi de 10%, enquanto que na República Democrática do Congo a frequência da positividade foi de 1,7% e 3,6% para área rural e urbana, respectivamente, estes dados sugerem alta circulação de ZIKV na região Africana, quando comparada com estudos anteriores (Gake *et al.*, 2017; Chelene *et al.*, 2019; Mwanyika *et al.*, 2021; Nurtop *et al.*, no date). Por outro lado, estudos que documentaram altas frequências de positividade, também foram reportados na Nigéria e na Micronésia, onde foi encontrada uma positividade correspondente a 31% e 37,7%, respectivamente, em relação ao ZIKV (Fagbami, 1979; Musso and Gubler, 2016; Adam and Jassoy, 2021), mostrando que o ZIKV constitui uma preocupação de saúde pública no país com enfoque às complicações graves associadas à infecção durante a gravidez. Uma possível explicação para a baixa prevalência no país, quando comparado aos estudos da Nigéria e Micronésia, pode ser referente ao facto deste vírus poder ser assintomático ou apresentar sintomas semelhantes a outras doenças, levando a subnotificação ou diagnóstico incorrecto, por outro lado, o tempo de vida das amostras pode ter contribuído para a danificação dos ácidos nucleicos, assim como das imunoglobulinas.

A positividade para o ZIKV, é também suportada por estudos entomológicos realizados na mesma área do estudo e no país, que evidenciaram a presença de mosquitos Ae. *aegypti* e Ae. *albopictus*, sendo que a presença destes vectores sugerem não só a ocorrência do ZIKV, assim como a do DENV e CHIKV o que contribui consideravelmente para o aumento do risco de transmissão destas arboviroses (Higa *et al.*, 2015; Kampango and Abílio, 2016; Abílio *et al.*, 2018, 2020). As medidas de controlo de vetores são elementos-chave para a propagação do ZIKV, contudo, pela ineficácia dos métodos tradicionais existentes, agravado pela pobreza e infra-estruturas inadequadas ou danificadas, a urbanização desordenada e as condições higienico-sanitárias precárias, que propiciam locais de desenvolvimento de larvas de mosquitos, adjuvado pelo movimento humano

e o movimento intercontinental que contribui para a importação de casos, tornam o ZIKV uma ameaça.

A positividade para o ZIKV tem sido relacionada com a época chuvosa e quente o que reflete na ecologia dos vectores, *Aedes aegypti* e *Aedes Albopictus*, que se reproduzem em poças de água e temperaturas em torno de 25–30°C, o que acelera o ciclo reprodutivo, aumenta a infectividade e a transmissibilidade, trata-se de um período favorável para a multiplicação vectorial (Diallo *et al.*, 2014; Freitas *et al.*, 2019). Durante o surto do ZIKV no periodo de 2015-2016, em Cabo Verde onde foi identificada a circulação do ZIKV da linhagem asiática, onde foram observados picos nas semanas epidemiológicas 5,6,14 e 18 de 2016 correspondentes aos meses de Fevereiro, Abril e Maio (Faye *et al.*, 2020); por outro lado, no surto reportado nos estados federados da Micronesia, na ilha do Yap em 2007, foi determinada maior frequência dos casos prováveis e confirmados no período entre Abril e Julho, sendo que os picos foram observados em Maio e Junho (Mark R Duffy *et al.*, 2009). Um estudo entomológico realizado por Musso e Gubler (2016) em Senegal, mostrou a distribuição sazonal da taxa de infecção pelo ZIKV em mosquitos no qual foram observados dois picos de amplificação, em junho e entre setembro e dezembro, contudo, o isolamento de um vírus de um mosquito não é evidência de que seja um vetor do vírus, sendo necessário, demonstrar a sua capacidade e competência de transmissão.

Durante a tripla epidemia de ZIKV, DENV e CHIKV no Brasil entre 2015-2016 observou-se que o número de casos das três doenças diminuiu depois de Maio, coincidindo com o fim da estação chuvosa e quente (Freitas *et al.*, 2019). A similaridade do Brasil, a época chuvosa em Moçambique começa de Outubro a Março (INAM *et al.*, 2023), contudo a positividade não variou muito em função da época, tendo ocorrido em quase todos os meses dos anos, em análise (2016-2018) sendo que, foram observados alguns picos em 2016 nos meses de Março, Abril e Outubro), em 2017 no mês de Outubro, em 2018 nos meses de Janeiro e Julho, indicando maior frequência de casos no início e final da época chuvosa em Moçambique, com excepção no ano de 2018 no qual foi observado um pico em Janeiro (meados da época chuvosa).

Outro resultado relevante mostra que a positividade reduz em relação aos anos de estudo, de 2016-2018, esta redução pode estar ligada ao esgotamento do grupo susceptível/aumento de indivíduos com imunidade adquirida, isto implica que as epidemias de ZIKV podem se estabelecer em um padrão sazonal típico de doenças transmitidas por mosquitos, a transmissão pode ser baixa durante vários anos, com um aumento gradual da suscetibilidade devido aos nascimentos (Ferguson *et al.*,

2016; Zhang *et al.*, 2017). Outros fatores tais como o controlo vectorial e/ou condições climáticas locais específicas podem ter contribuído para a queda da positividade, contudo, face as mudanças climáticas o risco de ocorrência de ondas epidémicas subsequentes torna-se maior (Zhang *et al.*, 2017).

15.2. Perfil clínico e sociodemográfico dos pacientes diagnosticados com vírus zika

Informação epidemiológica, precisa e atualizada sobre o ZIKV é limitada em muitas áreas do mundo, incluindo Moçambique. Por outro lado, a maioria das infecções por ZIKV são assintomáticas. Portanto, nos casos de doença as infecções sintomáticas por ZIKV são caracterizadas por sintomas clínicos inespecíficos, que incluem a febre, erupção cutânea maculopapular, mal-estar, dor de cabeça, conjuntivite, fadiga, mialgia e artralgia (WHO, 2022). No surto da Ilha Yap na Micronésia, a erupção cutânea maculopapular, conjuntivite e artralgia caracterizou os casos de infecção pelo ZIKV (Lanciotti *et al.*, 2008; Mark R Duffy *et al.*, 2009) bem como em relatos de casos em Uganda, Senegal e Estados Unidos (Hayes, 2009; Foy *et al.*, 2011; Leder, Druce and Kwong, 2013; Diallo *et al.*, 2014; Halani *et al.*, 2021), estes relatos corroboram com os achados no presente estudo, no qual a artralgia consiste no principal sintoma nos casos positivos para o IgM anti-ZIKV, por outro lado, a tosse e a congestão nasal, consistiram em factores não preditivos para a positividade dos anticorpos IgM anti-ZIKV, isto é, indivíduos com positividade para o zika tem a probabilidade 62% e 56% menor de ter tosse e congestão nasal, respectivamente, embora, em um estudo de caso relatado por Heang *et al.* (2012) a tosse, febre, dor de garganta e dor de cabeça consitiram em um dos principais sintomas da infecção pelo ZIKV. Embora a erupção maculopapular consista em um dos principais sintomas de infecção pelo ZIKV (Lanciotti *et al.*, 2008; Mark R Duffy *et al.*, 2009), no presente estudo não houve descrição deste sintoma em nenhum caso, este achado é similar em estudos realizados por Hayes (2009) e (Heang *et al.*, 2012), onde não foi observada a erupção cutânea maculopapular em casos positivos de infecção pelo ZIKV. Por outro lado, a mialgia, dor de cabeça, dor retroorbital, edema e vômitos constituem manifestações menos frequentes durante a infecção pelo ZIKV (Mark R. Duffy *et al.*, 2009), que também não apresentaram diferenças estatisticamente significantes no estudo.

No que diz respeito a componente sociodemografica para os casos de infecção pelo ZIKV, foi identificado durante o surto na Micronésia uma taxa de ataque clínico da febre Zika maior entre mulheres e idosos, mas a prevalência de anticorpos IgM específicos foi maior em homens (risco

relativo, 1,1) por outro lado, o grupo etário de indivíduos com mais de 50 anos apresentou maior nível de exposição pelo vírus (Musso and Gubler, 2016; Mwanyika *et al.*, 2021), este achado é similar ao do presente estudo onde o sexo masculino apresentou maior risco de infecção pelo ZIKV, contudo, para os indivíduos dos estudo, ser do grupo etário dos 25<50 anos constituiu um factor protector a infecção pelo ZIKV, resultados similares referentes ao género foram encontrados por Chepkorir *et al.* (2019), que justifica a disparidade da exposição entre homens e mulheres pelo facto dos homens realizarem atividades que os predispõe a mais picadas de mosquitos.

15.3. Co-ocorrência do ZIKV, DENV e malária

As infecções por ZIKV, DENV e malária são transmitidas por vectores que ocorrem tipicamente em regiões tropicais e subtropicais, incluindo Moçambique (Cattarino *et al.*, 2020; Wellekens *et al.*, 2022; Lin *et al.*, 2023). As condições económicas, ecológicas e climáticas, tais como o saneamento e rede de esgoto deficiente, a presença do vector competente, temperaturas quentes e húmidas e as mudanças climáticas constituem factores de risco para a disseminação, circulação e endemicidade destas doenças nestas áreas geográficas colocando os hospedeiros humanos em maior contacto com os vetores (Guevara-Parra *et al.*, 2020; Wellekens *et al.*, 2022; Lin *et al.*, 2023).

Em Moçambique, a Malária constitui uma das principais causas de morte, sendo que a nivel global, a malária é responsável por 4,1% de casos de doença e 3,8% dos casos de mortes, com um peso da doença estimado em >10 milhões de casos em Moçambique (USAID, 2022; WHO, 2023). Por outro lado, informações sobre o ZIKV e DENV ainda são escassas e pouco se sabe sobre a ocorrência, menos ainda sobre a sua co-ocorrência e coinfecções na cidade de Maputo. Estudos serológicos realizado em Moçambique mostraram positividade serológica para o ZIKV, por outro lado, estudos realizados no norte do país, nas províncias de Cabo Delgado e Nampula, relatam a circulação do DENV-2 do genótipo cosmopolita durante um surto (Muianga *et al.*, 2016, 2017, 2017; Mugabe *et al.*, 2023), mostrando que estes vírus circulam activamente no país. No presente estudo a positividade encontrada para a malária correspondeu a 21%(179/858) e dos testes imunoenzimáticos realizados no estudo foi observada uma positividade correspondente a 16% (133/852) para os anticorpos IgM anti-zika, 7% (58/877) para os anticorpos IgM anti-dengue, 3,6% (32/877) para o antígeno NS1 do virus dengue, por outro lado, das testagens moleculares por RT-PCR em tempo real foi apenas detectado o acido nucleico do DENV em 0,7% (2/288) das amostras,

estes resultados evidenciam a coexistência do ZIKV e DENV, para além da malária na cidade de Maputo. Esta coexistência de arbovírus com malária pode resultar em manifestações mais graves, particularmente trombocitopenia e anemia (Epelboin *et al.*, 2012; Otu *et al.*, 2020).

Compartilhando um vetor comum, o *Aedes aegypti*, a endemicidade do DENV e do ZIKV pode expandir-se em conjunto, resultando numa co-circulação generalizada (Mercado-Reyes *et al.*, 2019), por outro lado, estudos mostraram aumento da susceptibilidade vectorial e aumento da replicação viral, após a coinfecção por DENV2-ZIKV no *Ae. Aegypti* (Lin *et al.*, 2023). No presente estudo foram observados baixos níveis de coinfecções onde 2,1%(18/859) correspondiam a ZIKV+DENV, 8%(65/812) para ZIKV+MAL, 2,3%(20/857) para DENV+MAL, 1,2%(10/867) para ZIKV+DENV+MAL, sendo a coninfecção ZIKV+MAL mais frequente quando comparada as outras coinfecções. Os casos de coinfecção são bastante comuns em regiões endémicas, um estudo realizado na Nigéria detectou 15% de casos de coinfecção malaria e zika (Otu *et al.*, 2020), no Senegal foi detectado um nível de coinfecções em casos positivos para malária correspondente a 88,9%(8/9) e 33%(1/3) para o ZIKV e DENV respectivamente (Sow *et al.*, 2016), por outro lado, na Colômbia durante epidemia de ZIKV foi detectado um nível de coinfecções correspondente a 8,8% de casos de DENV+ZIKV(Mercado-Reyes *et al.*, 2019).

Em relação a associação de sinais clínicos e epidemiológicos para o DENV, a fraqueza e o grupo etário de indivíduos com mais de 50 anos de idade constituíram factores de risco para a infecção pelo DENV. Para a os casos de coinfecção pelo ZIKV e DENV, o contacto com ratos e o uso da rede mosquiteira constituem factores associados a proteção em relação a positividade. Estudos realizados em roedores, bovinos, aves, incluindo humanos, mostrou positividade serológica para o ZIKV e outros flavivírus, o que leva a crer que tenham algum papel no ciclo de transmissão deste vírus, contudo, estes dados carecem de mais pesquisas para melhor entendimento (Darwish *et al.*, 1983; Vorou, 2016; Gutiérrez-Bugallo *et al.*, 2019). Por outro lado, as redes mosquiteiras tem sido usadas como uma das medidas de prevenção contra a malária, que é comumente usada durante a noite, momento durante o qual o vector (*Anopheles sp.*) responsável pela transmissão da malária tem maior actividade, contudo, esta medida não será muito eficaz quando se trata de mosquitos do genero *Aedes sp.*, pois, estes apresentam características comportamentais diurnas (Olawoyin and Kribs, 2020), fazendo com que mesmo disponível a rede mosquiteira durante o dia o seu papel torna-se muito fraco como mecanismo de protecção, o que contribui para o aumento da exposição a infecções por arboviroses. Esta facto pode ser explicado pela menor exposição ao vector destes

individuos através de outras medidas de prevenção a picadas diurnas (uso de repelentes, vestuário), por outro lado, deixa em aberto possíveis mudanças comportamentais ou a existência de vectores responsáveis pela transmissão de arboviroses com possíveis hábitos nocturnos. Portanto, o uso de sistemas integrados de controlo da malária e arboviroses, poderão ser mais eficazes no processo de controlo e prevenção.

Os casos de coinfecção ZIKV e DENV são caracterizadas por quadros severos de infecção que incluírem para além da febre, artralgias, exantemas e alguns ninais hemorrágicos (Estofolete *et al.*, 2019), contudo no presente estudo não foram identificados sinais que caracterizassem esta coinfecção e não foram descritos casos graves de infeccão, a similaridade de estudos realizados no Brasil, na Nova Caledónia e na Polinésia (Dupont-Rouzeyrol *et al.*, 2015; Pessôa *et al.*, 2016).

Para a coinfecção por ZIKV e malária o sexo masculino apresentou maior suscetibilidade a positividade por estes dois patógenos, facto este que também foi encontrado em estudo realizados no Brasil onde mostram a susceptibilidade do indivíduos do sexo masculino, pelo facto de apresentar maior exposição aos vectores (Estofolete *et al.*, 2019). Por outro lado, a artralgia constitui um factor associado ao risco desta coinfecção. Não foram identificados casos severos de infecção nas monoinfecções assim como nas coinfecções observadas no estudo. Os resultados do estudo indicam que não só circulam de forma activa e silenciosa o ZIKV e o DENV na cidade de Maputo, mas também apresentam capacidade de coinfectar e contribuir de forma considerável para o aumento da morbilidade.

Os resultados do estudo, não mostraram um padrão de circulação para ambos vírus, tanto na época chuvosa assim como na época seca, visto que a positividade foi identificada em ambas epocas; embora, tenham sido identificados alguns picos nos meses de Janeiro, Julho e Outubro para o ZIKV e Abril, Outubro e Novembro para o DENV, que são com excepção de Julho e Abril meses da epoca chuvosa, estes resultados são suportados por estudos realuzados em Uganda que mostram um padrão inespecífico de circulação de arbovirus durante ambas epocas seca e chuvosa (Byaruhanga *et al.*, 2023) .

As implicações clínicas e epidemiológicas da co-circulação do ZIKV e DENV permanece ainda em grande parte inexplorada, não está claro se os pacientes co-infectados desenvolvem doença mais grave ou se a coinfecção pode resultar no aumento da gravidade da doença devido à exacerbação da resposta do sistema imunológico (Vogels *et al.*, 2019). Por outro lado, o aumento

da cocirculação e transmissão de múltiplos flavivírus certamente representará problemas significativos para o diagnóstico e vigilância devido à apresentação clínica comum, resposta assintomática e reações cruzadas (Guevara-Parra *et al.*, 2020; Senaratne *et al.*, 2020). Embora haja progresso em tecnologias de diagnóstico, o controlo eficaz de vetores continua sendo a abordagem mais eficaz para melhor gestão e eliminação de doenças transmitidas por mosquitos (Wellekens *et al.*, 2022). O foco no controlo de vectores irá favorecer também na compreensão da relação patógeno-vetor, uma vez que evolui em tempo real e de forma exponencial, tornando-se uma grande preocupação de saúde pública.

16. Conclusões

Este estudo evidencia a presença do ZIKV assim como do DENV, entre pacientes febris atendidos no Hospital Geral de Polana Caniço (HGPC) em Maputo, Moçambique, com uma taxa de positividade de 16% para os anticorpos IgM anti-ZIKV, evidenciando uma circulação activa do ZIKV na região, com uma frequência observada similar as encontradas em regiões como Nigéria e Micronésia, onde o ZIKV representa um problema de saúde pública.

A presença dos mosquitos *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus* na área de estudo, vectores conhecidos do ZIKV, Dengue (DENV) e Chikungunya (CHIKV), reforça a necessidade de medidas de controlo vectorial, principalmente considerando as condições favoráveis para proliferação dos vectores, como a época chuvosa e quente. Por outro lado, os factores socioeconómicos tais como a urbanização desordenada e as condições sanitárias precárias são fatores que aumentam o risco de transmissão dessas arboviroses.

No perfil clínico dos pacientes diagnosticados com ZIKV, a artralgia foi o principal sintoma, com a tosse e a congestão nasal atuando como fatores não preditivos a infecção. A co-ocorrência do ZIKV com outras doenças como DENV e malária foi identificada, destacando a complexidade das infecções concomitantes e os desafios no diagnóstico e na vigilância que elas apresentam.

As coinfecções foram mais frequentes entre ZIKV e malária, sem sinais de infecções graves associadas. No entanto, as coinfecções podem aumentar a gravidade dos quadros clínicos, embora este estudo não tenha identificado casos graves. O risco de co-circulação e transmissão de múltiplos flavivírus sugere a necessidade de estratégias integradas de controlo de vetores e monitoria epidemiológica. Apesar da evidência da exposição humana a estes vírus há necessidade de uma melhor compreensão da suscepctibilidade e competência vectorial, co-circulação e coinfecção por arboviroses na cidade de Maputo e no país.

A redução da positividade para ZIKV ao longo dos anos do estudo pode indicar um aumento da imunidade adquirida na população, embora fatores como o controlo vetorial e mudanças climáticas também desempenhem um papel. A circulação ativa e silenciosa do ZIKV e DENV em Maputo, bem como a capacidade desses vírus de coinfectar, contribuem significativamente para a morbilidade na região.

A positividade pelo ZIKV e outras arboviroses em Moçambique irá requerer um enfoque multifacetado, combinando o controlo de vetores, melhorias nas infraestruturas urbanas e sanitárias e vigilância epidemiológica contínua para melhor compreender e mitigar o impacto desta doença na saúde pública.

17. Recomendações

Com base nos achados do estudo sobre a infecção do vírus Zika (ZIKV) em pacientes febris atendidos no Hospital Geral de Polana Caniço (HGPC) em Maputo, Moçambique, e considerando os aspectos clínicos, sociodemográficos e a co-ocorrência com outras doenças como Dengue (DENV) e malária, as seguintes recomendações são propostas:

17.1. Recomendações para Controlo e Prevenção

Fortalecimento do controlo vectorial:

-Implementar programas intensivos e contínuos de controlo de mosquitos, focando em *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus* , que são os principais responsáveis pela transmissão do ZIKV, DENV e outras arboviroses.

-Adopção do uso de métodos integrados de controlo de vetores, incluindo a eliminação de criadouros, campanhas de conscientização pública sobre a eliminação de água parada e o uso de insecticidas adequados.

-Avaliar a eficácia das estratégias de prevenção actuais e futuras, que devem também acautelar aspectos comportamentais dos vectores de forma integrada.

Monitoria e Vigilância Epidemiológica:

-Estabelecer sistemas robustos de vigilância epidemiológica para monitorar a circulação do ZIKV, DENV e outras arboviroses.

-Realizar estudos de soroprevalência periodicamente para avaliar a imunidade da população e a circulação viral.

-Implementar a vigilância de vectores para monitorar a presença e densidade de mosquitos transmissores.

Educação e Conscientização da População:

-Desenvolver e disseminar campanhas de educação pública sobre os riscos associados ao ZIKV, DENV e malária, e as medidas preventivas que podem ser tomadas.

-Enfatizar a importância do uso de repelentes, vestuário adequado e outras medidas de proteção individual, especialmente durante o dia, quando os mosquitos *Aedes* são mais activos.

17.2. Recomendações para Pesquisa e Saúde Pública

Pesquisas sobre Coinfecções e Interações Virais:

-Promover estudos adicionais para compreender melhor as interações entre ZIKV, DENV e malária, especialmente no contexto de coinfecções.

-Investigar os possíveis impactos da coinfecção na gravidade da doença e nas respostas imunológicas dos pacientes.

Desenvolvimento de Diagnósticos e Tratamentos:

-Incentivar o desenvolvimento e a implementação de métodos diagnósticos mais simples, sensíveis e específicos para a detecção precoce e diferencial do ZIKV, DENV e malária.

-Explorar possibilidades de tratamentos antivirais e outras intervenções terapêuticas para reduzir a carga de doenças causadas por esses vírus.

Preparação e Resposta a Epidemias:

-Desenvolver planos de preparação e resposta a surtos de ZIKV, DENV e malária, incluindo a capacitação de profissionais de saúde para o manejo clínico dessas infecções em Moçambique.

-Garantir a disponibilidade de recursos e infraestruturas adequadas para a resposta rápida a surtos, incluindo a distribuição de redes mosquiteiras tratadas com inseticidas.

Integração de esforços para o controlo de doenças:

-Promover a integração das estratégias de controlo de arboviroses e malária em programas de saúde pública, com uma abordagem holística para a prevenção e manejo dessas doenças.

Investimento em Saúde Pública:

-Aumentar o financiamento e o apoio para programas de controle de vetores, vigilância epidemiológica e pesquisa sobre arboviroses.

17.3. Outras medidas

Melhoria das infraestruturas urbanas e saneamento:

-Investir em melhorias na infraestrutura urbana, especialmente em sistemas de drenagem e saneamento básico incluindo a manutenção dos mesmos, para reduzir os locais de proliferação de mosquitos.

-Promover práticas de higiene e saneamento nas comunidades, especialmente nas áreas mais vulneráveis.

18. Referências

- Ali Ou Alla, S., & Combe, B. (2011). Arthritis after infection with Chikungunya virus. *Best Practice and Research: Clinical Rheumatology*, *25*(3), 337–346. https://doi.org/10.1016/j.berh. 2011.03.005
- Allard, A., Althouse, B. M., Scarpino, S. V., & Hébert-Dufresne, L. (2017). Asymmetric percolation drives a double transition in sexual contact networks. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *114*(34), 8969–8973. https://doi.org/10.1073/pnas.1703073114
- Barzon, L., Trevisan, M., Sinigaglia, A., Lavezzo, E., & Palù, G. (2016). Zika virus: From pathogenesis to disease control. *FEMS Microbiology Letters*, *363*(18), 1–17. https://doi.org/10.1093/femsle/fnw202
- Calvet, G., Aguiar, R. S., Melo, A. S. O., Sampaio, S. A., de Filippis, I., Fabri, A., Araujo, E. S. M., de Sequeira, P. C., de Mendonça, M. C. L., de Oliveira, L., Tschoeke, D. A., Schrago, C. G., Thompson, F. L., Brasil, P., dos Santos, F. B., Nogueira, R. M. R., Tanuri, A., & de Filippis, A. M. B. (2016). Detection and sequencing of Zika virus from amniotic fluid of fetuses with microcephaly in Brazil: A case study. *The Lancet Infectious Diseases*, *16*(6), 653–660. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00095-5
- Christian, K. M., Song, H., & Ming, G. (2019). Pathophysiology and Mechanisms of Zika Virus Infection in the Nervous System. *Annual Review of Neuroscience*, *42*(1), 249–269. https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-080317-062231
- Duffy, M. R., Chen, T.-H. H., Hancock, W. T., Powers, A. M., Kool, J. L., Lanciotti, R. S., Pretrick, M., Marfel, M., Holzbauer, S., Dubray, C., Guillaumot, L., Griggs, A., Bel, M., Lambert, A. J., Laven, J., Kosoy, O., Panella, A., Biggerstaff, B. J., Fischer, M., & Hayes, E. B. (2009). Zika virus outbreak on Yap Island, federated states of Micronesia. *New England Journal of Medicine*, *360*(24), 2536–2543. https://doi.org/10.1056/NEJMoa0805715
- Grard, G., Caron, M., Mombo, I. M., Nkoghe, D., Mboui Ondo, S., Jiolle, D., Fontenille, D., Paupy, C., & Leroy, E. M. (2014). Zika Virus in Gabon (Central Africa)—2007: A New Threat from Aedes albopictus? *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *8*(2), 1–6. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002681
- Gudo, E. S., Falk, K. I., Ali, S., Monteiro, V., & Cliff, J. (2016). *A Historic Report of Zika*

in Mozambique: Implications for Assessing Current Risk. 1–7. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005052

- Hancock, W. T., Marfel, M., & Bel, M. (2014). Zika virus, French Polynesia, South Pacific, 2013. *Emerging Infectious Diseases*, *20*(11), 1960. https://doi.org/10.3201/eid2011.141380
- Hume, J. C. C., Barnish, G., Mangal, T., Armázio, L., Streat, E., & Bates, I. (2008). Household cost of malaria overdiagnosis in rural Mozambique. *Malaria Journal*, *7*, 33. https://doi.org/10.1186/1475-2875-7-33
- Ioos, S., Mallet, H., Goffart, I. L., Gauthier, V., Cardoso, T., & Herida, M. (2014). Current Zika virus epidemiology and recent epidemics. *Medecine et Maladies Infectieuses*, *44*(7), 302–307. https://doi.org/10.1016/j.medmal.2014.04.008
- Kampango, A., Candrinho, B., Sibindy, S., Luciano, J., Almeida, G. De, Garcia, G. A., David, M. R., Maciel-, R., & Gudo, E. S. (2018). *Distribution and breeding sites of Aedes aegypti and Aedes albopictus in 32 urban / peri- urban districts of Mozambique: Implication for assessing the risk of arbovirus outbreaks*. *807*(Ci), 1–15.
- Kayiwa, J. T., Nankya, A. M., Ataliba, I. J., Mossel, E. C., Crabtree, M. B., & Lutwama, J. J. (2018). Confirmation of Zika virus infection through hospital-based sentinel surveillance of acute febrile illness in Uganda, 2014–2017. *The Journal of General Virology*, *99*(9), 1248–1252. https://doi.org/10.1099/jgv.0.001113
- Kisuya, B., Masika, M. M., Bahizire, E., & Oyugi, J. O. (2019). Seroprevalence of Zika virus in selected regions in Kenya. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, *113*(12), 735–739. https://doi.org/10.1093/trstmh/trz077
- Kokernot, R.H., Smithburn K.C., Gandara A.F., Mcintosh B.M., Heymann C.S. [Neutralization tests with sera from individuals residing in Mozambique against specific viruses isolated in Africa, transmitted by arthropods]. An Inst Med Trop (Lisb). 1960 Jan-Jun;17:201-30. Portuguese. PMID: 13757663.
- Lanciotti, R. S., Kosoy, O. L., Laven, J. J., Velez, J. O., Lambert, A. J., Johnson, A. J., Stanfield, S. M., & Duffy, M. R. (2008). Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerging Infectious Diseases*, *14*(8), 1232–1239. https://doi.org/10.3201/eid1408.080287
- Marchi, S., Viviani, S., Montomoli, E., Tang, Y., Boccuto, A., Vicenti, I., Zazzi, M., Sow, S., Diallo, A., Idoko, O. T., Bhat, N., & Trombetta, C. M. (2020). Zika Virus in West Africa:

A Seroepidemiological Study between 2007 and 2012. *Viruses*, *12*(6). https://doi.org/10.3390/v12060641

- Schaffner, F., & Mathis, A. (2014). Dengue and dengue vectors in the WHO European region: Past, present, and scenarios for the future. *The Lancet Infectious Diseases*, *14*(12), 1271–1280. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70834-5
- Teixeira, G. A., Dantas, D. N. A., Carvalho, G. A. F. de L., Silva, A. N. da, Lira, A. L. B. de C., & Enders, B. C. (2020). Análise do conceito síndrome congênita pelo Zika vírus. *Ciência & Saúde Coletiva*, *25*(2), 567–574. https://doi.org/10.1590/1413-81232020252.30002017
- *The Challenge of Assessing Microcephaly in the Context of the Zika Virus Epidemic*. (n.d.).
- Vasconcelos, P. F. da C. (2015). Doença pelo vírus Zika: Um novo problema emergente nas Américas? *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, *6*(2), 9–10. https://doi.org/10.5123/S2176-62232015000200001
- Virus, Z., Connect, E., Virus, Z., Group, R., Lancet, T., Lancet, B. T., Connect, E., Both, E., Lancet, T., Connect, E., Horton, R., Lancet, T., Connect, T. E., Centers, U. S., & Control, D. (2016). *Latest clinical information on Zika virus available at info centers on Elsevier Connect and The Lancet*. *February*, 1–2.
- WHO. (2016). Zika virus situation report. *World Health Organization*, *5 February 2016*, 6.

- Abílio, A.P. *et al.* (2018) 'Distribution and breeding sites of Aedes aegypti and Aedes albopictus in 32 urban/peri-urban districts of Mozambique: implication for assessing the risk of arbovirus outbreaks', *PLOS Neglected Tropical Diseases*. Edited by A. Lenhart, 12(9), p. e0006692. Available at: https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006692.

- Abílio, A.P. *et al.* (2020) 'First confirmed occurrence of the yellow fever virus and dengue virus vector Aedes (Stegomyia) luteocephalus (Newstead, 1907) in Mozambique', *Parasites & Vectors*, 13(1), p. 350. Available at: https://doi.org/10.1186/s13071-020-04217-9.

- Adam, A. and Jassoy, C. (2021) 'Epidemiology and Laboratory Diagnostics of Dengue, Yellow Fever, Zika, and Chikungunya Virus Infections in Africa', *Pathogens*, 10(10), p. 1324. Available at: https://doi.org/10.3390/pathogens10101324.

- Ali Ou Alla, S. and Combe, B. (2011) 'Arthritis after infection with Chikungunya virus', *Best Practice and Research: Clinical Rheumatology*, 25(3), pp. 337–346. Available at: https://doi.org/10.1016/j.berh.2011.03.005.

- Barzon, L. *et al.* (2016) 'Zika virus: From pathogenesis to disease control', *FEMS Microbiology Letters*, 363(18), pp. 1–17. Available at: https://doi.org/10.1093/femsle/fnw202.

- Byaruhanga, T. *et al.* (2023) 'Arbovirus circulation, epidemiology and spatiotemporal distribution in Uganda', *IJID Regions*, 6, pp. 171–176. Available at: https://doi.org/10.1016/j.ijregi.2023.01.013.

- Cattarino, L. *et al.* (2020) 'Mapping global variation in dengue transmission intensity', *Science Translational Medicine*, 12(528), p. eaax4144. Available at: https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aax4144.

- Chelene, I.R. *et al.* (2019) 'Retrospective investigation of IgM antibodies against Zika virus in serum from febrile patients in Mozambique, 2009–2015', *BMC Research Notes*, 12(1), p. 469. Available at: https://doi.org/10.1186/s13104-019-4511-x.

- Chepkorir, E. *et al.* (2019) 'Serological evidence of Flavivirus circulation in human populations in Northern Kenya: an assessment of disease risk 2016–2017', *Virology Journal*, 16(1), p. 65. Available at: https://doi.org/10.1186/s12985-019-1176-y.

- Darwish, M.A. *et al.* (1983) 'A sero-epidemiological survey for certain arboviruses (Togaviridae) in Pakistan', *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 77(4), pp. 442–445. Available at: https://doi.org/10.1016/0035-9203(83)90106-2.

- Diallo, D. *et al.* (2014) 'Zika Virus Emergence in Mosquitoes in Southeastern Senegal, 2011', *PLoS ONE*. Edited by H. Attoui, 9(10), p. e109442. Available at: https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109442.

- Duffy, Mark R *et al.* (2009) 'Zika virus outbreak on Yap Island, federated states of Micronesia', *New England Journal of Medicine*, 360(24), pp. 2536–2543. Available at: https://doi.org/10.1056/NEJMoa0805715.

- Duffy, Mark R. *et al.* (2009) 'Zika Virus Outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia', *New England Journal of Medicine*, 360(24), pp. 2536–2543. Available at: https://doi.org/10.1056/NEJMoa0805715.

- Dupont-Rouzeyrol, M. *et al.* (2015) 'Co-infection with Zika and Dengue Viruses in 2 Patients, New Caledonia, 2014', *Emerging Infectious Diseases*, 21(2), pp. 381–382. Available at: https://doi.org/10.3201/eid2102.141553.

- Epelboin, L. *et al.* (2012) 'Is dengue and malaria co-infection more severe than single infections? A retrospective matched-pair study in French Guiana', *Malaria Journal*, 11(1), p. 142. Available at: https://doi.org/10.1186/1475-2875-11-142.

- Estofolete, C.F. *et al.* (2019) 'Co-infection between Zika and different Dengue serotypes during DENV outbreak in Brazil', *Journal of Infection and Public Health*, 12(2), pp. 178–181. Available at: https://doi.org/10.1016/j.jiph.2018.09.007.

- Fagbami, A.H. (1979) 'Zika virus infections in Nigeria: virological and seroepidemiological investigations in Oyo State', *Journal of Hygiene*, 83(2), pp. 213–219. Available at: https://doi.org/10.1017/S0022172400025997.

- Faria, N.R. *et al.* (2016) 'Zika virus in the Americas: Early epidemiological and genetic findings', *Science*, 352(6283), pp. 345–349. Available at: https://doi.org/10.1126/science.aaf5036.

- Faye, Oumar *et al.* (2020) 'Genomic Epidemiology of 2015–2016 Zika Virus Outbreak in Cape Verde', *Emerging Infectious Diseases*, 26(6), pp. 1084–1090. Available at: https://doi.org/10.3201/eid2606.190928.

- Ferguson, N.M. *et al.* (2016) 'Countering the Zika epidemic in Latin America', *Science*, 353(6297), pp. 353–354. Available at: https://doi.org/10.1126/science.aag0219.

- Foy, B.D. *et al.* (2011) 'Probable Non–Vector-borne Transmission of Zika Virus, Colorado, USA', *Emerging Infectious Diseases*, 17(5), pp. 880–882. Available at: https://doi.org/10.3201/eid1705.101939.

- Freitas, L.P. *et al.* (2019) 'Space–time dynamics of a triple epidemic: dengue, chikungunya and Zika clusters in the city of Rio de Janeiro', *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 286(1912), p. 20191867. Available at: https://doi.org/10.1098/rspb.2019.1867.

- Gake, B. *et al.* (2017) 'Low seroprevalence of Zika virus in Cameroonian blood donors', *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 21(4), pp. 481–483. Available at: https://doi.org/10.1016/j.bjid.2017.03.018.

- Grard, G. *et al.* (2014) 'Zika Virus in Gabon (Central Africa) - 2007: A New Threat from Aedes albopictus?', *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8(2), pp. 1–6. Available at: https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002681.

- Gudo, E.S. *et al.* (2016) 'A Historic Report of Zika in Mozambique : Implications for Assessing Current Risk', pp. 1–7. Available at: https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0005052.

- Guevara-Parra, D. *et al.* (2020) 'Dengue-malaria coinfection by Plasmodium falciparum in a schoolchild', *Revista M□dica del Hospital General de M□xico*, 83(1), p. 3350. Available at: https://doi.org/10.24875/HGMX.19000009.

- Gutiérrez-Bugallo, G. *et al.* (2019) 'Vector-borne transmission and evolution of Zika virus', *Nature Ecology & Evolution*, 3(4), pp. 561–569. Available at: https://doi.org/10.1038/s41559-019-0836-z.

- Halani, S. *et al.* (2021) 'Clinical manifestations and health outcomes associated with Zika virus infections in adults: A systematic review', *PLOS Neglected Tropical Diseases*. Edited by P.F.C. Vasconcelos, 15(7), p. e0009516. Available at: https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009516.

- Hancock, W.T., Marfel, M. and Bel, M. (2014) 'Zika virus, French Polynesia, South Pacific, 2013', *Emerging infectious diseases*, 20(11), p. 1960. Available at: https://doi.org/10.3201/eid2011.141380.

- Hayes, E.B. (2009) 'Zika Virus Outside Africa', *Emerging Infectious Diseases*, 15(9), pp. 1347–1350. Available at: https://doi.org/10.3201/eid1509.090442.

- Heang, V. *et al.* (2012) 'Zika Virus Infection, Cambodia, 2010', *Emerging Infectious Diseases*, 18(2), pp. 349–351. Available at: https://doi.org/10.3201/eid1802.111224.

- Higa, Y. *et al.* (2015) 'Abundant *Aedes* (*Stegomyia*) *aegypti aegypti* mosquitoes in the 2014 dengue outbreak area of Mozambique', *Tropical Medicine and Health*, 43(2), pp. 107–109. Available at: https://doi.org/10.2149/tmh.2014-29.

- Hume, J.C.C. *et al.* (2008) 'Household cost of malaria overdiagnosis in rural Mozambique.', *Malaria journal*, 7, p. 33. Available at: https://doi.org/10.1186/1475-2875-7-33.

- Ioos, S. *et al.* (2014) 'Current Zika virus epidemiology and recent epidemics', *Medecine et Maladies Infectieuses*, 44(7), pp. 302–307. Available at: https://doi.org/10.1016/j.medmal.2014.04.008.

- Kampango, A. *et al.* (2018) 'Distribution and breeding sites of Aedes aegypti and Aedes albopictus in 32 urban / peri- urban districts of Mozambique : implication for assessing the risk of arbovirus outbreaks', 807(Ci), pp. 1–15.

- Kampango, A. and Abílio, A.P. (2016) 'The Asian tiger hunts in Maputo city—the first confirmed report of Aedes (Stegomyia) albopictus (Skuse, 1895) in Mozambique', *Parasites & Vectors*, 9(1), p. 76. Available at: https://doi.org/10.1186/s13071-016-1361-4.

- Kayiwa, J.T. *et al.* (2018) 'Confirmation of Zika virus infection through hospital-based sentinel surveillance of acute febrile illness in Uganda, 2014–2017', *The Journal of general virology*, 99(9), pp. 1248–1252. Available at: https://doi.org/10.1099/jgv.0.001113.

- Kisuya, B. *et al.* (2019) 'Seroprevalence of Zika virus in selected regions in Kenya', *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 113(12), pp. 735–739. Available at: https://doi.org/10.1093/trstmh/trz077.

- Lanciotti, R.S. *et al.* (2008) 'Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007', *Emerging Infectious Diseases*, 14(8), pp. 1232–1239. Available at: https://doi.org/10.3201/eid1408.080287.

- Leder, K., Druce, J.D. and Kwong, J.C. (2013) 'Zika Virus Infection Acquired During Brief Travel to Indonesia', *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 89(3), pp. 516–517. Available at: https://doi.org/10.4269/ajtmh.13-0029.

- Lin, D.C.-D. *et al.* (2023) 'Co-infection of dengue and Zika viruses mutually enhances viral replication in the mosquito Aedes aegypti', *Parasites & Vectors*, 16(1), p. 160. Available at: https://doi.org/10.1186/s13071-023-05778-1.

- Marchi, S. *et al.* (2020) 'Zika Virus in West Africa: A Seroepidemiological Study between 2007 and 2012', *Viruses*, 12(6). Available at: https://doi.org/10.3390/v12060641.

- Mercado-Reyes, M. *et al.* (2019) 'Dengue, chikungunya and zika virus coinfection: results of the national surveillance during the zika epidemic in Colombia', *Epidemiology and Infection*, 147, p. e77. Available at: https://doi.org/10.1017/S095026881800359X.

- Mugabe, V.A. *et al.* (2023) 'Surveillance for arboviruses and leptospirosis among non-malarial acute febrile illness outpatients in areas affected by Cyclones Idai and Kenneth in Mozambique', *Frontiers in Tropical Diseases*, 4, p. 1091545. Available at: https://doi.org/10.3389/fitd.2023.1091545.

- Muianga, A. *et al.* (2016) 'Occurrence of dengue in 2013 and 2014 in northern Mozambique: Is dengue an endemic disease in Mozambique?', *International Journal of Infectious Diseases*, 45, p. 174. Available at: https://doi.org/10.1016/j.ijid.2016.02.411.

- Muianga, A. *et al.* (2017) 'Dengue Virus Serotype 2 Established in Northern Mozambique (2015–2016)', *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 97(5), pp. 1418–1422. Available at: https://doi.org/10.4269/ajtmh.17-0317.

- Musso, D. and Gubler, D.J. (2016) 'Zika Virus', *Clinical Microbiology Reviews*, 29(3), pp. 487–524. Available at: https://doi.org/10.1128/CMR.00072-15.

- Mwanyika, G.O. *et al.* (2021) 'Seroprevalence and associated risk factors of chikungunya, dengue, and Zika in eight districts in Tanzania', *International Journal of Infectious Diseases*, 111, pp. 271–280. Available at: https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.08.040.

- Nurtop, E. *et al.* (no date) 'A Report of Zika Virus Seroprevalence in Republic of the Congo'.

- Olawoyin, O. and Kribs, C. (2020) 'Coinfection, Altered Vector Infectivity, and Antibody-Dependent Enhancement: The Dengue–Zika Interplay', *Bulletin of Mathematical Biology*, 82(1), p. 13. Available at: https://doi.org/10.1007/s11538-019-00681-2.

- Otu, A.A. *et al.* (2020) 'Prevalence of Zika and malaria in patients with fever in secondary healthcare facilities in south-eastern Nigeria', *Tropical Doctor*, 50(1), pp. 22–30. Available at: https://doi.org/10.1177/0049475519872580.

- Pessôa, R. *et al.* (2016) 'Investigation Into an Outbreak of Dengue-like Illness in Pernambuco, Brazil, Revealed a Cocirculation of Zika, Chikungunya, and Dengue Virus Type 1', *Medicine*, 95(12), p. e3201. Available at: https://doi.org/10.1097/MD.0000000000003201.

- Plourde, A.R. and Bloch, E.M. (2016) 'A Literature Review of Zika Virus', *Emerging Infectious Diseases*, 22(7), pp. 1185–1192. Available at: https://doi.org/10.3201/eid2207.151990.

- Salomão, C.A. *et al.* (2015) 'Prescription practices for malaria in Mozambique: poor adherence to the national protocols for malaria treatment in 22 public health facilities', *Malaria Journal*, 14, p. 483. Available at: https://doi.org/10.1186/s12936-015-0996-5.

- Schaffner, F. and Mathis, A. (2014) 'Dengue and dengue vectors in the WHO European region: Past, present, and scenarios for the future', *The Lancet Infectious Diseases*, 14(12), pp. 1271–1280. Available at: https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70834-5.

- Senaratne, U.T.N. *et al.* (2020) 'Dengue virus co-infections with multiple serotypes do not result in a different clinical outcome compared to mono-infections', *Epidemiology and Infection*, 148, p. e119. Available at: https://doi.org/10.1017/S0950268820000229.

- Sow, A. *et al.* (2016) 'Concurrent malaria and arbovirus infections in Kedougou, southeastern Senegal', *Malaria Journal*, 15(1), p. 47. Available at: https://doi.org/10.1186/s12936-016-1100-5.

- Vasconcelos, P.F. da C. (2015) 'Doença pelo vírus Zika: um novo problema emergente nas Américas?', *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 6(2), pp. 9–10. Available at: https://doi.org/10.5123/S2176-62232015000200001.

- Virus, Z. *et al.* (2016) 'Latest clinical information on Zika virus available at info centers on Elsevier Connect and The Lancet', (February), pp. 1–2.

- Vogels, C.B.F. *et al.* (2019) 'Arbovirus coinfection and co-transmission: A neglected public health concern?', *PLOS Biology*, 17(1), p. e3000130. Available at: https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000130.

- Vorou, R. (2016) 'Zika virus, vectors, reservoirs, amplifying hosts, and their potential to spread worldwide: what we know and what we should investigate urgently', *International Journal of Infectious Diseases*, 48, pp. 85–90. Available at: https://doi.org/10.1016/j.ijid.2016.05.014.

- Wellekens, K. *et al.* (2022) 'Dengue: current state one year before WHO 2010–2020 goals', *Acta Clinica Belgica*, 77(2), pp. 436–444. Available at: https://doi.org/10.1080/17843286.2020.1837576.

- WHO (2016) 'Zika virus situation report', *World Health Organization*, (5 February 2016), p. 6.

- Zhang, Q. *et al.* (2017) 'Spread of Zika virus in the Americas', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(22). Available at: https://doi.org/10.1073/pnas.1620161114.

- Instituto Nacional de Meteorologia – INAM, Instituto Nacional de Gestão de Risco de Desastres – INGD, Direcção Nacional de Gestão dos Recurso Hídricos – DNGRH, Instituto Nacional de Saúde–INS, Direcção Nacional de Desenvolvimento de Agricultura Familiar – DNDAF, Administração Nacional de Estradas – AN (2023), Fórum Nacional de Antevisão Climática: Prognóstico para Época Chuvosa 2023/2024: Cenários Hidro-meteorológicos, Agrícola, de Energia, Rodoviário e de Saúde, Setembro de 2023, Edição Nº 10.
- Filipe A.R. *et al.* (1973) Laboratory infection with Zika virus after vaccination against yellow fever. Arch Gesamte Virusforsch. 1973;43(4):315-9. doi: 10.1007/BF01556147. PMID: 4799154.
- WHO (2022) 'Zika virus', *World Health Organization*, (8 December 2022), p. 6.

19. Anexos

Anexo 1- Questionário

QUESTIONÁRIO

INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E ENTOMOLÓGICA DE DENGUE E OUTROS ARBOVÍRUS EM 11 DISTRITOS EM MOÇAMBIQUE

A. Dados Demográficos

1. Nome:_____ **2. Data de admissão**: _____/_____/_____

3. Código do paciente:_____

3. Residência: Distrito_____Bairro_____Q_____

Rua/Avenida_____ Casa n °_____

4. Local de atendimento: _____

5. Data de nascimento: ____/____/____ **5. Idade**: _____ **6. Sexo**: Masc❑ Fem❑

6. Raça: Negra❑ Branca❑ Asiático❑ Mestiço❑ Outra: _____

7. Profissão:

Comerciante ❑ Administrativo ❑ Desempregado ❑ Motorista ❑

Agentes de limpeza ❑ Guarda Florestal ❑ Agrico-Pecuária ❑ Pescador ❑

Profissional de Saúde ❑ Madeireiro ❑ Veterinário ❑ Garimpeiro ❑

Outro: _____

8. Escolaridade: Nenhum❑ Primário❑ Secundário❑ Técnico❑ Universitário❑

9. Nacionalidade: Moçambicana❑ Outra: _____

B. Dados Epidemiológicos e de factores de risco (últimos 30 dias)

13. Viagem recente: Sim❑ Não❑

Se sim: Data da viagem ____/____/____a ____/____/____Local _____

14. Contacto com casos semelhantes de febre aguda: Sim❑ Não❑

15. Exposição em área de transmissão de dengue/presença de mosquitos: Sim❑ Não❑

Se sim : Local _____

16. Histórico de Dengue anterior: Sim❑ Não❑ Ano_____

17. Vacinação contra Febre Amarela (<10anos): Sim❑ Não❑

18. Contacto com animais : Sim❑ Não❑

Se Sim especifique: Rato❑ Aves❑ Macaco❑ Morcego❑ Cão❑ Gato❑

Gado: Ovino❑ Caprino❑ Suíno❑ Aves❑ Outro_____

19. Contacto com insectos: Sim❑ Não❑

Se sim especifique: Mosquito❑ Pulga❑ Carraça/carrapato❑ Outro_____

20. Contacto recente com local de mau saneamento: Sim❑ Não❑

Se sim: Valas de drenagem❑ Lixeira❑ Esgotos/Fossas❑ Outro: _____

21. Exposição recente a enchente/enxurradas: Sim❑ Não❑

Se sim: Local_____ Data_____

22. Hemotransfusão: Sim❑ Não❑

23. Abastecimento de Agua: Água canalizada❑ Poço/Nascente❑ Outra_____

24. Tratamento da agua para beber: Não❑ Coloração/Filtração/Fervura❑ Outra_____

25. Ingestão de leite não pasteurizado: Sim ❑ Não❑

26. Método de prevenção contra picada de insectos: Rede Mosquiteira❑ Repelente ❑

Insecticida intra-domiciliar❑ Insecticida extra-domiciliar❑

Outro _____

C. Quadro Clínico

27. Temperatura em °C : _____ 28. Duração da febre (número de dias):_____

28. Sintomatologia

Geral

Febre	❑	Cefaleia	❑	Nausea	❑	Vomitos	❑	Diarreia	❑
Calafrios	❑	Mialgia	❑	Atralgia	❑	Exantema	❑	Dor retroorbital	❑
Desidratação	❑	Fotofobia	❑	Ictericia	❑	Dor orofaringea	❑	Dor Abdominal	❑

Hemorragias

Epistaxe	❑	Hematêmese	❑	Melena	❑	Hemoptise	❑
Gengivorragia	❑	Equimoses	❑	Petequias	❑	Hemorragia Importante	❑
Sinais de choque	❑	Agitação	❑			Prova do laço positiva	❑

D. Exames solicitados na US local

29. TDR malária: Sim❑ Não❑ Se sim: Positivo❑ Negativo❑

30. TDR Dengue: Sim❑ Não❑ Se sim: Positivo❑ Negativo❑

31. Hemograma: Sim❑ Não❑

32. Bioquimica: Sim❑ Não

Outros :_____

E. Conducta terapêutica (Posto Sentinela)

33. Tratamento medicamentoso:

Antibiótico	❑	Analgésico	❑	Antipirético	❑	Anti Inflamátorio	❑

Corticoides ❑ Hidratação oral/ev ❑ Nenhum ❑

Outro_____

F. Conduta clínica (Posto Sentinela)

34. Desfecho:

Alta❑ Transferência❑ Internamento❑ Urgência ❑

Assinatura do Clínico:_____ Data:_____/_____/_____

Verificado por:_____Data: _____/_____/_____

Apêndices

Título do Projeto: Ocorrência do vírus zika em pacientes com febre aguda de origem desconhecida em Maputo.

Senhor (a),

Gostaríamos de convidá-lo (a) a participar como voluntário num estudo que está sendo conduzido pelo Instituto Nacional de Saúde. Antes de tomar a sua decisão é importante que leia com cuidado este consentimento informado, que lhe dará a informação necessária sobre os vários aspectos do estudo. O estudo foi aprovado pelo Comité Interinstitucional de Bioética em Saúde da Faculdade de Medicina e Hospital Central de Maputo (CIBS FM/HCM) de Moçambique. Não hesite em colocar ao seu clínico qualquer questão que lhe ocorra.

OBJECTIVO DO ESTUDO

Este estudo tem como objectivo investigar as causas de febre recente em Moçambique. Estamos particularmente interessados em investigar se alguns vírus que são transmitidos através da picada de mosquitos são responsáveis por essa febre. Além disso, pretendemos também entender o comportamento desses vírus em Moçambique, com vista a fornecer dados ao Ministério de Saúde para melhorar as estratégias de diagnóstico e seguimento de doenças febris agudas no país.

INFORMAÇÃO GERAL DO ESTUDO

Em Moçambique não existem dados sobre a ocorrência de zika e a capacidade de diagnóstico do zika é bastante reduzida, contudo tem se verificado uma redução de casos de malária, por outro lado os casos de febre de causa desconhecida tem aumentado, sendo que zika é uma doença cujo principal sintoma é a síndrome febril. A falta de dados e a incapacidade de diagnóstico tem resultado em consumo desnecessário de antimaláricos ou antibióticos e demora na cura ou até agravamento do doente devido ao desconhecimento da causa. Por outro lado, em Moçambique as condições de saneamento, a gestão dos residuos sólidos não é eficaz o que contribui para a criação de lugares que contribuem para o crescimento do mosquito que transmite

a zika. Por isso, é importante que se faça a investigação do vírus zika para saber se este vírus existe no país para que sejam criadas políticas que visam melhorar as estratégias de diagnóstico e seguimento do zika e outras arboviroses que causam febre no país.

PROCEDIMENTOS DO ESTUDO

Caso o Senhor/a aceite participar neste estudo, iremos fazer-lhe algumas perguntas pessoais e as respostas preenchidas num questionário preparado para o efeito. Por exemplo, algumas das perguntas que ser-lhe-ão feitas são: informação sobre a sua data de nascimento, a sua idade, contacto com animais, etc.

Depois do questionário, iremos colher, uma amostra de sangue equivalente a 2 colheres de sopa (10 ml). A amostra de sangue será colhida na sua veia do seu antebraço e de forma higiénica com assepsia prévia.

O Sr/Sra. será solicitado para voltar a segunda consulta dentro de 2 semanas após a primeira visita. O seu médico dará a informação e irá explicar os resultados dos testes realizados. Uma cópia destes resultados lhe será entregue. Outra cópia vai ser arquivada de uma forma segura e confidencial e será destruída logo após a divulgação dos resultados deste estudo.

Durante a segunda consulta ser-lhe-á solicitada uma segunda colheita amostra de sangue (5 ml) para pesquisa do zika. Assim, no tal durante o estudo deverá fornecer 15 mL de sangue venoso, dos quais 10 mL serão solicitados na visita de recrutamento e os 5 mL adicionais na segunda visita, duas semanas depois.

Os resultados da segunda consulta ser-lhe-ão entregues um mês após a segunda consulta, pois serão feitas várias análises e o tempo necessário para realizar estes testes é de pelo menos 2 semanas.

Em caso de necessidade de tratamento adicional ou de maior complexidade, o paciente será referido para o especialista no Hospital Central de Maputo, Hospital Central da Beira ou Hospital Provincial de Quelimane.

Existem riscos associados com este estudo?

Não prevemos nenhum risco com a sua participação para além de possível desconforto ou dor ligeira no momento da colheita de sangue.

Existe algum benefício para participar neste estudo?

Não haverá benefícios monetários ou incentivo deste estudo. No entanto, a sua amostra será analisada para algumas doenças que já mencionamos, o que pode torná-lo consciente em relação a causa da sua febre e deste modo o diagnóstico da sua doença poderá ser melhorado significativamente e consequentemente o tratamento para a sua febre também poderá ser melhorado. Além disso a informação da recolhida neste estudo pode nos ajudar a entender as causas de febre recente em indivíduos moçambicanos e ajudar a monitorar e tratar melhor os casos de febre recente em Moçambique. A sua participação neste estudo deve ser totalmente voluntária, não haverá penalidade por não participar.

Confidencialidade

Seus resultados são mantidos em sigilo, somente o pesquisador tem acesso às suas informações. Depois de aceitar participar no estudo será lhe atribuído um código único, exclusivo para este estudo e confidencial. O seu questionário e as suas amostras serão codificadas utilizando um código único de tal modo que ninguém poderá relacionar o seu questionário e suas amostras a si. Os documentos que contêm sua informação serão guardados em um lugar seguro e apenas o pesquisador principal terá acesso a ele. Quando o estudo terminar, os documentos contendo os resultados e informações pessoais serão destruídos. O relatório final do estudo não mencionará o seu nome.

Participação voluntária

A sua participação neste estudo é voluntária. É livre de aceitar ou não participar neste. Caso recuse em participar neste estudo isto não afectará o seu tratamento nesta unidade sanitária e será tratado normalmente. Além disso, se aceitar participar, é livre de decidir sair do estudo em qualquer momento, sem que isto afecte o seu atendimento nesta unidade sanitária.

Quem pode contactar em caso de problemas?

Se você tiver qualquer dúvida pode contactar a Investigadora Principal do estudo, a Argentina Muianga no email valiosa.muianga@gmail.comou no telefone nr 82-6704586. Se você tem alguma dúvida sobre seus direitos entre em contato com o Comité Interinstitucional de Bioética em Saúde da Faculdade de Medicina e Hospital Central de Maputo (CIBS FM/HCM) localizado fisicamente no Hospital Central de Maputo, Maputo.
Se você concordar em participar deste estudo, por favor assinar o termo de consentimento. Obrigado por participar neste estudo.

DECLARAÇÃO DO PARTICIPANTE

Fui informado verbalmente e por escrito sobre este estudo e compreendo de quê se trata. Sei também a quem contactar se necessitar mais informação. Compreendo que a confidencialidade será mantida. Compreendo que sou livre de sair do estudo ou retirar o participante para o qual sou o representante legal em qualquer altura, sem que isto afecte os cuidados normalmente recebidos. Concordo em participar neste estudo como sujeito voluntário e levarei uma cópia desta folha de informação para guardar.

Nome do participante no estudo: _____

Assinatura: _____ Data: _____

Impressão digital

Nome do representante legal (preencher apenas em participantes com menos de 18 anos)

_____

Data:_____

Investigador Principal:_____ Data: _____

Apêndice 1–Consentimento Informado

Nome do participante

_____

Código do participante_____

Tendo eu sido convidado a participar **no estudo:***"*_____**"**

Eu_____declaro que:

1. Fui informado de forma satisfatória que a presente pesquisa tem por finalidade recolher informação sobre os principais desafios e factores impulsionadores de demanda e de oferta de serviços de saúde em Moçambique de modo a informar sobre as áreas e estratégias prioritárias de governação participativa à Fundação MASC (Mecanismo de Apoio à Sociedade Civil).
2. Fui devidamente esclarecido da natureza da minha participação nesta pesquisa, dos riscos e benefícios que dela decorrem;
3. Compreendi que não receberei nenhuma recompensa material nem monetária por participar do estudo;
4. Fui devidamente esclarecido do direito que tenho em me retirar do estudo a qualquer momento sem qualquer prejuízo.
5. Compreendi que a informação relativa à minha participação terá carácter confidencial, e que em termos de grupo a informação será utilizada para caracterizar o que as pessoas sabem esteja a acontecer na provisão de serviços de saúde e encontrar formas mais adequadas para melhorar a qualidade de provisão dos serviços de saúde com mais qualidade.
6. Compreendi também que se tiver perguntas as poderei fazer contactando a qualquer momento o _____, investigador principal neste estudo, através do telefone número: _____.

7. Ou então se tiver alguma pergunta sobre os seus direitos em tanto que participante nesta pesquisa, ou se sentir que não foi tratado de forma adequada, pode contactar a Sra. _____ do Comité _____ (tel. _____).

Assinatura do participante

_____, aos ____ de _____ de _____