

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ**  
**INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA EVANDRO CHAGAS**  
**DOUTORADO EM PESQUISA CLÍNICA**  
**EM DOENÇAS INFECCIOSAS**

**RENATA SARAIVA PEDRO**

**INCIDÊNCIA DE INFECÇÃO PELOS VÍRUS**  
**DENGUE E ZIKA EM UMA COORTE PROSPECTIVA**  
**DE CRIANÇAS DE UMA COMUNIDADE URBANA NO**  
**RIO DE JANEIRO**

Rio de Janeiro

2019

RENATA SARAIVA PEDRO

**INCIDÊNCIA DE INFECÇÃO PELOS VÍRUS DENGUE E ZIKA EM UMA  
COORTE PROSPECTIVA DE CRIANÇAS DE UMA COMUNIDADE URBANA  
NO RIO DE JANEIRO**

Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas para obtenção do grau de doutor em Ciências.

Orientadoras: Patrícia Brasil e Marília Sá Carvalho.

Rio de Janeiro  
2019

Pedro, Renata Saraiva.

Incidência de infecção pelos vírus Dengue e Zika em uma coorte prospectiva de crianças de uma comunidade urbana no Rio de Janeiro / Renata Saraiva Pedro. - Rio de Janeiro, 2019.

130 f.; il.

Tese (Doutorado) - Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas, 2019.

Orientadora: Patrícia Brasil.

Co-orientadora: Marília Sá Carvalho.

Bibliografia: f. 81-91

1. Arboviroses. 2. Estudos de coorte. 3. Saúde materno-infantil. I. Título.

RENATA SARAIVA PEDRO

**INCIDÊNCIA DE INFECÇÃO PELOS VÍRUS DENGUE E ZIKA EM UMA COORTE  
PROSPECTIVA DE CRIANÇAS DE UMA COMUNIDADE URBANA  
NO RIO DE JANEIRO**

Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação *Stricto Sensu* em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas para obtenção do grau de doutor em Ciências.

Orientadoras: Prof. Dra. Patrícia Brasil  
Prof. Dra. Marília Sá Carvalho

Aprovada em: 19/06/2019

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Maria Cynthia Braga (Presidente)  
Instituto Aggeu Magalhães – FIOCRUZ

---

Profa. Dra. Aline Araújo Nobre  
Programa de Computação Científica – FIOCRUZ

---

Prof. Dr. André Machado de Siqueira  
Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas – FIOCRUZ

---

Profa. Dra. Maria Elisabeth Lopes Moreira  
Instituto Fernandes Figueira – FIOCRUZ

---

Profa. Dra. Renata dos Santos Rabello  
Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas – FIOCRUZ

---

Profa. Dra. Mayumi Duarte Wakimoto (Suplente)  
Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas – FIOCRUZ

Dedico aos meus pais Isaias e Gessi,  
à Mariana e ao Davidson  
por estarem sempre ao meu lado.

**Ao meu pequeno Rafael,**

*Promete que não vai crescer distante  
Promete que vai ser pra sempre assim  
Promete esse sorriso radiante  
Todas as vezes que você pensar em mim*

*Promete cuidar bem dos seus cachinhos  
E sempre me abraçar quando eu chegar  
Promete sorrir sempre com os olhinhos  
E cantar cantigas na sala de estar*

*Que eu prometo ser pra sempre o seu porto seguro  
Prometo dar-te eternamente o meu amor*

*Promete aproveitar cada segundo  
Desse tempo que já passa tão veloz  
Me lembro quando você chegou nesse mundo  
Sorrindo aos poucos quando ouviu minha voz*

*E hoje corre pela sala, brinca de existir  
Giz de cera, pega-pega  
E eu só sei sorrir  
Ao imaginar você crescer*

*Para um pouco com a bagunça, deixa eu te olhar  
Que o tempo voa e olha só  
Você sabe falar  
E diz tudo que eu preciso escutar ...*

*Promete ser pra sempre o meu menino  
Me deixar cantar pra te fazer dormir  
Que eu prometo que vou te cuidar pra sempre  
Eu te amo infinito, meu guri*

Promete (Ana Vilela)

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por não me deixar desistir diante às dificuldades.

Ao meu filho Rafael que me transformou e mudou meu jeito de olhar a vida, agradeço pelas alegrias diárias, pelo sorriso largo, pelos beijos e pelos abraços apertados. Obrigada por aceitar a ausência da mamãe em muitos momentos e, mais do que tudo, obrigada por não compreender isso e me fazer parar tudo para brincar com você. Meu filho, te amo incondicionalmente!

Ao Davidson de Azevedo Santos, meu amor e amigo agradeço pelo apoio incondicional, por sua compreensão, amizade e incentivo em continuar com este trabalho. Agradeço por seu um super pai pro nosso filho, pelas idas à pracinha e à Lagoa com o Rafa para que eu pudesse estudar e trabalhar nesta tese.

Aos meus pais Isaias Pedro e Gessi Saraiva Pedro por toda dedicação a mim e ao meu filho. Agradeço por estarem sempre ao meu lado me auxiliando a seguir em frente. Ao me tornar mãe compreendi esse amor incondicional e espero honrá-los sempre. À minha irmã Mariana Saraiva Pedro pelo carinho, amor e momentos de divertimento. Vocês foram peças fundamentais para que eu pudesse seguir com este trabalho.

Aos queridos Walter, Regina, Angélica, André, Aline e Elias pelas orações e auxílio. Ao meu amado sobrinho Otávio pelo carinho.

Aos amigos que escolhi como família Mariana Emerenciano Cavalcanti de Sá, minha irmã do coração, e Lauro Cavalcanti de Sá, pelo convívio e amizade. Ao Bê e à Lara, meus sobrinhos amados, pelos momentos de descontração.

À Anielle de Pina Costa, minha grande amiga que a Fiocruz me deu de presente em 2007, agradeço pelas palavras e atitudes de encorajamento na execução deste trabalho e por ser um anjo em minha vida.

Às mães da Coorte de Manguinhos por participaram desta pesquisa e por acreditarem na ciência.

Aos colegas da equipe da Coorte de Manguinhos pela dedicação diária para a condução de uma pesquisa com qualidade; à querida Stephanie Suarez pela amizade e apoio na construção do banco de dados; à Linalva Alves Reis por estar sempre pronta em me auxiliar na coleta dos dados da pesquisa e pelos momentos de uma boa prosa; à Kelly de Almeida Prado pela dedicação ao trabalho; à Mirian Sobrinho pelo companheirismo e à Carolina Melo

pela separação das amostras laboratorias. Às pediatras, enfermeiras, flebotomistas e aos assistentes de campo por toda ajuda e colaboração.

Às minhas parceiras do dia a dia, Luana e Renata pela compreensão, apoio e conselhos. Nossas conversas e discussões foram fundamentais na condução da Coorte de Manguinhos e na elaboração desta tese.

Aos colegas do Laboratório de Doenças Febris Agudas do INI pelo companheirismo e por toda a ajuda na realização deste trabalho. Ao Doutor André Machado de Siqueira pela amizade e importantes contribuições na revisão deste trabalho.

Aos gestores e funcionários do Centro de Saúde Escola Germano Sinval Faria da ENSP e Clínica da Família Victor Valla pela colaboração.

Aos colegas da Plataforma de Pesquisa do INI pela colaboração, em especial à Jennifer Braathen Salgueiro pela amizade e incentivo, ao Daniel Tavares Almeida de Paiva pela parceria na estruturação do banco de dados e ao Marcel de Souza Borges Quintana pelo auxílio na análise estatística e por estar sempre disponível mesmo com sua agenda cheia de compromissos.

À Doutora Mayumi Wakimoto do Serviço de Vigilância em Saúde do INI pela parceria.

Aos colegas do Laboratório de Tecnologia Viroológica de Biomanguinhos pela colaboração, em especial à Ana Claudia Machado Duarte pela presteza na realização dos testes de PRNT.

Aos colegas do Núcleo Operacional Sentinela de Mosquitos Vetores (NOSMOVE), em especial à Doutora Nildimar Honório e Tania Ayllón pela parceria ao longo desses anos.

Ao Jefferson dos Santos do Centro de Inovação em Biodiversidade e Saúde (Farmanguinhos/Fiocruz) e Monica Magalhães do Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde / Fiocruz pela elaboração dos mapas apresentados nesta tese.

À Priscilla Tavares de Sá e aos funcionários do Ensino/INI pela colaboração.

À Fiocruz e à Capes pelo apoio estrutural e financeiro.

À Doutora Marília Sá Carvalho pela sabedoria em transmitir seu conhecimento e por ter as palavras certas nos momentos necessários.

À Doutora Patrícia Brasil - minha tutora há 10 anos - agradeço pelo incentivo e ensinamentos. A oportunidade de atuar na coorte materno-infantil de Manguinhos desde o início em 2012 recrutando gestantes, passando pelo controle de qualidade dos questionários preenchidos e, por fim na coordenação do estudo, possibilitou a elaboração desta tese.



*A educação é a arma mais poderosa  
que você pode usar para mudar o mundo.*

Nelson Mandela (1918-2013)

## RESUMO

Dengue e Zika são arboviroses transmitidas, principalmente, pelo *Aedes aegypti*, de extrema relevância mundial pela alta incidência e potencial gravidade clínica. Desde meados de 1980, o vírus Dengue (DENV) é o principal responsável por epidemias com elevada morbidade no Brasil. A entrada do vírus Zika (ZIKV) trouxe também a necessidade de estimar sua incidência e manifestações clínicas entre crianças, além das já conhecidas relacionadas à gestação. Até o momento são poucos os estudos longitudinais sobre essas arboviroses em crianças provavelmente pela dificuldade de obtenção de material biológico de repetição nesta faixa-etária. O objetivo deste trabalho foi calcular a incidência de Dengue e Zika em uma coorte prospectiva de base populacional de crianças de 0-5 anos de idade em Manguinhos, de 2012 a 2018. A taxa de incidência da infecção pelo DENV por 1.000 pessoas-ano e respectivos intervalos de confiança foram estimados pelo modelo de Poisson; e a taxa de incidência de infecção pelo ZIKV foi calculada pela proporção do número de casos entre as crianças em acompanhamento. Ajustou-se um modelo misto Bayesiano para estimar a associação entre fatores de risco e a incidência dessas arboviroses. Todos os dados foram analisados no software R versão 3.23. Foram incluídos 387 neonatos de mulheres recrutadas no terceiro trimestre de gestação. Para a compensação das perdas, 501 crianças de 0-5 anos de idade foram incluídas a partir de 2015. As questões metodológicas e a complexidade da implantação desta coorte pediátrica apresentaram obstáculos e elementos facilitadores. A vigilância ativa de febre foi realizada por telefone, *facebook* e *whatsapp*. Do total de 3.472 consultas pediátricas, 39% foram consultas de febre ou exantema. Nenhum padrão temporal, sazonal ou pico de casos febris e/ou exantema foi observado no período. A taxa de incidência de infecção pelo DENV, 320 casos/1.000 pessoas-ano (IC95%: 272-373) foi consequência da epidemia de 2012-2013 e da introdução do DENV-4 no Rio de Janeiro. A taxa de incidência de infecção pelo ZIKV (9,3%), menor do que a esperada para uma área com alta densidade de *Ae. aegypti* pode ser atribuída à proteção cruzada observada entre infecção recente pelo DENV e a chance de infecção pelo ZIKV (OR: 0,42; IC 95%: 0,19-0,87). A febre esteve presente em 21% e 45% das infecções pelo DENV e ZIKV, respectivamente. Os sinais respiratórios associados ou não à febre foram os mais prevalentes (41,4%) nas consultas pediátricas. Portanto, a suspeita clínico-epidemiológica dessas arboviroses em crianças não deve se restringir aos sintomas clássicos. Deve-se considerar também que o ambiente da moradia das famílias em Manguinhos é propício para a infecção, devido a proximidade dos domicílios em territórios desfavorecidos com diversas carências e necessidades.

**Palavras-chave:** Arboviroses, Estudos de coorte, Saúde materno-infantil

## ABSTRACT

Dengue and Zika are arbovirose considered a global health problem due to their significant morbidity in humans. Both diseases are transmitted, mainly, by the urban mosquito species, *Aedes aegypti*. Dengue is an important cause of epidemics since the 1980s, and Zika virus emergence in Brazil and its consequences in the neonates have raised major concerns. There are few clinical and epidemiological studies about arbovirose in infants. The objective of this study was to calculate the incidence of Dengue and Zika in a prospective populational-based cohort of 0-5-year-old children resident in Manguinhos, from 2012 to 2018. The incidence rate of DENV infection per 1,000 person-years and its confidence intervals were estimated by the Poisson model; and the incidence rate of ZIKV infection was calculated by the proportion of the number of cases among children in follow up. A mixed Bayesian model was fitted to estimate the association between risk factors and the incidence of Dengue and Zika. Statistical analysis was performed using R statistical package, version 3.23. A total of 387 newborns were included in the initial cohort. The cohort was reopened in 2015 to compensate the dropout rate and 501 new children (0-5 years-old) were included. The methodological aspects and the complexity of implementing a comprehensive cohort study in areas of a large urban settlement in a middle-income country had obstacles and facilitators. Active febrile surveillance was performed by telephone calls, social networking, message apps, and household visits. During the study, 3,472 pediatric visits were performed, which 39% were febrile/rash consultations. The number of febrile or rash consultations increased 3.5-fold after the use of media tools for surveillance. No temporal pattern, seasonality or peak of febrile cases was observed during the study period. The high incidence rate of Dengue (320 cases/1000 py; CI: 272-373) was consequence of the Dengue epidemic between 2012 and 2013 and the recent introduction of the DENV-4 serotype in Rio de Janeiro. The incidence rate of ZIKV infection (9.3%) was lower than expected for an area with high density of *Ae. aegypti*, and may be due to the cross-protection observed between recent infection by DENV and the chance of infection by ZIKV (OR: 0.42; 95% CI: 0.19-0.87). Fever was present in 21% and 45% of DENV and ZIKV infections, respectively. Respiratory signs with or without fever were the most prevalent (41.4%) in the pediatric consultations. Therefore, the clinical-epidemiological suspicion of Dengue and Zika in children should not be based on classic symptoms. It should also be considered that neighborhood conditions could favor the presence of *Ae. Aegypti* since the households are near to each other in low-income communities.

**Keywords:** Arbovirus Infections, Cohort Studies, Maternal and Child Health

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 2.1: Série histórica dos casos notificados suspeitos de Dengue, no estado do Rio de Janeiro, conforme sorotipo viral predominante, 2000 a 2017. ....	20
Figura 2.2: Classificação dos casos de Dengue de acordo com a Organização Mundial da Saúde em 2009. ....	22
Figura 2.3: Evolução laboratorial da infecção pelo vírus do Dengue. ....	3030
Figura 2.4 Diagnóstico laboratorial da infecção pelo vírus Zika .....	31
Figura 2.5: Algoritmo de conduta laboratorial para diagnóstico diferencial de DENV e ZIKV. ....	311
Figura 5.1: Desenho do estudo Coorte Manguinhos. ....	344
Figura 5.2: Recrutamento e seguimento das crianças da coorte para o estudo de Dengue e Zika em Manguinhos. ....	37
Figura 6.1: Investigação sorológica de Dengue e Zika entre 2015 e 2018.....	42
Figura 7.1: Diagrama de Lexis do seguimento das crianças de acordo com a idade. ....	47
Figura 7.2: Fluxograma das crianças da 1ª onda da Coorte de Manguinhos.....	48
Figura 7.3: Fluxograma da inclusão das crianças na 2ª onda da Coorte de Manguinhos .....	49
Figura 7.4: Número de crianças incluídas na 2ª onda da coorte, de acordo com a idade no momento do recrutamento e por ano. ....	49
Figura 7.5: Número de crianças da 2ª onda (reabertura da coorte) incluídas por ano e seu seguimento no decorrer do estudo. ....	50
Figura 7.6: Distribuição geográfica dos participantes da Coorte de Manguinhos, 2012-2018. ....	522
Figura 7.7: Série temporal dos casos mensais de febre e/ou exantema de maio/2012 a julho/2018.....	544
Figura 7.8: Incidência anual de infecção vírus Dengue entre os lactentes e as crianças da coorte de Manguinhos. ....	566
Figura 7.9: Proporção de infecções pelo vírus Dengue (N=152) segundo presença de febre por faixa etária (anos). ....	57
Figura 7.10: Proporção de sinais apresentados entre os lactentes e crianças com infecção pelo vírus Dengue (N=152).....	58
Figura 7.11: Proporção de infecções pelo vírus Zika com e sem histórico de febre de acordo com a faixa etária (anos).....	65
Figura 7.12: Proporção de sinais clínicos nas infecções pelo ZIKV (N=49). ....	66

## LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1: Periodicidade dos ensaios laboratoriais realizados.....	39
Tabela 6.1: Diagnóstico de infecção por DENV e ZIKV de acordo com os testes laboratoriais realizados.....	400
Tabela 7.1: Características dos domicílios dos participantes da coorte de Manguinhos.....	511
Tabela 7.2: Sinais clínicos observados nas consultas pediátricas da Coorte de Manguinhos, 2012-2018.....	533
Tabela 7.3: Exames laboratoriais realizados na Coorte de Manguinhos, 2012-2018.....	555
Tabela 7.4: Incidência de Dengue em lactentes e crianças da coorte de Manguinhos no período de 2012-2015.....	577
Tabela 7.5: Sinais clínicos apresentados nas consultas pediátricas de acordo com o resultado laboratorial para Dengue na coorte de Manguinhos no período de 2012-2015.....	59
Tabela 7.6: Características das gestantes segundo diagnóstico laboratorial de infecção pelo vírus Dengue entre os lactentes e as crianças da Coorte de Manguinhos, 2012-2015.....	61
Tabela 7.7: Características dos domicílios das crianças acompanhadas na Coorte de Manguinhos segundo infecção pelo vírus Dengue, 2012-2015.....	63
Tabela 7.8: Características dos lactentes e das crianças segundo diagnóstico laboratorial de infecção pelo vírus Zika, Coorte de Manguinhos, 2015-2018.....	64
Tabela 7.9: Características das gestantes segundo diagnóstico laboratorial de infecção pelo vírus Zika entre as crianças da Coorte de Manguinhos, 2015-2018.....	68
Tabela 7.10: Características dos domicílios das crianças acompanhadas na Coorte de Manguinhos segundo infecção pelo vírus Zika, 2015-2018.....	70
Tabela 7.11: Efeito da exposição à epidemia de Dengue e infecção prévia pelo vírus Dengue na chance de infecção pelo vírus Zika entre as crianças da Coorte de Manguinhos, 2015-2018.....	71

## ABREVIATURAS E SIGLAS

CAAE	Certificado de apresentação pra apreciação ética.
CDC	Controle e Prevenção de Doenças ( <i>Center of disease control</i> )
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CFVV	Clínica da Família Victor Valla
CHIKV	Vírus Chikungunya
CMSM	Centro Municipal de Saúde Manguinhos
DENV	Vírus Dengue
DFA	Doenças Febris Agudas
ELISA	Ensaio imunoenzimático
ENSP	Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca
GEE	Equações de Estimação Generalizada
IC	Intervalo de confiança
IC	Intervalo de credibilidade, em caso de Modelos Bayesianos
IDH	Índice de Desenvolvimento Humano
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
INI	Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas
MS	Ministério da Saúde
NS1	Antígeno NS1
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Panamericana de Saúde
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PRNT	Teste de soroneutralização por redução do número de placas de lise
RNA	Ácido ribonucélico
RT-PCR	Quantificação de RNA viral por Transcrição Reversa seguida da Reação em Cadeia da polimerase
SCZ	Síndrome Congênita do Zika
SIAB	Sistema de Informação de Atenção Básica
SGB	Síndrome de Guillain-Barré
SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TEIAS	Territórios Integrados de Atenção à Saúde
ZIKV	Vírus Zika

# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>16</b>
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>18</b>
<b>2.1 DENGUE E ZIKA .....</b>	<b>18</b>
2.1.1 Dengue.....	18
2.1.1.1 Manifestações clínicas do Dengue .....	20
2.1.2 Zika.....	23
2.1.1.2 Manifestações clínicas do Zika vírus .....	25
<b>2.2 ESTUDOS SOBRE DENGUE E ZIKA EM CRIANÇAS .....</b>	<b>26</b>
<b>2.3 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS INFECÇÕES PELO DENV E PELO ZIKV .....</b>	<b>29</b>
<b>3 JUSTIFICATIVA .....</b>	<b>32</b>
<b>4 OBJETIVOS .....</b>	<b>33</b>
<b>4.1 OBJETIVO GERAL .....</b>	<b>33</b>
<b>4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....</b>	<b>33</b>
<b>5. MÉTODO.....</b>	<b>34</b>
<b>5.1 DESENHO DO ESTUDO .....</b>	<b>34</b>
<b>5.2 CASUÍSTICA E MÉTODOS .....</b>	<b>34</b>
5.2.1 Local do estudo.....	35
5.2.2 Tamanho da amostra.....	36
5.2.3 Critérios de elegibilidade e recrutamento .....	36
5.2.4 Seguimento da coorte de crianças .....	37
5.2.4.1 Vigilância de casos febris ou exantemáticos .....	37
5.2.5 Ensaio laboratoriais.....	38
5.2.6 Caracterização Ambiental.....	39
<b>6 PLANO DE ANÁLISE.....</b>	<b>40</b>
<b>6.1 COLETA DOS DADOS E REGISTRO .....</b>	<b>40</b>
<b>6.2 DESFECHO .....</b>	<b>40</b>
<b>6.3 VARIÁVEIS DE INTERESSE.....</b>	<b>43</b>
<b>6.4 ANÁLISE DE DADOS.....</b>	<b>44</b>
6.4.1 Descrição da coorte de Manguinhos.....	44
6.4.2 Incidência das infecções por DENV ou ZIKV .....	45
6.4.3 Sinais clínicos e fatores associados à infecção pelo DENV e pelo ZIKV .....	45
<b>6.5 ASPECTOS ÉTICOS .....</b>	<b>46</b>
<b>7 RESULTADOS .....</b>	<b>47</b>
<b>7.1 CARACTERÍSTICAS DA COORTE .....</b>	<b>47</b>
7.1.1 Consultas de seguimento .....	53
<b>7.2 INCIDÊNCIA DE INFECÇÕES PELO DENV E ZIKV EM CRIANÇAS.....</b>	<b>55</b>
7.2.1 Incidência de infecções pelo vírus Dengue .....	55
7.2.1.1 Fatores associados à infecção pelo DENV .....	60

7.2.2 Incidência de infecções pelo vírus Zika .....	64
7.2.2.1 Fatores associados à infecção pelo ZIKV .....	67
7.2.3 Relação entre as infecções pelo DENV e pelo ZIKV .....	71
<b>8 DISCUSSÃO .....</b>	<b>72</b>
<b>8.1 CARACTERÍSTICAS DA COORTE DE NASCIMENTO DE MANGUINHOS .</b>	<b>72</b>
8.1.1 Fatores que contribuíram para as perdas de seguimento .....	72
8.1.2 Fatores que contribuíram para adesão .....	73
<b>8.2 INCIDÊNCIA DE INFECÇÕES PELO DENV E ZIKV EM LACTENTES E CRIANÇAS .....</b>	<b>74</b>
8.2.1 Dengue.....	74
8.2.2 Zika.....	75
8.2.3 Dengue e Zika.....	76
8.2.1 Fatores associados às infecções pelo DENV e pelo ZIKV .....	77
8.2.2 Relação entre as infecções pelo DENV e pelo ZIKV.....	78
<b>9 CONCLUSÕES.....</b>	<b>80</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>81</b>
APÊNDICE A: Distribuição dos participantes em relação à infecção pelo vírus dengue na área do estudo, Manguinhos, 2012-2015. ....	92
ANEXO A: Termo de consentimento livre e esclarecido – Coorte Inicial .....	94
ANEXO B: Termo de consentimento livre e esclarecido – Extensão do acompanhamento da Coorte Inicial .....	96
ANEXO C: Termo de consentimento livre e esclarecido – Reabertura da Coorte .....	98
ANEXO D: Questionário do domicílio .....	100
ANEXO E: Termo de consentimento livre e esclarecido – Domicílio.....	105
ANEXO F: Questionário do Lactente .....	107
ANEXO G: Questionário do Lactente Febril .....	109
ANEXO H: Questionário da Gestante.....	113
ANEXO I: Artigo publicado.....	114



## 1 INTRODUÇÃO

As arboviroses são doenças virais transmitidas por artrópodes, consideradas um problema de saúde global devido à sua significativa morbidade em humanos. O mosquito *Aedes aegypti* é considerado urbano e transmite arbovírus que causam doenças relevantes no homem como Dengue, Zika e Chikungunya (DONALISIO; FREITAS; ZUBEN, 2017).

O Dengue é endêmico em cerca de 100 países, com 3,2 milhões de casos notificados em 2015 (OMS, 2016a). No Brasil, o vírus Dengue (DENV) é o principal responsável por epidemias desde 1980, o vírus chikungunya (CHIKV) surgiu em 2014 (NUNES et al., 2015) e o vírus zika (ZIKV) em 2015. O surgimento do ZIKV e sua disseminação pelo Brasil trouxeram preocupações relevantes acerca da Síndrome Congênita do Zika (SCZ) e suas consequências no neonato (ALVES et al., 2018; BRASIL et al., 2016b, 2016c; CAMPOS; BANDEIRA; SARDI, 2015; FRANÇA et al., 2018; LOWE et al., 2018). Atualmente no Rio de Janeiro há a circulação conjunta dos quatro sorotipos do DENV assim como ZIKV e CHIKV (ALBUQUERQUE et al., 2012; BRASIL et al., 2016b, 2016b; DE SIMONE et al., 2004; HERINGER et al., 2017; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA et al., 2004).

Estudos de coorte prospectivos são necessários para entender melhor os aspectos clínicos e os padrões de transmissão desses arbovírus, principalmente em regiões onde diversos os vírus cocirculam e podem influenciar tanto a capacidade do vetor quanto a resposta imune humana. Contudo, são poucos os estudos longitudinais em lactentes provavelmente pela dificuldade de obtenção de material biológico de repetição nesta faixa etária.

Foram conduzidos estudos prospectivos em coortes de neonatos em países do Sudeste Asiático e na Nicarágua para estudo das doenças infecciosas mais prevalentes nessa população como Dengue, influenza e rotavírus (ANDERS et al., 2013; CHAU et al., 2009; GORDON et al., 2013; LIBRATY et al., 2009). No Brasil, podemos destacar a coorte de nascimentos de Pelotas cujo objetivo é descrever o perfil epidemiológico da população, tanto do ponto de vista dos agravos à saúde, como dos fatores de risco, avaliando a situação de saúde perinatal dos recém-nascidos (BARROS et al., 2006, 2008); e a coorte materno-infantil de Recife para o estudo de Dengue na região (BRAGA et al., 2016).

Após o surgimento do ZIKV, estudos de coorte materno-infantil foram estabelecidos para a caracterização da doença e suas consequências nos desfechos da gestação (VAN

KERKHOVE et al., 2016). No entanto, pouco se sabe sobre a infecção por ZIKV em crianças adquirida após o nascimento (GOODMAN, 2016).

Como os estudos prospectivos com vigilância sorológica ativa e passiva são importantes para estimar a incidência de arboviroses e orientar medidas de controle, o Laboratório de Doenças Febris Agudas do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI/Fiocruz) estabeleceu uma coorte materno-infantil para o estudo de arboviroses na comunidade de Manguinhos na cidade do Rio de Janeiro.

Em 2012, considerando o cenário epidemiológico no Brasil, o objetivo principal era aumentar o conhecimento sobre a prevalência de anticorpos maternos e a cinética da transferência transplacentária de anticorpos anti-DENV da mãe, essencial para entender a dinâmica da incidência da doença e estabelecer a idade ideal para a vacinação. Além disso, esperava-se contribuir para a identificação de casos assintomáticos e seu papel na transmissão da doença, o que se tornou ainda mais desafiador após a emergência do ZIKV devido às suas reações sorológicas cruzadas com o DENV.

Sabe-se que o mosquito *Ae. aegypti* é considerado o principal vetor do DENV e ZIKV em áreas urbanas; contudo, o *Ae. albopictus* também pode estar associado à transmissão do ZIKV (CHOUIN-CARNEIRO et al., 2016). Recentemente, constatou-se que o *Ae. albopictus*, mais comumente encontrado em áreas com maior cobertura vegetal, está presente em áreas negligenciadas e densamente urbanizadas como Manguinhos (AYLLÓN et al., 2018).

Este estudo é parte da coorte materno-infantil de Manguinhos cuja proposta foi ser um estudo de base populacional e de atenção primária, prospectivo, com sorovigilância ativa e passiva de uma coorte de crianças de zero a cinco anos de vida, na comunidade de Manguinhos, uma área urbana no Rio de Janeiro, onde há altos níveis de transmissão do Dengue caracterizada. Nesta tese estimou-se a incidência de Dengue e zika na coorte de Manguinhos, assim como os fatores associados às infecções. O estudo da infecção pelo ZIKV adquirida após o nascimento pretendeu esclarecer questões acerca da doença em crianças, uma vez que os participantes foram acompanhados durante os períodos de epidemias de transmissão de zika no Rio de Janeiro.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 DENGUE E ZIKA

#### 2.1.1 Dengue

O Dengue é considerado uma das mais importantes arboviroses humanas transmitidas por mosquitos no mundo. É uma doença causada por vírus (DENV) de genoma RNA pertencente à família *Flaviviridae* e ao gênero *Flavivirus*. Até o momento, são conhecidos quatro sorotipos antigenicamente distintos, denominados DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4 (GUZMAN et al., 2016; HALSTEAD, 1988, 2008).

O vírus é transmitido ao homem pela picada da fêmea do mosquito infectado *Aedes aegypti*, espécie que se encontra amplamente distribuída nas áreas tropicais e subtropicais, sendo o principal vetor da transmissão do vírus. O *Ae. albopictus*, também tem sido relacionado com surtos em diversas regiões e é considerado como vetor secundário na transmissão do Dengue (OMS, 2016a; OOI; GUBLER, 2011).

Sabe-se que a transmissão do Dengue é essencialmente urbana, visto que é nesse ambiente onde se encontram todos os fatores para a sua ocorrência: o homem, o vírus, o vetor e, principalmente, as condições políticas, econômicas e culturais favoráveis ao estabelecimento da cadeia de transmissão (MARZOCHI, 1994). As grandes cidades são os locais ideais para a interação humana e a reprodução dos mosquitos uma vez que a ocupação desigual do espaço forma paisagens que podem promover habitats favoráveis ao *Ae. aegypti* e estratos diferenciados de transmissão de Dengue. Aliados ao processo de urbanização desordenada, a grande circulação de pessoas nessas cidades e o aumento da temperatura, favorecem a persistência do *Ae. aegypti* e emergência do Dengue (BARCELLOS et al., 2005; COSTA; NATAL, 1998).

Em 1986, foi observado epidemia de Dengue no Rio de Janeiro pelo tipo DENV-1 com a rápida dispersão para outros estados do território brasileiro, culminando com as epidemias que acometeram alguns estados da região Nordeste (Alagoas, Ceará, Pernambuco, Bahia) e Mato Grosso do Sul (CUNHA et al., 1998; SCHATZMAYR; NOGUEIRA; ROSA, 1986; TEIXEIRA et al., 2001).

O sorotipo DENV-2 foi responsável pela epidemia no Brasil (DE SOUZA et al., 1995; NOGUEIRA et al., 1990) cuja introdução no Rio de Janeiro ocorreu quatro anos depois do DENV-1, em 1990. A circulação concomitante dos sorotipos DENV-1 e DENV-2 foi

responsável pelos primeiros casos de Dengue hemorrágico em várias regiões brasileiras (CUNHA et al., 1998, 1999; NOGUEIRA et al., 1993; VASCONCELOS et al., 1995), caracterizando a Epidemia de 1990/1991.

Com a identificação do sorotipo DENV-3 também no Rio de Janeiro em final de 2000, observou-se o aumento expressivo do número de casos de Dengue no estado ao longo do ano seguinte ocorrendo uma das epidemias mais graves com diversos casos de febre hemorrágica do Dengue (FHD) e óbitos relacionados (NOGUEIRA et al., 2001; NOGUEIRA; ARAÚJO; SCHATZMAYR, 2007). Cerca de 700 mil casos de Dengue foram notificados em todo o Brasil durante a epidemia em 2002 (MS; SVS, 2011).

Em 2007 houve a reemergência do DENV-2 que ocasiono a epidemia de 2008 pela mudança no perfil epidemiológico com a ocorrência de casos graves e hospitalizações em crianças (TEIXEIRA et al., 2008). A introdução do DENV-4 em março de 2011 resultou na circulação conjunta dos quatro sorotipos (DENV-1, 2, 3 e 4) no Brasil, inclusive no estado do Rio de Janeiro (DE SIMONE et al., 2004; HONORIO, 2009; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA et al., 2004; NOGUEIRA; EPPINGHAUS, 2011; NOGUEIRA et al., 2005; NOGUEIRA; ARAÚJO; SCHATZMAYR, 2007).

Como já mencionado anteriormente, nas últimas décadas, o país viveu quatro grandes epidemias, associadas à alternância do sorotipo viral predominante: DENV-1, DENV-3, DENV-2, e DENV-4, em 1998, 2002, 2008 e 2011, respectivamente. Em 2015, foram registrados 1.688.688 casos prováveis de Dengue no país, com predomínio do DENV-1 dentre as amostras testadas (MS, 2015a, 2016). Entre os anos de 2000 e 2015, verificou-se aumento de 232,7% no número de casos e de 639,0% no número de mortes no país (ARAÚJO et al., 2017). No Estado do Rio de Janeiro, até o 1º semestre de 2018, foram 11.443 casos prováveis notificados e entre as 157 internações, houve maior concentração em menores de 15 anos (29,9%) (SES, 2018).

A figura 2.1 ilustra o sorotipo de Dengue por ano de 2000 a 2017 no Rio de Janeiro com predominância de DENV-1 e DENV-4 nos últimos anos. A Secretaria de Estado de Saúde do Rio de Janeiro emitiu informe sobre o risco para ocorrência de uma nova epidemia, uma vez que casos raros de DENV-2 e DENV-3 foram detectados no final de 2017 e início de 2018 (SES, 2018).

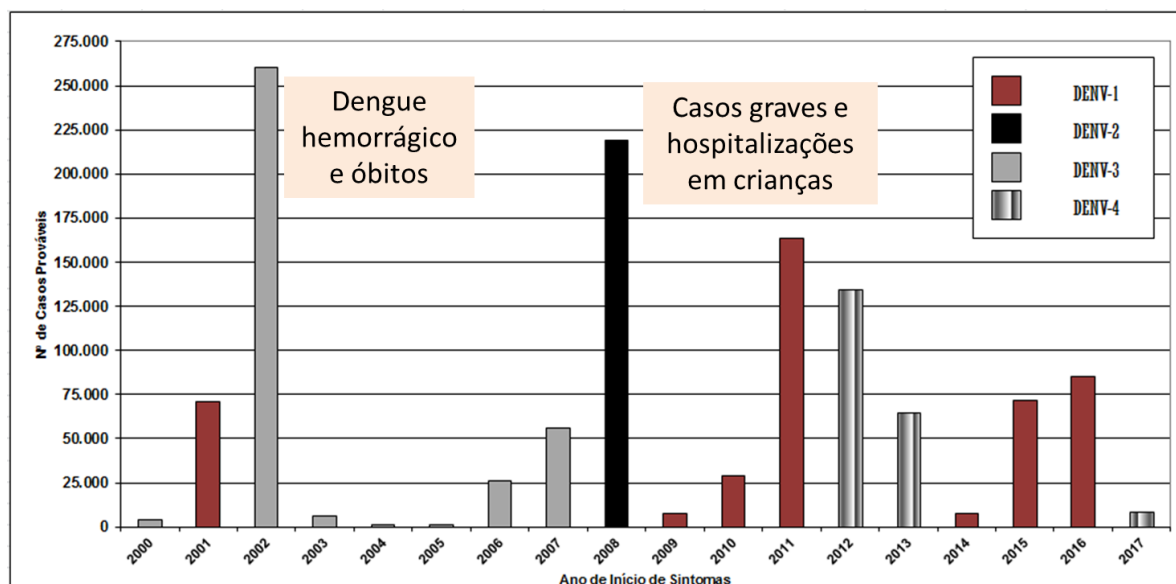


Figura 2.1: Série histórica dos casos notificados suspeitos de Dengue, no estado do Rio de Janeiro, conforme sorotipo viral predominante, 2000 a 2017. Adaptado de: Secretaria de Estado de Saúde do Rio de Janeiro, 2018.

O padrão epidemiológico do Dengue no Brasil sofreu mudanças na distribuição etária, com aumento da incidência e gravidade dos casos de Dengue em crianças e adolescentes, particularmente nas regiões Norte e Nordeste (FONSECA, 2009; MS, 2009; PONE et al., 2016, 2018; TEIXEIRA et al., 2008) e no Rio de Janeiro após a epidemia em 2008, na qual foram notificados 250.200 casos e 123 óbitos, com 42% dos óbitos em menores de 15 anos de idade (MS; SVS, 2011).

Uma recente revisão sobre os casos fatais de Dengue no Brasil demonstrou que, após 2009, houve uma diminuição nos casos fatais em crianças menores de 15 anos e um aumento em indivíduos acima de 15 anos, principalmente devido à presença de comorbidades entre os mais velhos (NUNES et al., 2019). Contudo, a maioria dos casos de internação por causa do Dengue ocorre em indivíduos com menos de 15 anos independente de epidemia (SES, 2018; VERHAGEN; DE GROOT, 2014).

### 2.1.1.1 Manifestações clínicas do Dengue

Após um período de incubação de três a 14 dias, a infecção pelo vírus do Dengue pode apresentar-se com espectro clínico que varia desde quadro assintomático ou oligossintomático até manifestações graves com hemorragia e choque podendo evoluir para óbito (OOI; GUBLER, 2011).

Dengue clássico é definido como uma doença febril aguda caracterizada por febre de início súbito de duração de até sete dias, associada a dois ou mais dos seguintes sintomas: cefaléia, dor retroorbitária, mialgia, artralgia, náuseas, vômitos, exantema e prurido cutâneo acompanhado ou não de manifestações hemorrágicas. Pode acometer indivíduos de todas as faixas etárias (bebês, crianças, adolescentes, adultos e idosos) (HASAN et al., 2016). Por apresentar quadro clínico variado e semelhante ao da gripe e de outras arboviroses, o diagnóstico preciso depende de confirmação laboratorial.

A doença pode evoluir em três fases clínicas: a fase febril aguda (observada na maioria dos pacientes), a fase crítica e a fase de recuperação. Na fase febril aguda, a primeira manifestação clínica é a febre, de início abrupto e com intensidade variável. Essa fase dura geralmente de dois a sete dias e pode estar associada à cefaleia, à prostração, à mialgia, à artralgia, à dor retroorbitária, e ao exantema, presente em 50% dos casos. Anorexia, náuseas, vômitos e diarreia podem estar presentes. Manifestações hemorrágicas leves como petéquias, sangramento nasal e gengivorragia podem ser observadas. Em crianças, a febre é frequentemente a única manifestação clínica ou está associada a exantema e / ou sintomas digestivos inespecíficos (OMS, 2016a). Após a fase febril, grande parte dos pacientes recupera-se gradativamente com melhora do estado geral e retorno do apetite (GUZMAN et al., 2016; OMS, 2016a). Para esses pacientes, a doença é considerada como Dengue não grave (OMS, 2009).

Alguns pacientes evoluem para a fase crítica da doença no período durante o qual a febre desaparece (defervescência). Ocorre de três a sete dias da doença e tem-se aumento da permeabilidade vascular que dura de 24 a 48 horas, a qual marca o início do deterioramento clínico do paciente e sua possível evolução para o choque por extravasamento de plasma. Em paralelo, tem-se um aumento no nível do hematócrito. Nessa fase, devemos observar os sinais de alarme como dor abdominal intensa, vômitos, acúmulo de líquidos (ascite, derrame pleural, derrame pericárdico), hipotensão postural, sangramento de mucosa, letargia e aumento progressivo do hematócrito (MS, 2016; SUWANMANEE; LUPLERTLOP, 2017). Nesses casos, consideramos Dengue com sinais de alarme ou alerta os que podem se recuperar com hidratação venosa (OMS, 2009). Contudo, podem ocorrer casos graves da doença (Dengue grave) como decorrência do extravasamento vascular que pode levar ao acúmulo de líquidos com disfunção respiratória, além do choque causado pela hipovolemia, assim como o óbito (GUZMAN et al., 2016; OMS, 2009; SIMMONS et al., 2012).

Se o paciente apresentar uma resposta clínica satisfatória após 24-48 horas da fase crítica, ele evolui para a fase de recuperação. Há uma reabsorção gradual do conteúdo

extravasado nas próximas 48-72 horas e é concomitante com a melhora do quadro clínico do paciente. Alguns pacientes podem apresentar exantema acompanhado ou não de prurido generalizado. Adultos podem ter fadiga por semanas após a recuperação (MS, 2016; OMS, 2009; SIMMONS et al., 2012).

A classificação da OMS em Dengue com ou sem sinais de alerta e Dengue grave está ilustrada da Figura 2.2 (OMS, 2009).

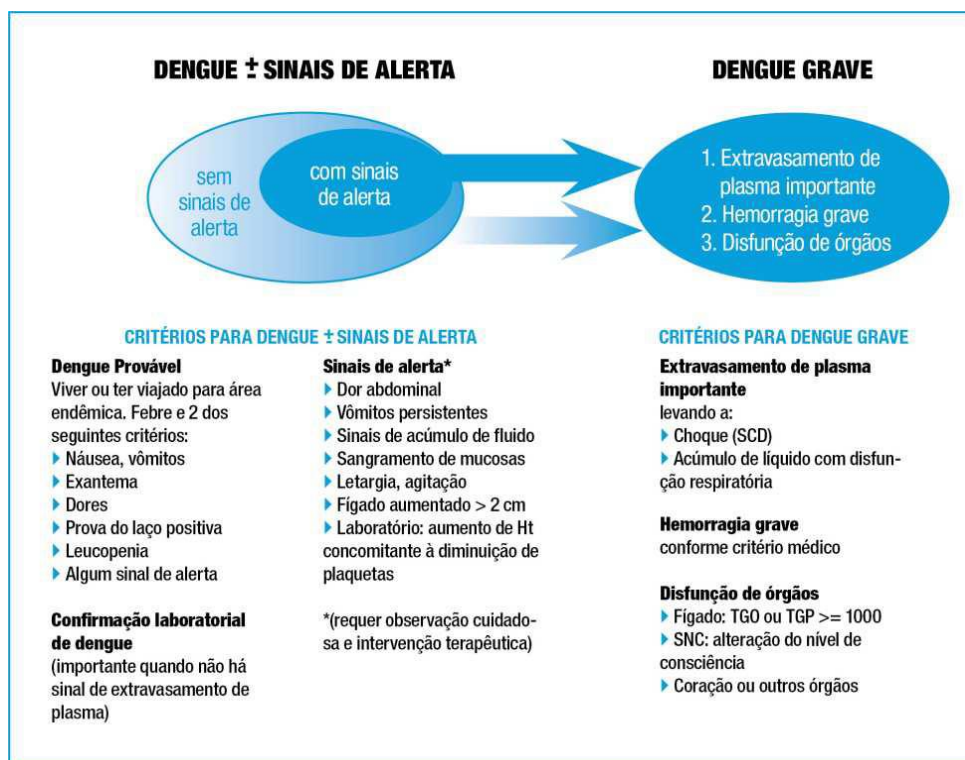


Figura 2.2: Classificação dos casos de Dengue de acordo com a OMS em 2009.

Em crianças, a infecção pelo vírus da Dengue pode ser assintomática. Sinais e sintomas inespecíficos associados à febre, como sonolência, anorexia, vômitos e diarreia podem estar presentes. Nos menores de dois anos de idade podem manifestar-se choro persistente, prostração e irritabilidade (MS, 2016). A doença pode evoluir para gravidade decorrente do extravasamento plasmático e a síndrome do choque da Dengue potencialmente fatal (BHATT et al., 2013). As maiores diferenças entre crianças mais velhas e lactentes estão relacionadas à frequência de extravasamento vascular e ao choque entre os mais novos (VERHAGEN; DE GROOT, 2014). Hepatomegalia, letargia, dor abdominal, sangramento, hemoconcentração e trombocitopenia foram sinais e sintomas associados à gravidade da doença descritos na maioria dos estudos sobre Dengue em crianças (WAKIMOTO et al., 2015).

A resposta imunológica à infecção aguda pelo DENV pode ser primária, na qual ocorre em pessoas não expostas anteriormente ao vírus; e secundária, em indivíduos com infecção aguda pelo DENV, mas que tiveram infecção prévia por outro sorotipo (SIMMONS et al., 2012). A infecção pelo DENV confere imunidade duradoura para aquele sorotipo e imunidade cruzada de curta duração e transitória para os outros sorotipos (OOI; GUBLER, 2011).

A transferência placentária de anticorpos maternos anti-DENV proporciona ao neonato uma proteção à infecção pelo vírus durante os primeiros meses de vida. Um estudo recente entre os neonatos da coorte de Manguinhos observou uma sororeversão de anticorpos neutralizantes para DENV-2 e DENV-3 no 10º mês e para DENV-1 e DENV-4 no 12º mês de vida (DUARTE, 2017).

Em infecções primárias nos lactentes, os mesmos anticorpos que conferem proteção à infecção, poderiam potencializar a infecção pelo DENV através do mecanismo de ADE (*Antibody-dependent enhancement*), o que favorece o surgimento das manifestações graves de dengue em crianças (CASTANHA et al., 2016; CHAU et al., 2009; SIMMONS et al., 2007).

### **2.1.2 Zika**

O vírus Zika (ZIKV) é um arbovírus pertencente à família *Flaviviridae* e ao gênero *Flavivirus*. Atualmente, é uma arbovirose de grande repercussão no cenário mundial principalmente após sua relação com quadros neurológicos como a síndrome de Guillain-Barré (SGB) e a confirmada associação entre zika na gestação e microcefalia (BRASIL et al., 2016a, 2016b; DE ARAÚJO et al., 2016). É uma doença exantemática, com sintomas semelhantes ao Dengue como febre leve, exantema, artralgia, artrite, mialgia, cefaléia, conjuntivite, e edema (PAIXÃO et al., 2016). Assim como o DENV, o ZIKV é transmitido pela picada da fêmea do mosquito *Ae. aegypti*. No Brasil, há transmissão de ZIKV pelo *Ae. albopictus* (CHOUIN-CARNEIRO et al., 2016).

O vírus foi isolado pela primeira vez do sangue de um macaco *rhesus* sentinela, usado em um estudo sobre febre amarela, em 1947, na Floresta Zika, localizada em Uganda (DICK; KITCHEN; HADDOW, 1952). Em 1948, esse vírus foi também isolado de *Ae. africanus* no mesmo local e os primeiros casos humanos foram relatados em 1952 na Tanzânia e Uganda (HADDOW et al., 2012).

Desde a sua descoberta até 2007, a transmissão em toda África e Ásia foi limitada a relatos de casos confirmados de infecção pelo ZIKV (BAUD et al., 2017). Contudo, em 2007, ocorreu um surto de zika na Ilha de Yap dos Estados Federados da Micronésia, inicialmente



registrado como um surto de doença caracterizada por exantema, conjuntivite, febre baixa, artralgia e artrite. Assim, foram identificados 49 casos confirmados e 59 prováveis da doença do ZIKV (DUFFY et al., 2009).

Posteriormente, ocorreu um surto na Polinésia Francesa em 2013-2014, no qual a SGB foi associada à infecção pelo ZIKV; seguido de surtos menores em outras ilhas do Pacífico (CAO-LORMEAU et al., 2016; MUSSO; NILLES; CAO-LORMEAU, 2014).

Em 2015, no Brasil, foram confirmados laboratorialmente casos de infecção pelo ZIKV, nos estados de Pernambuco (PE), Rio Grande do Norte (RN) e Bahia (BA) na região Nordeste (CAMPOS; BANDEIRA; SARDI, 2015; LOWE et al., 2018; ZANLUCA et al., 2015). Nesse mesmo ano, houve um aumento dos casos de exantema atendidos no Ambulatório de Doenças Febris Agudas da Fiocruz-RJ, a maioria sem febre ou com febre baixa. Em resposta a isso e baseado no observado no Nordeste do Brasil, iniciou-se uma investigação sistemática da infecção pelo ZIKV em todos os pacientes com exantema ou febre, o que resultou na identificação retrospectiva da infecção pelo ZIKV entre os casos (inicialmente relatados como casos de Dengue) e na demonstração de que o vírus estava circulando no Rio de Janeiro desde janeiro de 2015, com pico de transmissão em maio daquele ano, denominada como a primeira onda de epidemia de zika (BRASIL et al., 2016b; OMS, 2015a).

Em outubro de 2015, o Ministério da Saúde do Brasil relatou um aumento no número de casos de microcefalia no estado de Pernambuco e, conseqüentemente, foi declarado estado de emergência nacional de saúde pública (OMS, 2015b). Em janeiro de 2016, a Organização Mundial de Saúde decretou emergência internacional de saúde pública (GULLAND, 2016). Posteriormente, foi confirmada a relação entre microcefalia e infecção pelo ZIKV durante a gestação (BRASIL et al., 2016c; DE ARAÚJO et al., 2016; KROW-LUCAL et al., 2018; VARGAS et al., 2016). Até o final de 2016, tinham sido registrados 214.193 casos prováveis de febre pelo vírus Zika no país (taxa de incidência de 104,8 casos/100 mil hab.), e confirmados 59,9% casos (LOWE et al., 2018; MS; SVS, 2017).

A epidemia de zika em 2015-2016 ocorreu em meio à cocirculação de infecção por DENV, CHIKV e ZIKV no Brasil, o que dificultou o manejo clínico em razão de manifestações clínicas semelhantes. Além de dificuldades no diagnóstico laboratorial entre ZIKV e DENV devido a sua reação cruzada nos testes sorológicos. A interação dessas arboviroses trouxe preocupações acerca das alterações imunológicas das infecções podendo estas causar proteção ou viremias mais intensas (DONALISIO; FREITAS; ZUBEN, 2017).

### 2.1.1.2 Manifestações clínicas do Zika vírus

Após a picada do mosquito infectado com ZIKV, os sintomas aparecem dentro de 3-7 dias (SLAVOV et al., 2016; SUWANMANEE; LUPLERTLOP, 2017). Durante a viremia, pode-se desenvolver uma doença branda com sinais e sintomas semelhantes ao Dengue (PATTERSON; SAMMON; GARG, 2016).

Na epidemia de 2007 nas Ilhas de Yap, os sinais e sintomas mais relatados foram exantema, febre baixa, artrite, conjuntivite não purulenta, mialgia, cefaleia, dor retroorbitária, edema e vômito. Foi realizado um inquérito sorológico domiciliar no qual cerca de 80% dos participantes que apresentavam anticorpos IgM para ZIKV eram assintomáticos (DUFFY et al., 2009).

Os sinais e sintomas clínicos do ZIKV observados no Rio de Janeiro em 2015-2016 foram semelhantes ao relatados na Ilha de Yap com predominância de exantema, seguido de prurido, prostração, cefaleia, entre outros (BRASIL et al., 2016b; CERBINO-NETO et al., 2016). A febre, presente em 36% dos casos, era geralmente baixa e de curta duração (BRASIL et al., 2016b). De acordo com o observado durante o surto na Ilha de Yap em 2007, as manifestações clínicas de zika em crianças infectadas após o nascimento são semelhantes às que ocorrem em adultos sintomáticos (ADACHI et al., 2018; DUFFY et al., 2009).

As infecções por ZIKV são geralmente consideradas como auto-limitantes em adultos (SUWANMANEE; LUPLERTLOP, 2017). Contudo, podem ocorrer complicações da doença como a SGB já relatada durante a epidemia na Polinésia Francesa (CAO-LORMEAU et al., 2016; OEHLER et al., 2014) e mais recentemente no Brasil (BRASIL et al., 2016a; NÓBREGA et al., 2018).

A principal complicação da doença foi denominada como Síndrome Congênita do Zika (SCZ) entre fetos e bebês infectados com o ZIKV durante a gestação. Essa síndrome abrange malformações como microcefalia, tecido cerebral reduzido com padrão específico de danos ao cérebro, juntas com movimento de alcance limitado, excesso de tônus muscular, anormalidades oculares e perda auditiva (CDC, 2018; OMS, 2018). Entre as complicações neurológicas mais observadas em recém-nascidos destacam-se a hipertonia global grave com hiperreflexia, irritabilidade, hiperexcitabilidade, choro excessivo, distúrbio de deglutição, respostas auditivas e visuais comprometidas e, em alguns casos, convulsões (BRASIL et al., 2016c; FRANÇA et al., 2018; MARINHO et al., 2016; VARGAS et al., 2016).

Observou-se que a prevalência de microcefalia em recém-nascidos aumentou consideravelmente durante 2015-2016 no Brasil (MARINHO et al., 2016). Em paralelo, o

aumento de casos de microcefalia em Recife levou a suspeita de sua relação com infecção pelo ZIKV (OMS, 2015b). Posteriormente, essa relação foi evidenciada em uma coorte materno-infantil no Rio de Janeiro, na qual 53% das 345 gestantes recrutadas apresentaram o exame molecular de Reação de Polimerase em Cadeia (PCR) reagente para ZIKV e foram relatados quatro casos de neonatos com microcefalia ao nascer entre os 126 recém-nascidos de mães infectadas (BRASIL et al., 2016c). Apesar do risco de bebês com microcefalia de mães infectadas pelo ZIKV na gestação, a SCZ não parece estar relacionada com a gravidade da doença materna, carga viral no momento da infecção ou presença de anticorpos anti-DENV (HALAI et al., 2017).

São raros os casos de zika com evolução grave. Foram relatadas duas mortes associadas à infecção por ZIKV em adolescentes: uma brasileira de 16 anos com cefaleia, náuseas e exantema hospitalizada com diagnóstico inicial de Dengue; e uma colombiana de 15 anos com anemia falciforme hospitalizada com dor abdominal, taquicardia e taquipneia. Os casos foram confirmados laboratorialmente pela técnica de PCR (ARZUZA-ORTEGA et al., 2016; KARWOWSKI et al., 2016; MS, 2015b; OPAS, 2015).

## **2.2 ESTUDOS SOBRE DENGUE E ZIKA EM CRIANÇAS**

A maioria dos estudos prospectivos em coortes pediátricas para o estudo do Dengue foi conduzida em países do Sudeste Asiático (ANDERS et al., 2013; CAPEIDING et al., 2013; CHAU et al., 2009; PENGSA et al., 2006).

Na coorte vietnamita materno-infantil, em 2006-2007, observou-se uma incidência de 1,7 casos de Dengue por 100 pessoas-ano no primeiro ano de vida da criança. A maioria das mães (76%) possuía anticorpos para os quatro sorotipos e, em seis meses os bebês não apresentavam mais anticorpos maternos (CHAU et al., 2009). Em dois anos de acompanhamento, 12% dos bebês de uma coorte na Tailândia apresentaram infecção aguda pelo DENV (PENGSA et al., 2006). Em ambos os estudos, quase todas as infecções foram assintomáticas.

No Vietnã, foi estabelecida uma coorte de neonatos com vigilância clínica para Dengue, infecções respiratórias e diarreia para estudo das doenças infecciosas mais prevalentes nessa população até o primeiro ano de vida (ANDERS et al., 2013). Observou-se que a maioria dos casos de diarreia foram causados por rotavírus e que as infecções respiratórias foram mais prevalentes em bebês menores de seis meses (ANDERS et al., 2015a, 2015b).

Em um estudo realizado nas Filipinas, 11% das doenças febris agudas em crianças foram causadas pelo DENV. Demonstrou-se que, em 2007, o sorotipo predominante no local era o DENV-3. Além disso, no momento da infecção, todas as crianças diagnosticadas com DENV-3 apresentavam título de anticorpos maternos para esse sorotipo não detectável pelo teste de neutralização por redução de placas (PRNT) (LIBRATY et al., 2009). Na região, tanto a incidência de Dengue quanto a presença de sintomas são maiores em crianças menores de 15 anos de idade (ALERA et al., 2016).

Recentemente, um inquérito sorológico realizado na Indonésia demonstrou que 33,4% das crianças de 1-4 anos de idade haviam sido previamente infectadas pelo DENV e que a idade mediana da soroconversão foi de 4,8 anos (PRAYITNO et al., 2017). Posteriormente, constatou-se que os sorotipos predominantes nesse grupo foram DENV-2, DENV-3 e DENV-1 (SASMONO et al., 2018).

Na coorte pediátrica da Nicarágua, na qual as crianças são acompanhadas até 14 anos de idade, observou-se uma incidência global de 16,1 casos de Dengue/1000 pessoas-ano. A maioria dos casos primários dessa coorte ocorreu em crianças com menos de seis anos de idade (GORDON et al., 2013; KUAN et al., 2009).

Em Recife, foi realizado um estudo de coorte materno-infantil de base hospitalar antes da introdução do ZIKV no qual a taxa de incidência de Dengue foi de 107,6/ 1000 pessoas-ano no primeiro ano de vida do bebê, incidência superior ao observado nas coortes do sudeste asiático (BRAGA et al., 2016; CASTANHA et al., 2017a).

Em 2015, foi estabelecida uma coorte prospectiva de base escolar no México para o estudo de arboviroses na qual 40% das 821 crianças menores de oito anos já tinham anticorpos para Dengue no início do estudo. Entre os casos suspeitos de arboviroses, foram observados três casos Dengue em crianças menores de oito anos, que corresponde a uma taxa de incidência de 2,9 casos / 1000 pessoas-ano (ROJAS et al., 2018).

Após a introdução do ZIKV no Brasil e a constatação dos desfechos adversos da gestação de mães infectadas, verificou-se a necessidade de estudos de coortes para elucidação de questões acerca da prevalência, gravidade e imunidade da doença (VAN KERKHOVE et al., 2016).

A maioria dos estudos sobre zika em crianças abordam as consequências nos neonatos de gestantes infectadas pelo ZIKV como a SCZ (BRASIL et al., 2016c; BRITO; CORDEIRO, 2016; DE OLIVEIRA et al., 2017). Na coorte materno-infantil conduzida no Rio de Janeiro, das 134 gestantes infectadas pelo ZIKV, quase 50% apresentou desfecho gestacional adverso; e 42% dos recém-nascidos expostos ao ZIKV apresentaram achados anormais como

microcefalia, calcificação cerebral, atrofia cerebral, hipertonicidade, movimentos anormais, hiperreflexia, contraturas e convulsões (BRASIL et al., 2016c). Outros estudos de coorte descreveram uma proporção menor de anormalidades em crianças nascidas de mães com infecção por ZIKV assintomática ou sintomática (HONEIN et al., 2017; KLEBER DE OLIVEIRA et al., 2016).

Crianças com 19-24 meses de idade, nascidas com microcefalia e com diagnóstico laboratorial de SCZ tiveram pelo menos um resultado adverso como dificuldade para dormir, comprometimento motor grave, anormalidades visuais e auditivas e convulsões (SATTERFIELD-NASH et al., 2017).

Um estudo descritivo sobre 158 crianças até 18 anos com diagnóstico confirmado de Zika demonstrou que a doença se apresentou de maneira branda, sem complicações neurológicas e os principais sintomas foram exantema, febre, conjuntivite e artralgia (GOODMAN, 2016).

Dez relatos de casos de crianças infectadas pelo ZIKV com idade variando de três a 15 anos em diferentes localidades como Nigéria, Indonésia, Camboja, Filipinas, Nova Caledônia e Colômbia, demonstraram que a doença pode ter duração inferior a uma semana e as manifestações mais comuns foram febre, mal-estar, cefaleia, mialgia, artralgia e sintomas gastrointestinais. Nenhum dos estudos relatou a presença de exantema (ALERA et al., 2015; ARZUZA-ORTEGA et al., 2016; DUPONT-ROUZEYROL et al., 2015; HADDOW et al., 2012; KARWOWSKI et al., 2016; MACNAMARA, 1954; OLSON et al., 1981). No entanto, exantema é o único sintoma presente em todos os 14 casos confirmados de zika em crianças e adolescentes de seis meses a 16 anos na Indonésia. Apenas uma criança não apresentou febre e outros sintomas como conjuntivite, mialgia, artralgia e cefaleia foram relatados (LI et al., 2017).

Duas coortes pediátricas estabelecidas inicialmente para o estudo do Dengue possibilitaram o estudo de Zika em crianças: a coorte mexicana de base escolar e a coorte pediátrica da Nicarágua (ALERA et al., 2016; GORDON et al., 2013; ROJAS et al., 2018).

Na coorte mexicana, dos 199 casos suspeitos de arboviroses (com sintomas das doenças) entre 2015 e 2016, observou-se quatro casos de Zika em crianças com menos de oito anos de idade resultando em uma taxa de incidência de 4,07 casos / 1000 pessoas-ano (ROJAS et al., 2018).

No período de 2016-2017, foram observados 128 casos de Zika sintomática (taxa de incidência de 104 casos / 1000 pessoas-ano) e 391 casos de infecção por ZIKV (taxa de incidência de 288 casos / 1000 pessoas-ano) entre as crianças da coorte pediátrica da

Nicarágua com dois a cinco anos de idade. Nesse estudo, a infecção prévia pelo DENV foi proteção para a manifestação clínica dos casos de Zika (GORDON et al., 2019).

### 2.3 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS INFECÇÕES PELO DENV E PELO ZIKV

Após a introdução do ZIKV e CHIKV no Rio de Janeiro, o diagnóstico de arboviroses tornou-se um desafio; o diagnóstico laboratorial devido à reatividade cruzada entre ZIKV e DENV e o diagnóstico clínico devido à semelhança nas manifestações clínicas. O diagnóstico clínico do Dengue deve ser confirmado por exames laboratoriais devido à semelhança de sintomas com outras doenças virais. O diagnóstico laboratorial das infecções pelo DENV pode ser realizado através de isolamento viral, detecção do RNA genômico viral através da técnica de PCR, detecção do antígeno NS1 ou testes imunoenzimáticos (ELISA) para a detecção de anticorpos específicos como IgM e IgG (MULLER; DEPELSENAIRE; YOUNG, 2017).

Para as infecções pelo DENV, a técnica de PCR e o teste para a detecção de NS1 devem ser realizados durante a viremia, ou seja, até o quinto dia do início dos sintomas, tanto na infecção primária quanto na secundária (Figura 2.3). Já para os testes de ELISA, o ideal é que sejam realizados após o sexto dia de sintomas para a detecção de IgM ou IgG; ou então, deve-se testar amostras pareadas para a observação de soroconversão de IgM ou de IgG, sendo a primeira coletada na fase aguda (1-5 dias de sintomas) e a segunda na fase de convalescência (15-21 dias) (NISALAK, 2015; OMS, 2016b; OOI; GUBLER, 2011). A figura 2.3 ilustra a evolução laboratorial da infecção pelo DENV: o IgM é produzido e pode ser detectado a partir do quinto dia do início dos sintomas; enquanto que o IgG é produzido a partir do sexto dia nas infecções primárias e no segundo dia nas infecções secundárias. Através da técnica de PCR, sabe-se qual o sorotipo de DENV da infecção aguda (OMS, 2009).

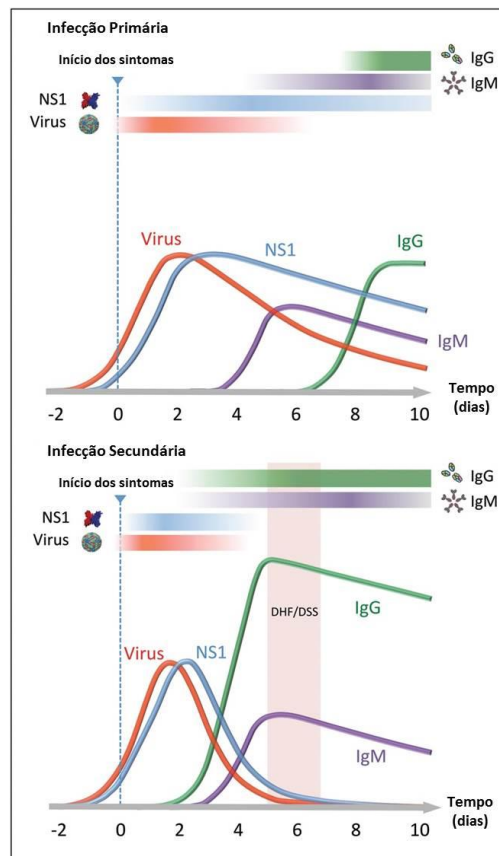


Figura 2.3: Evolução laboratorial da infecção pelo vírus do Dengue.  
Adaptado de: MULLER; DEPELSENAIRE; YOUNG, 2017.

O teste de neutralização por redução de placas (PRNT) é considerado “padrão-ouro” para a determinação de imunidade sorotipo específica aos DENV (CALISHER et al., 1989). Esse teste é o recomendado pela OMS para os estudos de eficácia de vacina em desenvolvimento (OMS, 2009).

O diagnóstico laboratorial do ZIKV também é baseado na detecção do vírus ou em uma resposta imune à infecção. A técnica de PCR é utilizada para detecção direta do RNA viral e a técnica de ELISA para detecção de IgM a partir do quinto dia do início dos sintomas ou IgG após 15 dias de doença (Figura 2.4). Assim como na infecção pelo DENV, a técnica de PCR é realizada em amostras coletadas durante a viremia; e a sorologia nas fases aguda e de convalescência para detecção de soroconversão de IgM ou IgG ou um aumento de quatro vezes no título do anticorpo (OPAS, 2016, 2017).

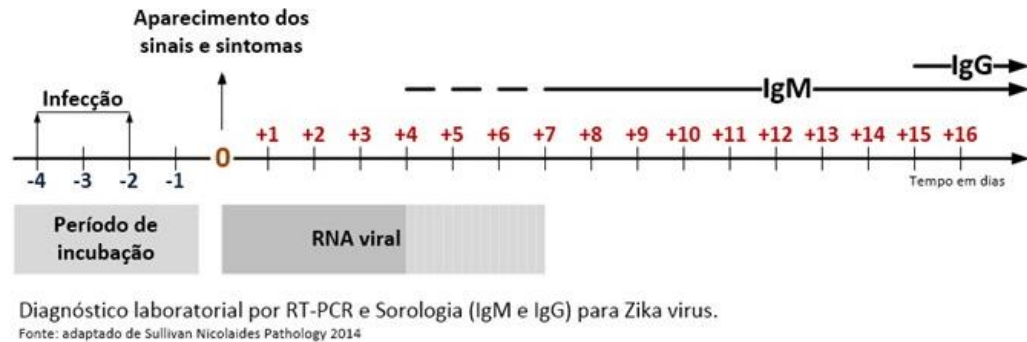


Figura 2.4: Diagnóstico laboratorial da infecção pelo vírus Zika.  
 Fonte: MS, 2018.

Até 2015, o diagnóstico laboratorial do DENV tanto pelo PCR quanto pela sorologia era considerado confirmatório. Após a introdução do Zika, devido às reações cruzadas sorológicas entre esses flavivírus, a diferenciação da infecção por Dengue ou Zika tornou-se extremamente difícil, mesmo com o uso de testes de soro-neutralização. A técnica de PCR permite o diagnóstico direto de infecção por ZIKV seja em soro ou urina; no entanto, nem sempre está disponível, além da baixa carga viral no soro e curta viremia reduzir a sensibilidade do teste. Embora o PRNT ofereça uma maior especificidade na detecção de anticorpos neutralizantes (IgG), reações cruzadas também já foram documentadas (OPAS, 2016).

Na tentativa de diferenciar uma infecção de DENV e ZIKV, foram desenvolvidos algoritmos para auxiliar no diagnóstico laboratorial baseado em testes sorológicos (CDC, 2016; OPAS, 2017). Um teste de PCR positivo é diagnóstico confirmado de Dengue ou Zika. Nos testes sorológicos, IgM reagente tanto para DENV quanto ZIKV, deve-se realizar o PRNT (Figura 2.5).

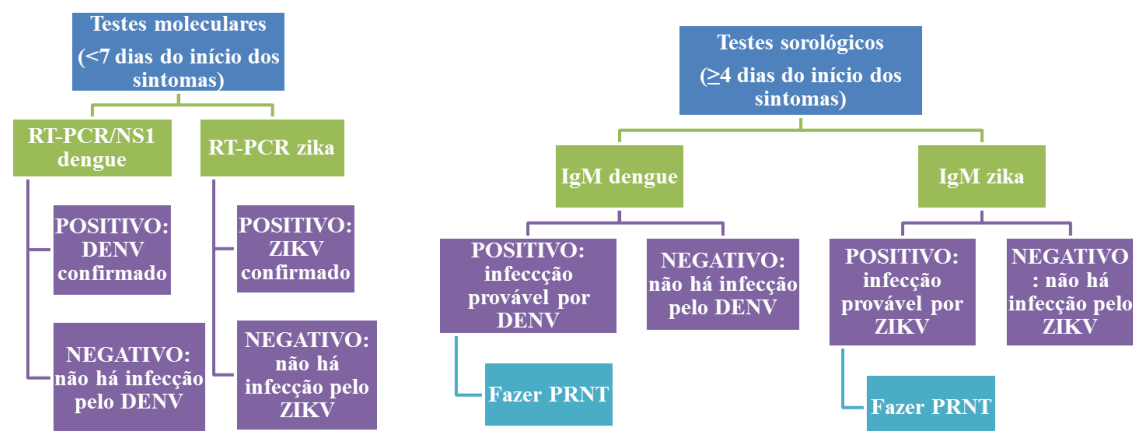


Figura 2.5: Algoritmo de conduta laboratorial para diagnóstico diferencial de DENV e ZIKV.  
 Adaptado de: CDC, 2016; OPAS, 2017.



### 3 JUSTIFICATIVA

As arboviroses são consideradas um problema de saúde global e sua gravidade está relacionada à sua magnitude e ao seu risco à saúde. Como há uma lacuna de conhecimento sobre a história natural de Dengue e Zika nos primeiros anos de vida, estudos de coorte são importantes na investigação da incidência dessas doenças, pois apresentam o melhor delineamento para caracterização epidemiológica e clínica dessas arboviroses. Além disso, é importante o conhecimento da incidência e frequência de infecções assintomáticas e sintomáticas entre crianças de 0-5 anos de idade. Até o momento, são poucos os estudos longitudinais nesse grupo populacional, provavelmente pela dificuldade de obtenção de material biológico de repetição nesta faixa-etária.

Após a introdução do ZIKV no Rio de Janeiro, cidade hiperendêmica de Dengue e onde já circularam os quatro sorotipos de DENV, o diagnóstico dessas arboviroses tornou-se um desafio, com a necessidade de esclarecimento dos aspectos epidemiológicos e clínicos de ambas as infecções.

Devido a relevância dos estudos prospectivos, após o surgimento do ZIKV, diversos estudos de coorte materno-infantil foram estabelecidos para a caracterização da doença e suas consequências nos desfechos da gestação. Contudo, pouco se sabe sobre a infecção por ZIKV em crianças adquirida após o nascimento retratando a necessidade de caracterização clínico epidemiológica de Zika pós-natal.

Baseados nesses antecedentes, a proposta deste estudo foi analisar a incidência de infecção pelo DENV e ZIKV entre crianças de 0-5 anos residentes na comunidade de Manguinhos, uma área urbana no Rio de Janeiro, assim como descrever as manifestações clínicas dessas infecções, a proporção de casos assintomáticos e a associação das características das gestantes e dos domicílios com a infecção pelo DENV e pelo ZIKV nas crianças. Ademais, pretendeu-se descrever o processo de implantação de uma coorte pediátrica e as características da população estudada no período de 2012 a 2018.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 OBJETIVO GERAL

Determinar a incidência de Dengue e Zika em uma coorte prospectiva de crianças de 0-5 anos de idade em Manguinhos (2012-2018) e os fatores maternos e ambientais associados.

### 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever processo de estabelecimento da coorte de nascimento e as características da população estudada;
- Determinar a incidência de infecções sintomáticas e assintomáticas de Dengue e Zika na população de estudo;
- Descrever as manifestações clínicas da infecção pelo DENV e pelo ZIKV na população estudada;
- Determinar as características maternas associadas à infecção pelo DENV e pelo ZIKV nas crianças;
- Determinar as características domiciliares associadas à infecção pelo DENV e pelo ZIKV nas crianças no período de 2015 a 2018.

## 5. MÉTODO

### 5.1 DESENHO DO ESTUDO

Tratou-se de uma coorte prospectiva de crianças de zero a cinco anos de idade, moradoras de Manguinhos no Rio de Janeiro.

Em 2012, o desenho inicial era uma coorte prospectiva para o estudo do Dengue em crianças até dois anos de idade. Dois anos depois, em 2014, houve a extensão do seguimento das crianças dessa coorte até os cinco anos de idade com o intuito de estudar a história natural do Dengue na área. A reabertura da coorte (2ª onda) em 2015 visou compensar as perdas e estudar a incidência de Zika nessa população (Figura 5.1).

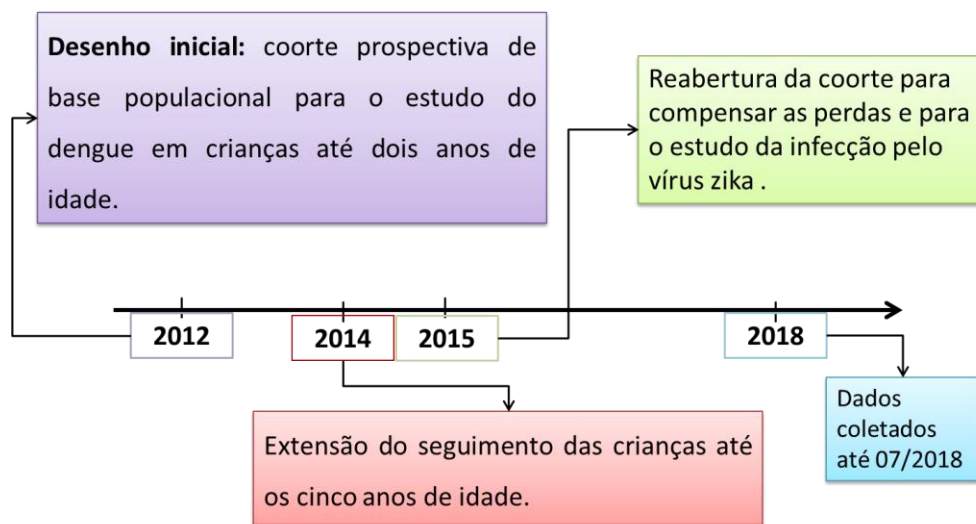


Figura 5.1: Desenho do estudo Coorte Manguinhos.

### 5.2 CASUÍSTICA E MÉTODOS

O estudo foi realizado no período de maio de 2012 a julho de 2018 no complexo de Manguinhos, com cerca de 40 mil habitantes, situado na zona norte do Rio de Janeiro e que abrange 16 comunidades. A população incluída no estudo era assistida por equipes da Clínica da Família Victor Valla e do Centro Municipal de Saúde de Manguinhos que seguem o modelo Estratégia de Saúde da Família (ESF) nos Serviços de Pré-Natal e Puericultura dos Territórios Integrados de Atenção à Saúde (TEIAS) de Manguinhos, da Fiocruz.

### 5.2.1 Local do estudo

Manguinhos é um bairro da zona norte do Rio de Janeiro com aproximadamente 36.000 habitantes. No início do estudo, apresentava um dos mais baixos Índices de Desenvolvimento Humano (IDH) do município (122º no ranking de 126 bairros) (PORTAL GEO, 2016). É composto por 16 comunidades da Área Programática 3.1 da cidade: Vila São Pedro, Monsenhor Brito, Comunidade Agrícola de Higienópolis, Vila Turismo, Parque Oswaldo Cruz (Amorim), Parque Carlos Chagas (Varginha), Conjunto Nelson Mandela (Mandela I), Conjunto Samora Machel (Mandela II), Mandela de Pedra (Mandela III), Parque João Goulart, CHP2, Vila União, Ex-Combatentes, Condomínio Embratel, Condomínios DESUP e CONAB. Os espaços para habitação são, em grande parte, territórios favelizados com diversas carências e necessidades.

Em 2009, após a implantação do Programa TEIAS-Escola Manguinhos, uma cooperação entre a Secretaria Municipal de Saúde do Rio de Janeiro e a Escola Nacional de Saúde Pública - ENSP/Fiocruz, a atenção primária na região passou a ser realizada de acordo com o modelo da ESF com 13 equipes de saúde da família divididas em duas unidades de atenção básica: a Clínica da Família Victor Valla (CFVV) e Centro Municipal de Saúde-CMS Manguinhos (CMSM) (ENGSTROM; FONSECA; LEIMANN, 2012).

Entre fevereiro e dezembro de 2012, foi realizado o Inquérito de Saúde-Manguinhos, o qual entrevistou 955 domicílios e caracterizou as condições de vida e saúde da população, assim como o acesso e utilização de serviços dos indivíduos residentes no território de Manguinhos. A maioria dos domicílios é composta por mulheres (54%) e a renda média *per capita* é de R\$595,00. Entre os adultos com 30-64 anos, 69% trabalham e cerca de 80% dos moradores com mais de 25 anos possuem pelo menos quatro anos de estudo. Em relação aos domicílios, 65% dos moradores bebem água filtrada e a maior parte dos moradores tem seu lixo recolhido ou jogam na caçamba. Sobre saúde e fatores de risco dessa população, 9% dos moradores têm asma ou bronquite, e 10% dos adultos acima de 30 anos sofrem de depressão, 36% têm pressão alta, 20% têm colesterol alto e 9% possuem diabetes (CARVALHO et al., 2016).

Ao relacionar os dados do inquérito com os dados do Sistema de Informação da Atenção Básica (SIAB), constatou-se que 49,6% dos indivíduos residentes no território de Manguinhos estão cadastrados na Saúde da Família em Manguinhos indicando barreiras ao acesso à atenção básica desta população (RABELLO, 2016).

### 5.2.2 Tamanho da amostra

Para o cálculo do tamanho da amostra da Coorte Inicial, estimou-se uma proporção na qual foram considerados a população de nascidos vivos na cidade do Rio de Janeiro em 2007 ( $n = 82,209$ ) (MS; SVS, 2007), uma margem de erro de 0,05 e um nível de significância de 0,05. Como não havia dados sobre a incidência de Dengue e, há uma variação considerável entre os anos epidêmicos e não epidêmicos, optou-se por uma incidência de 0,5, que pode ocasionar um tamanho de amostra maior do que o necessário. O resultado desse cálculo foi uma amostra de 383 recém-nascidos (LWANGA; LEMESHOW, 1991). Considerou-se um percentual de, aproximadamente, 25% de perda obtendo-se um número de 500 gestantes recrutadas.

Para a segunda onda, o tamanho da amostra final foi recalculado levando em consideração o menor risco de Dengue (0,08) e as perdas (32,5%) em um período de dois anos do estudo (2013-2015). Foram definidos nível de significância de 0,05 e erro absoluto de 0,035 resultando em aproximadamente 700 crianças no total.

### 5.2.3 Critérios de elegibilidade e recrutamento

Os critérios de inclusão das crianças foram ser residentes de Manguinhos e assistidas por equipes da Clínica da Família Victor Valla e do Centro Municipal de Saúde de Manguinhos. Os critérios de exclusão das crianças foram a retirada do consentimento pelos pais em qualquer momento do estudo e a mudança de endereço para fora da área de Manguinhos por não representar mais a incidência de Dengue e Zika entre as crianças da região.

*Primeira onda: inclusão de 2012 a 2014*

“Coorte inicial” - Coorte de nascimento na qual a inclusão de recém-natos no estudo foi feita a partir do recrutamento de gestantes no terceiro trimestre após assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) (ANEXO A).

*Segunda onda: inclusão de 2015 a julho de 2018*

Reabertura da coorte de nascimento com a inclusão de recém-natos a partir de gestantes em qualquer idade gestacional e, a partir de 2016, houve a inclusão de crianças de 0-5 anos de idade para reposição de perdas de seguimento.

Todas as crianças foram incluídas no estudo após autorização dos pais pela assinatura do TCLE (ANEXOS B e C).

#### **5.2.4 Seguimento da coorte de crianças**

Todos os bebês e crianças foram acompanhados durante os primeiros cinco anos de vida ou até julho/2018.

A periodicidade das visitas programadas na primeira onda da coorte foi com intervalo de quatro meses no 1º ano de vida, seis meses no 2º ano de vida, e anualmente do 3º ao 5º ano de idade. Na segunda onda, as visitas programadas foram anuais.

Durante a visita pediátrica eram coletadas informações sociodemográficas e clínicas em um questionário específico; e amostras de sangue e urina para os testes laboratoriais. O acompanhamento das crianças incluiu visitas programadas ao longo do estudo (crianças assintomáticas), visita em caso de febre ou exantema, e vigilância febril / exantemática ativa e passiva.

Foi considerada perda de seguimento aquelas crianças sem contato há mais de um ano.

##### **5.2.4.1 Vigilância de casos febris ou exantemáticos**

Os pais ou responsáveis pelas crianças eram instruídos a comparecer à consulta ou comunicar à equipe de pesquisa a ocorrência de febre ou exantema por telefone, *facebook* (a partir de 2014) ou *whatsapp*.

A vigilância ativa de febre ou exantema era realizada por contato telefônico ou visita domiciliar com intervalo de 15 dias e pelo *facebook* e *whatsapp* semanalmente.

As consultas pediátricas eram agendadas dentro de sete dias do início dos sintomas.

A figura 5.2 ilustra o recrutamento e o seguimento das crianças da coorte de Manguinhos.

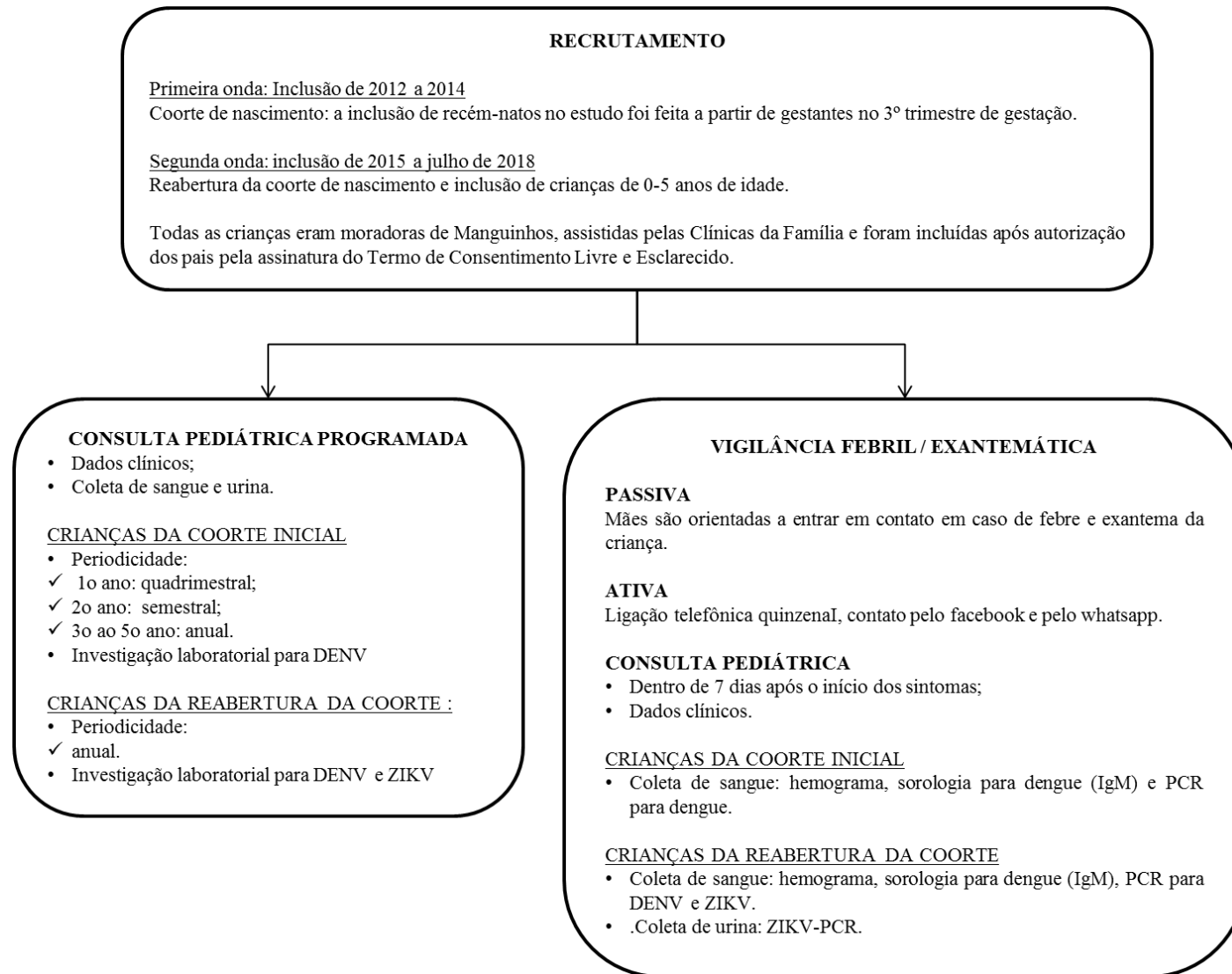


Figura 5.2: Recrutamento e seguimento das crianças da coorte para o estudo de Dengue e Zika em Manguinhos.

### 5.2.5 Ensaios laboratoriais

Foram coletados 2 mL de sangue da criança em tubo de coleta de sangue a vácuo, com gel separador ativador de coágulo, para obtenção do soro. A amostra de soro foi aliquoteada em tubos Eppendorf, rotulada e acondicionada em freezer -80°C para realização dos testes laboratoriais. Os processos de coleta e armazenamento de amostras foram iguais para as crianças recrutadas nas duas ondas do estudo.

Todas as amostras coletadas até 2016 nas consultas programadas e nas consultas de febre e/ou exantema foram testadas para a detecção dos anticorpos da classe IgM pelo teste de captura (ELISA) da marca Panbio Diagnóstica® de acordo com as especificações do fabricante.

Após a introdução do ZIKV e sua reação cruzada em testes sorológicos com o DENV, para cada criança, a primeira e a última amostra do período de 2015 a 2018 foram testadas tanto para a detecção de anticorpos anti-DENV IgG quanto pelo teste do PRNT-ZIKV e PRNT-DENV. Esses testes foram realizados nas amostras das crianças com mais um ano de idade. A detecção de anticorpos anti-DENV IgG foi realizada pelo teste indireto (ELISA) da marca Panbio Diagnóstica® de acordo com as especificações do fabricante. Na técnica de PRNT, tanto para ZIKV quanto para DENV, foram consideradas positivas as amostras de soro que apresentaram redução de 50% ou mais no número de plaques virais (PRNT-50), na diluição de soro utilizada (1:10) (DUARTE, 2017). Para os casos de febre e/ou exantema, as amostras de soro, inclusive das crianças com menos de um ano de idade, foram avaliadas para a determinação da presença e quantificação do RNA viral de DENV e ZIKV por transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) (DUARTE, 2017) durante todo o período do estudo. Foram coletadas também amostras de urina para detecção de ZIKV por RT-PCR.

Os ensaios laboratoriais realizados estão resumidos na Tabela 5.1.



Tabela 5.1: Periodicidade dos ensaios laboratoriais realizados.

<b>Periodicidade</b>	<b>Exames laboratoriais</b>
Todas as amostras das consultas de febre/exantema e programadas até 2016	IgM Dengue
Amostras das consultas de febre/exantema com até sete dias de início de sintomas e na ausência de infecção localizada.	PCR Dengue, PCR Zika e PCR Zika urina
Amostras de crianças maiores de um ano de idade; Primeira e na última amostra do período de 2015 a 2018	IgG Dengue e PRNT-Zika
Quando necessário após algoritmo idealizado para a investigação de Dengue e Zika após 2015	PRNT-Dengue

### 5.2.6 Caracterização Ambiental

A caracterização do domicílio e do peridomicílio foi realizada de 2015 a julho de 2018. O questionário do domicílio possui questões socioeconômicas dos moradores (sexo, idade, renda mensal, entre outros) e questões sobre a estrutura do domicílio (tipo de moradia e materiais utilizados para a sua construção, número de cômodos, uso de ar condicionado, forma de abastecimento de água, estabelecimentos vizinhos, condições internas da moradia, entre outros (ANEXOS D). Foi realizada a caracterização do domicílio dos participantes que assinaram o TCLE correspondente (ANEXO E).

## 6 PLANO DE ANÁLISE

### 6.1 COLETA DOS DADOS E REGISTRO

A idade da criança, os sinais e sintomas apresentados e a data de coleta de amostras biológicas foram registrados durante as consultas pediátricas, seja programada ou de febre e/ou exantema; e as informações para a caracterização do ambiente foram obtidas nas visitas ao domicílio das participantes. Para as crianças das coortes de nascimento foram obtidos os dados das gestantes durante o recrutamento.

Todas as informações coletadas foram registradas em instrumentos de coleta de dados previamente testados (ANEXOS D, E, F e G).

### 6.2 DESFECHO

#### **Desfecho: infecção pelo DENV ou ZIKV**

Variável resposta: variável dicotômica → presença (1) ou ausência (0) de infecção pelo DENV ou ZIKV.

As infecções por DENV e ZIKV foram consideradas de acordo com os resultados dos testes laboratoriais listados na Tabela 6.1.

Tabela 6.1: Diagnóstico de infecção por DENV e ZIKV de acordo com os testes laboratoriais realizados.

<b>Infecção por DENV 2012-2014</b>	<b>Infecção por DENV 2015-2018</b>	<b>Infecção por ZIKV 2015-2018</b>
1. Detecção de DENV pelo PCR;	1. Detecção de DENV pelo PCR;	1. Detecção de ZIKV pelo PCR;
2. Detecção de DENV pelo IgM;	2. DENV IgM ou DENV IgG positivo e ZIKV PRNT-50 negativo;	2. DENV IgM ou DENV IgG negativo e ZIKV PRNT-50 positivo;
3. Soroconversão de DENV IgM ou IgG.	3. Detecção de DENV IgM ou IgG e DENV-1 ou DENV-4 PRNT-50 positivo	3. Detecção de DENV IgM ou IgG, ZIKV PRNT-50 positivo, e DENV-1 ou DENV-4 PRNT-50 positivo, sendo pelo menos 4x o título de anticorpos anti-Zika.

Para a diferenciação de uma infecção por DENV ou ZIKV foi desenvolvido um algoritmo considerando os resultados dos ensaios sorológicos IgM DENV, IgG DENV, PRNT-50 ZIKV e PRNT-50 DENV (Figura 6.1).

Quando não houver uma diferença quatro vezes entre os títulos de anticorpos neutralizantes resultantes dos ensaios PRNT-50 ZIKV e PRNT-50 DENV, não podemos afirmar se a infecção foi causada pelo DENV ou ZIKV. Com isso, consideramos que houve uma infecção por Flavivírus.

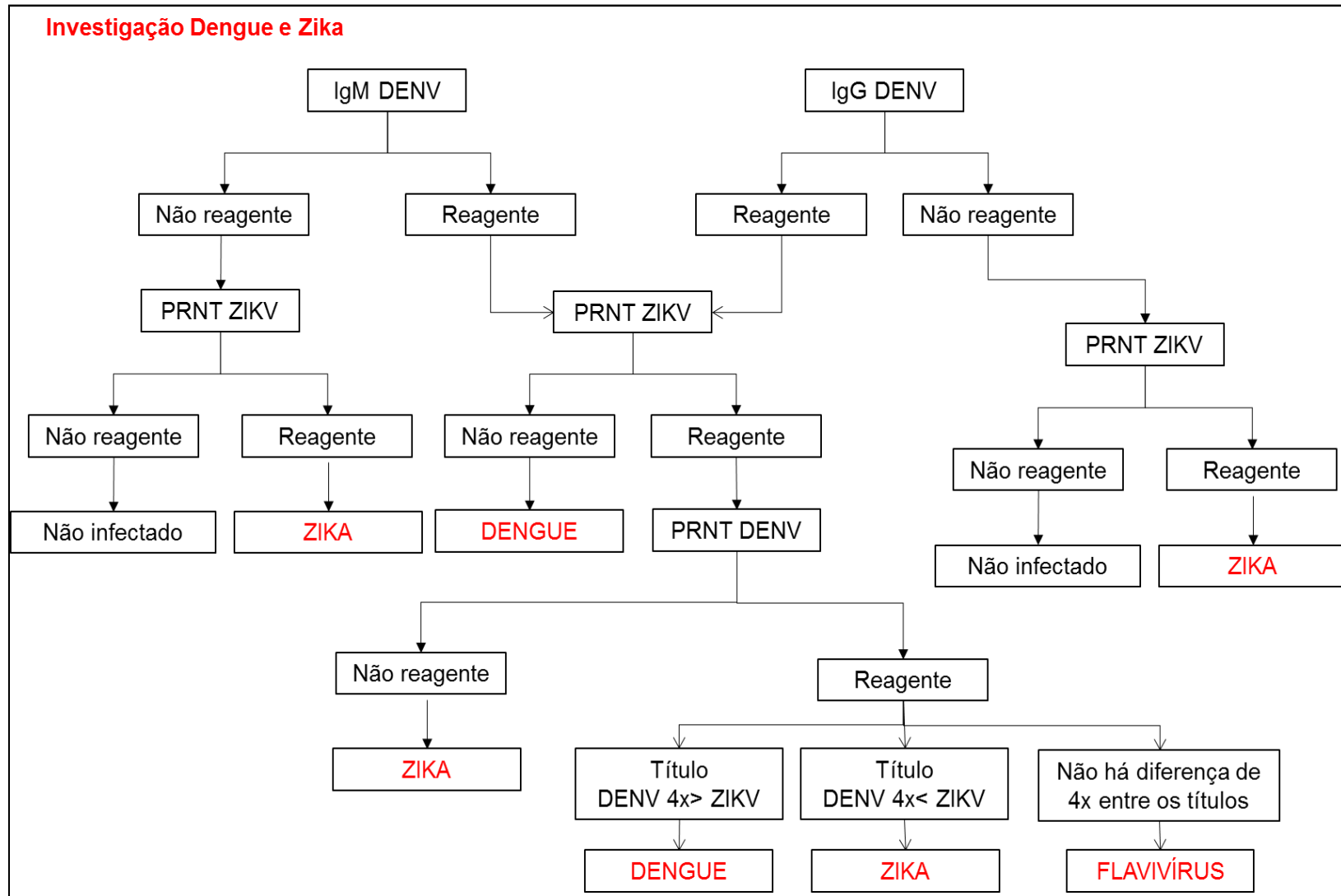


Figura 6.1: Investigação sorológica de Dengue e Zika entre 2015 e 2018.

### 6.3 VARIÁVEIS DE INTERESSE

**Variáveis laboratoriais para o desfecho de interesse:** RT-PCR para DENV e ZIKV, sorologia para Dengue (IgM e IgG), e PRNT para ZIKV e DENV.

Variáveis independentes:

**Variáveis sociodemográficas:** sexo e idade.

**Variáveis clínicas:** os sinais e sintomas coletados nas consultas programadas e nas consultas de febre/exantema foram agrupados:

- Febre: febre no momento da consulta ou histórico de febre nos últimos sete dias:
    - a.1) Associada a outros sinais ou sintomas
    - a.2) Não associada a outros sinais ou sintomas
  - Exantema: exantema na consulta ou histórico de exantema nos últimos sete dias;
  - Sinais respiratórios: tosse, coriza, presença de tiragem, batimento de asas de nariz ou gemência, ausculta alterada, impressão diagnóstica de infecção de vias aéreas superiores, sinusite, pneumonia ou bronquiolite;
  - Sinais gastrointestinais: vômito e diarreia;
  - Sinais hemorrágicos: sangramento, fezes com sangue, petéquias, petéquias no palato, sangramento nasal ou gengivorragia;
  - Infecção com foco/localizada: exsudato em oro-faringe, otite média aguda, pneumonia, infecção do trato urinário ou qualquer febre com foco.
- As variáveis clínicas foram analisadas como variáveis dicotômicas → presença (1) ou ausência (0) de febre, exantema, sinais respiratórios, sinais gastrointestinais, sinais hemorrágicos, infecção com foco/localizada.
  - As infecções pelo DENV ou pelo ZIKV foram classificadas como sintomáticas quando a criança apresentou febre e/ou exantema com evidência laboratorial de infecção por esses vírus (ANEXOS F e G) → presença (1) ou ausência (0) de sinais e sintomas.

**Variáveis das gestantes:** idade, situação conjugal, raça/cor, escolaridade, vacina para febre amarela, histórico de Dengue, resultados laboratoriais (IgM e IgG para Dengue).

**Variáveis do domicílio:** foram coletadas as variáveis do domicílio e do peridomicílio incluídas no Índice de Condições do Domicílio (TUN-LIN; KAY; BARNES, 1995):

- 1) Criadouros potenciais no domicílio: presença de pneus, garrafas, recipientes que acumulam água de chuva, caixas d'água sem tampa e tonéis.
- 2) Tipo de moradia: casa ou apartamento.

- 3) Uso de ar condicionado.
- 4) Uso de reservatório para armazenamento de água: caixa d'água com tampa, caixa d'água sem tampa, barril sem tampa, pequenos recipientes e tonéis.
- 5) Presença de terreno na vizinhança onde se costuma ter acúmulo de lixo.
- 6) Presença de estabelecimentos na vizinhança: ferro velho, borracharia, cemitério, casa abandonada e local de reciclagem.
- 7) Destino do lixo: caçamba, jogado no rio ou limpeza pública.
- 8) Condições internas da casa:
  - a) Mal cuidado – estrutura ruim, paredes descascadas, improvisadas, itens quebrados visíveis, pouca organização e limpeza;
  - b) Razoavelmente cuidado – estrutura ruim compensada pela boa organização e limpeza;
  - c) Visivelmente bem cuidado – estrutura interna em bom estado, pintura nova, ambiente visivelmente limpo e organizado.
- 9) Condições do quintal ou área externa:
  - a) Mal cuidado – presença de entulho/lixo, gramado crescido, pneus e garrafas;
  - b) Razoavelmente cuidado - estrutura ruim compensada pela boa organização e limpeza;
  - c) Bem cuidado – não há entulho/lixo, grama cortada e jardim bem conservado.
- 10) Condições do sombreamento do quintal ou área externa:
  - a) Pouca ou nenhuma sombra (<25%), sem árvores grandes, arbustos ou algo que funcione de toldo;
  - b) Alguma sombra (>25% e <50%);
  - c) Bastante sombra (>50%), com cobertura artificial, árvores grandes ou camadas de arbustos com efeito de estufa.

**Outras variáveis:**

- Exposição à recente epidemia de dengue: crianças que nasceram antes ou durante o período de 2012 a 2014;
- Infecção prévia pelo DENV: crianças incluídas na primeira onda do estudo e que tiveram infecção pelo DENV confirmada laboratorialmente.

## 6.4 ANÁLISE DE DADOS

### 6.4.1 Descrição da coorte de Manguinhos

Foi realizada análise descritiva com cálculo das medidas de tendência central e de dispersão da variável idade e cálculo das frequências das variáveis categóricas das características

dos domicílios. A taxa de consulta para cada onda do estudo foi calculada como o número de consultas realizadas por 100 pessoas-mês.

#### **6.4.2 Incidência das infecções por DENV ou ZIKV**

Na análise dos desfechos de interesse, quando a última amostra coletada foi não reagente para IgG DENV, PRNT-50 Zika ou PRNT-50 Dengue, foi considerada também não reagente nas amostras anteriores para cada teste respectivamente.

Ajustou-se um modelo de Poisson para estimar a incidência e respectivos intervalos de confiança da infecção pelo DENV por 1000 pessoas-ano. O logaritmo do tempo de acompanhamento de cada participante foi utilizado como offset do modelo.

Para calcular o tempo sob risco de Dengue consideramos a data de nascimento para as crianças das coortes de nascimento e a data de entrada na coorte para as crianças incluídas na segunda onda da coorte. Para o cálculo da taxa de incidência de Dengue considerou-se a primeira incidência de cada criança e o total de pessoa-tempo de 2012 a 2015, período de ocorrência da doença.

Como a transmissão do ZIKV ocorreu em um período curto, de 2015 a 2016, optou-se por não estimar a taxa de incidência por pessoa-tempo. Portanto, a incidência de infecção pelo ZIKV foi estimada pela proporção do número de lactentes e crianças com infecção pelo ZIKV pelo número total de lactentes e crianças acompanhadas no período de 2015 a 2018.

#### **6.4.3 Sinais clínicos e fatores associados à infecção pelo DENV e pelo ZIKV**

A consolidação dos quadros clínicos potencialmente associados ao resultado reagente de IgM (Dengue) e PCR (Dengue e Zika) nas infecções agudas foi baseada no registro dos sinais e sintomas da própria consulta que originou a coleta. Para as infecções diagnosticadas por soroconversão de IgG-DENV ou PRNT-50 Zika, analisou-se o histórico de sinais e sintomas entre as consultas. Os sinais e sintomas foram respondidos de forma dicotômica (sim ou não).

Na análise dos sinais e sintomas associados à infecção pelo DENV optou-se pelo modelo linear de efeitos mistos apenas com efeito aleatório para o indivíduo, que permite analisar dados longitudinais desbalanceados em uma estrutura hierárquica, incorporando a estrutura de dependência (de forma autorregressiva) e correlação dos erros (FAUSTO et al., 2008).

Para a infecção pelo ZIKV foi realizada análise descritiva com cálculo da frequência do histórico de sinais e sintomas das infecções, uma vez que por meio da técnica do PRNT não é possível diagnosticar infecção aguda.

Durante o período de ocorrência de Dengue (2012 a 2015), como os lactentes e as crianças eram provenientes da coorte de nascimento inicial foram coletadas informações de todas as gestantes. Ajustou-se um modelo misto bayesiano para estimar a associação entre a incidência da infecção pelo DENV ou ZIKV e os fatores maternos (idade, situação conjugal, raça/cor, escolaridade, vacina para febre amarela, histórico de Dengue, resultados laboratoriais (IgM e IgG para Dengue) com um efeito aleatório para o indivíduo e um efeito aleatório autorregressivo para cada mês com distribuição de Bernoulli e utilizando a aproximação de Laplace (INLA – *Integrated Nested Laplace Approximations*) (RUE; MARTINO; CHOPIN, 2009).

O mesmo modelo misto bayesiano foi ajustado para estimar a associação entre incidência da infecção pelo DENV ou ZIKV e os fatores dos domicílios (criadouros potenciais no domicílio, tipo de moradia, uso de ar condicionado, reservatórios usados no armazenamento de água, presença de terreno vizinho com acúmulo de lixo, presença de estabelecimento vizinho, condições internas da casa e condições do quintal ou área externa). Em ambas as análises, considerou-se um intervalo de credibilidade de 95%.

Todos os dados foram analisados utilizando-se o *software* R versão 3.61 (R CORE TEAM, 2019).

## 6.5 ASPECTOS ÉTICOS

Trata-se de um projeto vinculado ao projeto principal intitulado “Formação de uma coorte prospectiva para o estudo de arboviroses em uma população infantil”. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca/Fiocruz, tendo o Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas/Fiocruz como instituição coparticipante sob registro **Parecer N° 1.721.793 CAAE: 13202113.1.0000.5240**. A criança foi incluída no estudo após assinatura do TCLE pela mãe ou responsável legal.



## 7 RESULTADOS

### 7.1 CARACTERÍSTICAS DA COORTE

Foram incluídas 888 crianças sendo 387 lactentes na coorte inicial (2012-2014) e 501 crianças na segunda onda (2015-2018). Houve uma proporção semelhante de crianças do sexo masculino (52%) e feminino (48%) incluídas no estudo. A distribuição das crianças por idade no decorrer dos anos do estudo está ilustrada no Diagrama de Lexis (Figura 7.1):

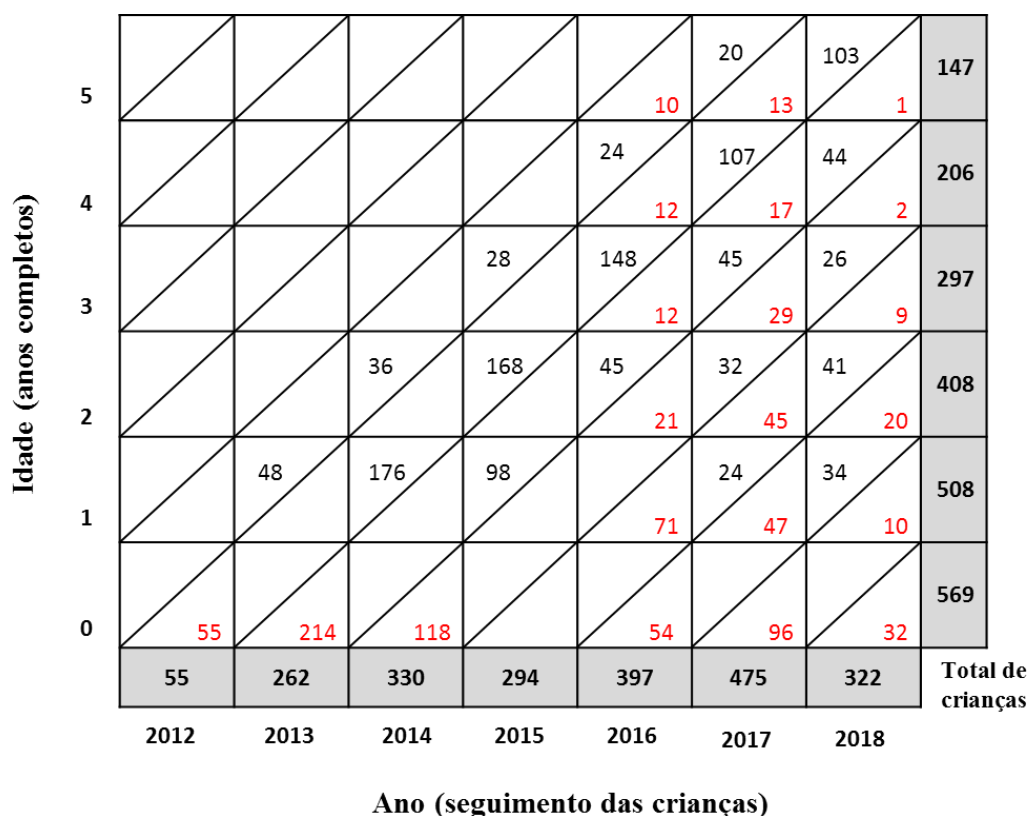


Figura 7.1: Diagrama de Lexis do seguimento das crianças de acordo com a idade.

Em cada quadrado consta o número de crianças em acompanhamento por ano e de acordo com a idade. Considerando o início do estudo em 2012, observamos o seguimento das crianças no decorrer dos anos através dos valores inseridos nas diagonais. Em vermelho: número de crianças incluídas no estudo de acordo com a idade no momento do recrutamento. Em cinza: total de crianças em cada ano e em cada faixa etária. A 1ª onda (coorte inicial) ocorreu em 2012-2014 e a 2ª onda (reabertura da coorte) em 2015-2018.

Na coorte de nascimento inicial, foram incluídas 387 crianças: 55 em 2012, 214 em 2013 e 118 em 2014. A perda de seguimento de lactentes nos dois primeiros anos de vida foi de aproximadamente 30%. Dentre as 220 crianças incluídas na extensão do acompanhamento até os cinco anos de idade, 51,4% concluíram o estudo. Após essa fase, a maioria das perdas de seguimento (61%) ocorreu do terceiro para o quarto ano de idade (Figura 7.2). Uma criança faleceu de complicações de apendicite.

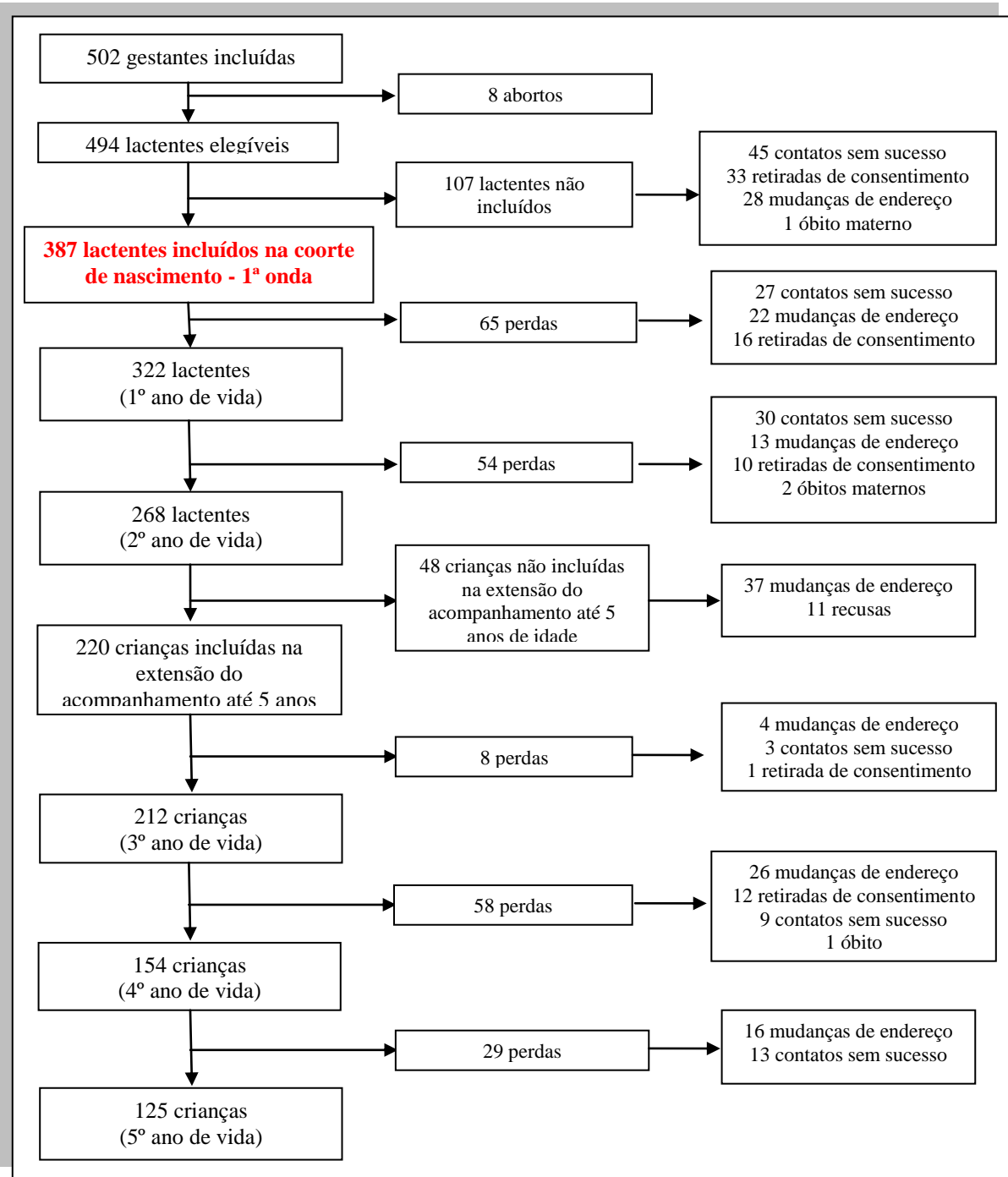


Figura 7.2: Fluxograma das crianças da 1ª onda da Coorte de Manguinhos.

Foram incluídos 271 neonatos após a reabertura da coorte de nascimentos em 2015 e, a partir de 2016, 230 crianças de 0-5 anos de idade também foram incluídas no estudo (Figura 7.3).

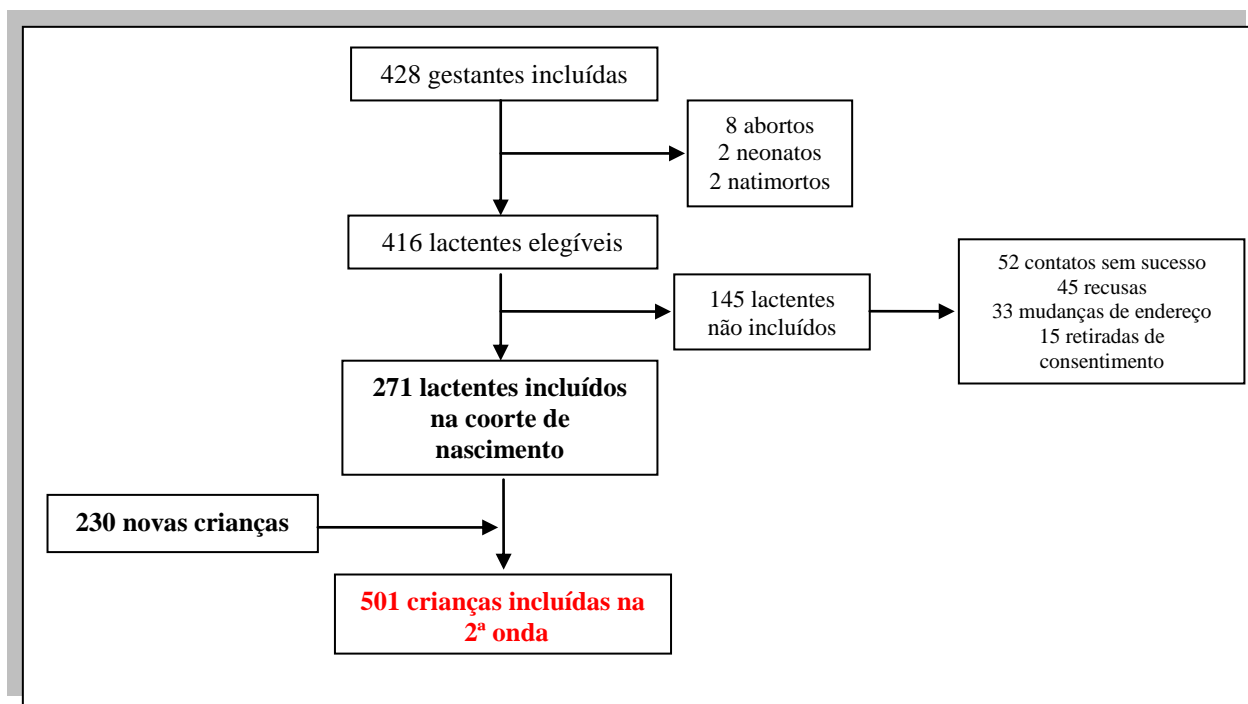


Figura 7.3: Fluxograma da inclusão das crianças na 2ª onda da Coorte de Manguinhos.

A maioria das crianças incluídas na segunda onda (79%) tinha menos de dois anos de idade no momento da inclusão no estudo. A idade mediana das crianças incluídas entre 2016 e julho de 2018 foi de um ano. A Figura 7.4 ilustra o número de incluídas no estudo de acordo com a idade no momento do recrutamento.

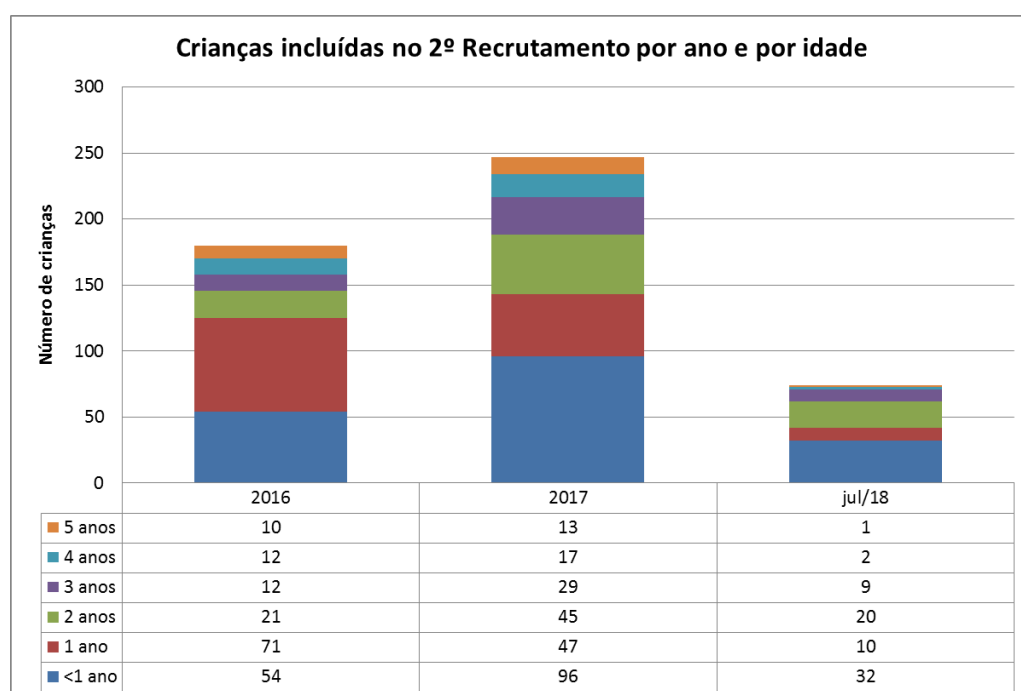


Figura 7.4: Número de crianças incluídas na 2ª onda da coorte, de acordo com a idade no momento do recrutamento e por ano.

A perda no primeiro ano de seguimento dentre as crianças incluídas em 2016 e 2017 foi de 50% e 42%, respectivamente. O seguimento das crianças incluídas na reabertura da coorte está representado na Figura 7.5.

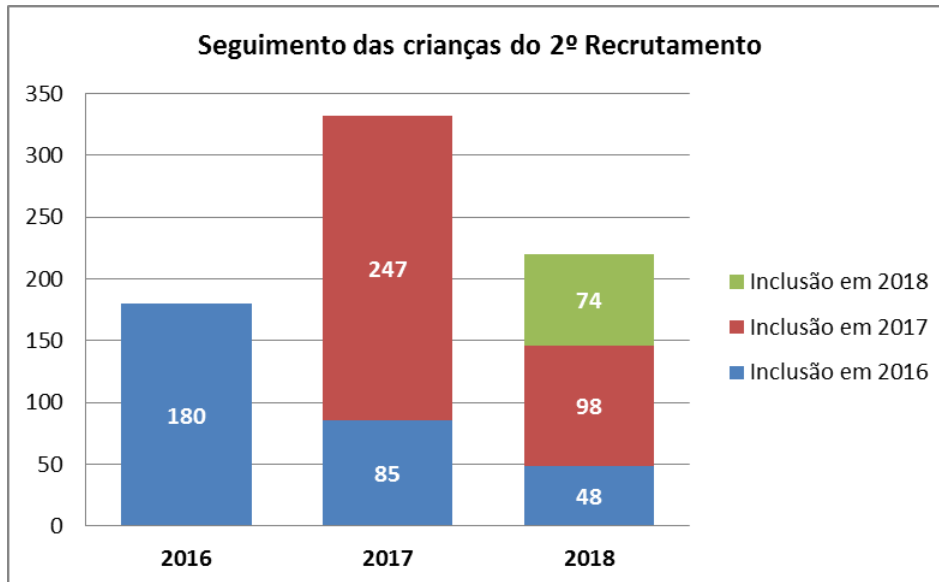


Figura 7.5: Número de crianças da 2ª onda (reabertura da coorte) incluídas por ano e seu seguimento no decorrer do estudo.

Foram coletadas informações de 341 domicílios dos participantes de ambas as ondas do estudo. A maioria residia em casa com ar condicionado e todos declararam que a forma de abastecimento de água era pela rede geral; no entanto, 53,1% faziam uso de reservatórios para armazenamento de água. Cerca de 31% apresentavam estabelecimentos na vizinhança como casa abandonada, ferro velho, borracharia e centro de reciclagem. Foi observada presença de criadouros potenciais de mosquito como pneus, garrafas e recipientes que acumulam água em 40,2% dos domicílios e 56,9% utilizava caçamba como destino do lixo.

No que diz respeito à receptividade do domicílio, 51,3% foram considerados “razoavelmente cuidado”. Entre os 90 domicílios com quintal ou área externa, 29,3% foi classificado como “razoavelmente cuidado” e houve uma classificação homogênea das condições do sombreamento do quintal em “pouca ou nenhuma sombra”, “alguma sombra” e “bastante sombra”.

Na tabela 7.1 estão descritas as características dos domicílios dos participantes da 1ª e 2ª ondas da coorte de Manguinhos.

Tabela 7.1: Características dos domicílios dos participantes da coorte de Manguinhos.

	N= 341 n (%)
<b>CARACTERÍSTICAS DO DOMICÍLIO</b>	
Tipo de moradia	
Apartamento	40 (11,7)
Casa	299 (87,7)
Uso de ar condicionado	229 (67,2)
Forma de abastecimento de água	
Rede geral	341 (100)
Uso de reservatório para armazenar água	181 (53,1)
Estabelecimentos na vizinhança (N=105)	
Borracharia	17 (16,3)
Casa abandonada	43 (40,9)
Centros de reciclagem	10 (9,5)
Ferro velho	35 (33,3)
Presença de criadouros potenciais no domicílio*	137 (40,2)
Destino do lixo	
Caçamba	194 (56,9)
Coleta regular	139 (40,8)
<b>RECEPTIVIDADE DO DOMICÍLIO</b>	
Condições internas da casa	
Mal cuidado	69 (20,2)
Razoavelmente cuidado	175 (51,3)
Bem cuidado	92 (27,0)
Condições do quintal ou área externa (N=90)	
Mal cuidado	26 (16,6)
Razoavelmente cuidado	46 (29,3)
Bem cuidado	21 (13,4)
Condições do sombreamento do quintal ou área externa (N=90)	
Pouca ou nenhuma sombra	28 (17,7)
Alguma sombra	31 (19,9)
Bastante sombra	31 (19,9)

\* presença de pneus, garrafas, recipientes que acumulam água de chuva, caixas d'água e tonéis.

A distribuição geográfica das crianças na área do estudo está ilustrada na Figura 7.6.

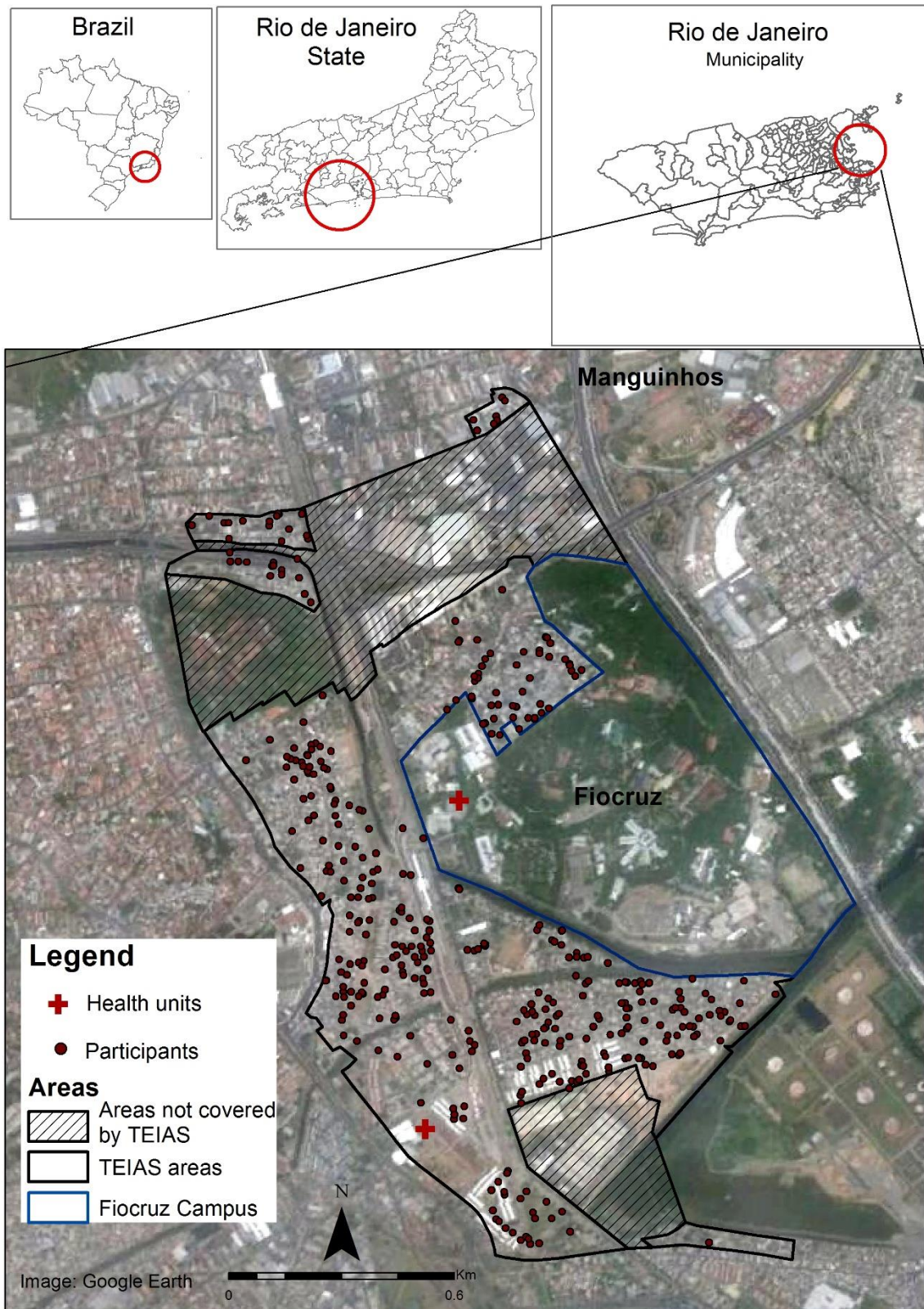


Figura 7.6: Distribuição geográfica dos participantes da Coorte de Mangueiros, 2012-2018.

### 7.1.1 Consultas de seguimento

No total, foram realizadas 3472 consultas pediátricas. As taxas de consulta obtidas entre as crianças da coorte inicial e as crianças incluídas na 2ª onda foram, respectivamente, de 22 consultas / 100 pessoas-mês e 36 consultas / 100 pessoas-mês.

De um modo geral, em 30,1% das consultas não houve relato de sinais ou sintomas; e os sinais clínicos mais prevalentes observados nas consultas pediátricas foram os sinais respiratórios associados ou não à febre (41,4%) (Tabela 7.2).

Tabela 7.2: Sinais clínicos observados nas consultas pediátricas da Coorte de Manguinhos, 2012-2018.

	<b>Total de consultas (N=3472)*</b>
	n (%)
Sinais respiratórios <sup>a</sup>	946 (27,2)
Febre e sinais respiratórios	492 (14,2)
Febre e infecção com foco	304 (8,8)
Febre <sup>a</sup>	215 (6,2)
Exantema <sup>b</sup>	104 (3,0)
Sinais hemorrágicos <sup>c</sup>	50 (1,4)
Sinais gastrointestinais <sup>a</sup>	38 (1,1)
Febre e sinais gastrointestinais	34 (1,0)
Febre e exantema	16 (0,5)
Assintomáticos	1044 (30,1)

<sup>a</sup> Sinais isolados.

<sup>b</sup> Sinal isolado ou associado a outros sinais, exceto febre.

<sup>c</sup> Sinal isolado ou associado a outros sinais.

\* Outras associações de sinais: n= 229

Durante o estudo, 39% (n=1364) das visitas realizadas foram de síndrome febril e/ou exantema.

Em relação à vigilância ativa de febre/exantema, os contatos telefônicos e as mensagens pelo *whatsapp* e *facebook* foram efetivos em 36,7% dos casos, enquanto as visitas domiciliares tiveram sucesso em 48,7% dos casos. Os contatos da vigilância passiva não foram registrados.

No início do estudo, observou-se que 34,4% das crianças não tiveram ao menos uma consulta de febre ou exantema. Após a implantação da vigilância ativa com as ferramentas das redes sociais, essa proporção reduziu para 29,6% e o número total de consultas de febre/exantema aumentou 3,5 vezes. Durante o período do estudo, não foram observados padrão temporal,

sazonalidade ou pico de casos de febre/exantema, retratando o pequeno número e alta flutuação dos casos (Figura 7.7).

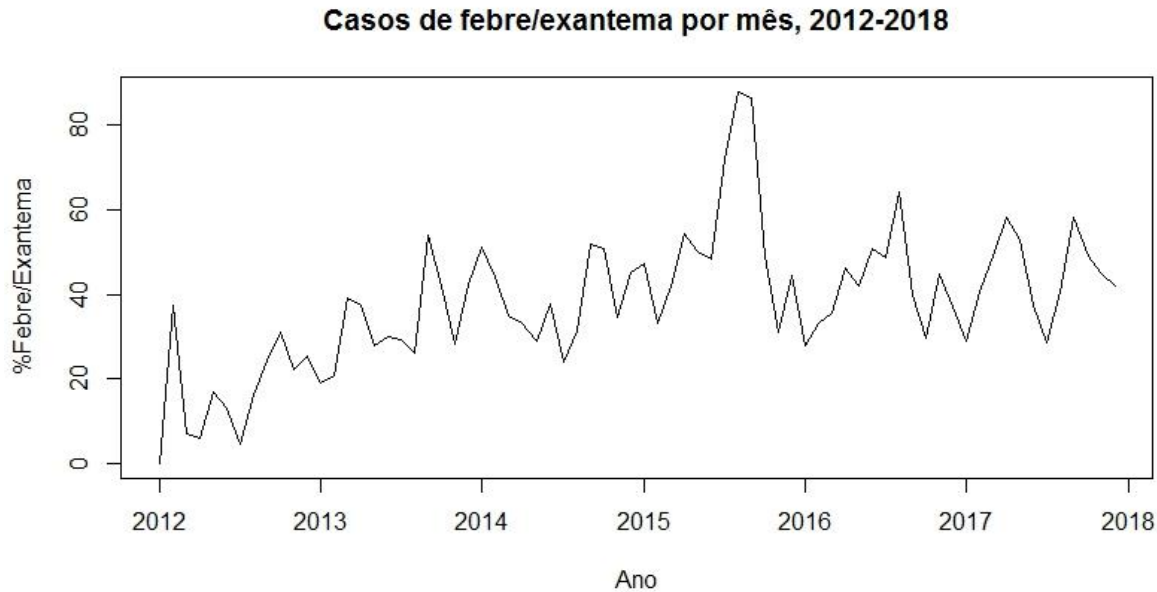


Figura 7.7: Série temporal dos casos mensais de febre/exantema de maio/2012 a julho/2018.

Das 1364 consultas pediátricas realizadas devido à febre e/ou exantema, 69,3% (n= 945) foram elegíveis para investigação laboratorial de Dengue e Zika. O tempo mediano entre o início dos sintomas e a data de coleta das amostras biológicas foi de três dias, variando de 0-9 dias. A investigação de Dengue entre 2012 e 2014 foi feita com IgM-DENV em todas as amostras coletadas (N=357; 9,8% resultado positivo) e PCR em 238 amostras (1,7% positivo). Entre 2015 e 2018, a investigação de Dengue foi feita com os testes de IgM-DENV em 162 amostras (5% positivo) e PCR-DENV em 414 amostras (todas negativas). Já a investigação de Zika foi pela técnica de PCR em 422 amostras de soro (todas negativas) e 107 amostras de urina (2,8% positivo).

Foram realizados aproximadamente cinco mil exames laboratoriais no decorrer do estudo incluindo investigação de Dengue e Zika no caso de febre e/ou exantema e nas consultas pediátricas programadas (Tabela 7.3).



Tabela 7.3: Exames laboratoriais realizados na Coorte de Manguinhos, 2012-2018.

Exames laboratoriais	Total de exames realizados	
	2012-2014	2015-2018
IgM Dengue	1280	463
IgG Dengue	47	485
PCR Dengue	149	503
PCR Zika	-	422
PCR Zika urina	-	107
PRNT-Zika	-	984
PRNT-Dengue	-	483

## 7.2 INCIDÊNCIA DE INFECÇÕES PELO DENV E ZIKV EM CRIANÇAS

Para o cálculo da incidência de infecções pelo DENV e ZIKV foram incluídas as 687 crianças com tempo médio de acompanhamento de 16 meses e que apresentaram resultado laboratorial válido para o diagnóstico. Das 201 crianças não incluídas na análise, 83% (n=167) eram bebês com menos de um ano idade, ou seja, não elegíveis para os testes de IgG-DENV e PRNT-Zika. Não houve coleta de sangue ou urina das outras crianças, ou as amostras biológicas apresentaram desvio de qualidade como coagulação e volume insuficiente.

### 7.2.1 Incidência de infecções pelo vírus Dengue

Analisou-se a incidência de infecção pelo DENV no período de 2012 a 2018. No entanto, não foram detectados novos casos de infecção pelo DENV em 2016, 2017 e 2018.

A taxa de incidência de infecção pelo DENV no decorrer dos anos do estudo e no período de ocorrência da doença está ilustrada na Figura 7.8. Os intervalos de confiança refletem o tamanho da amostra em cada ano. Em 2012, ano de início do estudo, a taxa de incidência de infecção pelo DENV foi de 1058/1000 pessoas-ano e caiu para 84/1000 pessoas-ano em 2015.

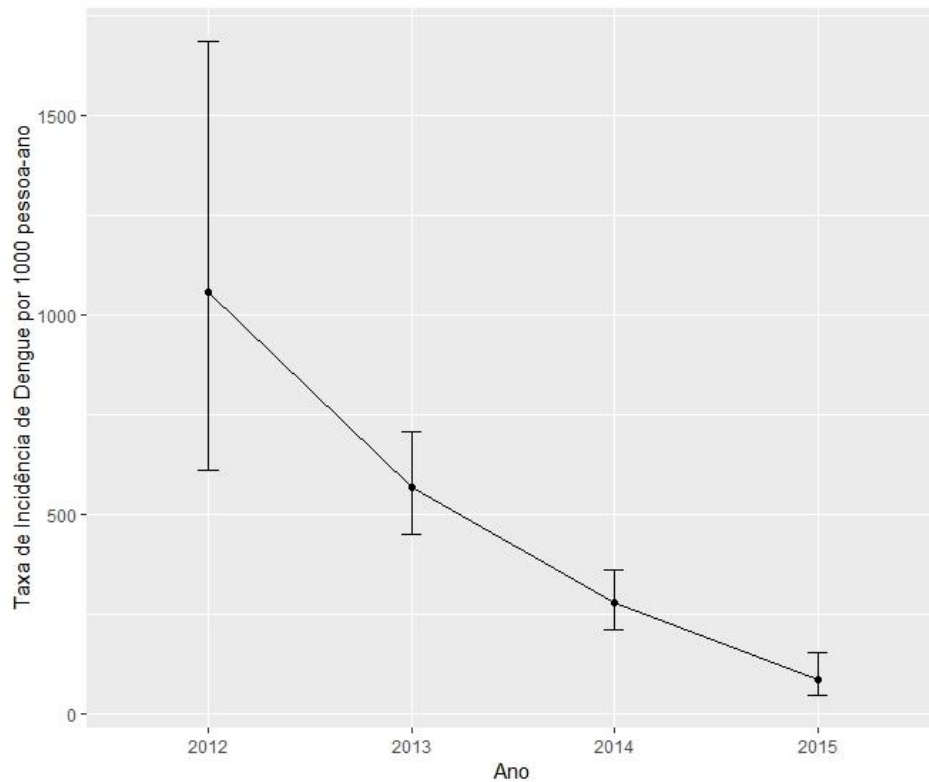


Figura 7.8: Incidência anual de infecção pelo vírus Dengue entre os lactentes e as crianças da coorte de Manguinhos. Estão ilustrados a taxa de incidência por 1000 pessoas-ano e os intervalos de confiança (95%) determinados pela regressão de Poisson.

Foram diagnosticados 152 casos de infecção pelo DENV entre 2012 e 2015: 144 IgM DENV positivo, quatro soroconversões de IgG DENV, e quatro PCR Dengue positivos. Nesse período, 383 crianças estavam em acompanhamento e as taxas de incidência foram homogêneas em relação ao sexo (Tabela 7.4). Os sorotipos foram três casos de DENV-4 e um de DENV-3. A taxa de incidência global de infecção pelo DENV foi de 320/1000 pessoas-ano. No primeiro ano de vida, a taxa de incidência de infecção pelo DENV foi de 549/1000 pessoas-ano (Tabela 7.4). As infecções pelo DENV ocorreram entre as crianças incluídas na coorte de nascimento inicial (1ª onda do estudo).

A incidência de infecção pelo DENV de acordo com o sexo e a idade da criança no período de 2012 a 2015 está descrita na Tabela 7.4.

Tabela 7.4: Incidência de infecção pelo DENV em lactentes e crianças da coorte de Manguinhos no período de 2012-2015.

Variáveis	DENGUE		
	Total pessoas-tempo (ano)	Total de infecções	Incidência por 1000 pessoas-ano (IC -95%)**
<b>Todas as crianças (N=383)</b>	475,21	152	320 (272-373)
<b>Sexo</b>			
<b>Feminino</b>	224,50	73	325 (256-406)
<b>Masculino</b>	251,17	79	315 (251-390)
<b>Idade (anos)*</b>			
<b>0-1</b>	229,68	126	549 (458-650)
<b>1-2</b>	174,38	15	86 (50-137)
<b>2-3</b>	68,48	11	161 (83-275)
<b>3-4</b>	2,72	0	-

\* A idade máxima das crianças no período foi de 4 anos. \*\* Regressão de Poisson.

Os lactentes e crianças foram distribuídos homogeneamente na área do estudo relação à infecção pelo DENV (APÊNDICE A).

Em relação aos sinais clínicos, entre os 152 casos de infecção pelo DENV, 33 crianças (21,8%) apresentaram febre com tempo mediano de duração de dois dias, variando de zero a 29 dias. Observou-se uma proporção maior de febre entre as crianças de um a dois anos de idade com infecção pelo DENV (Figura 7.9).

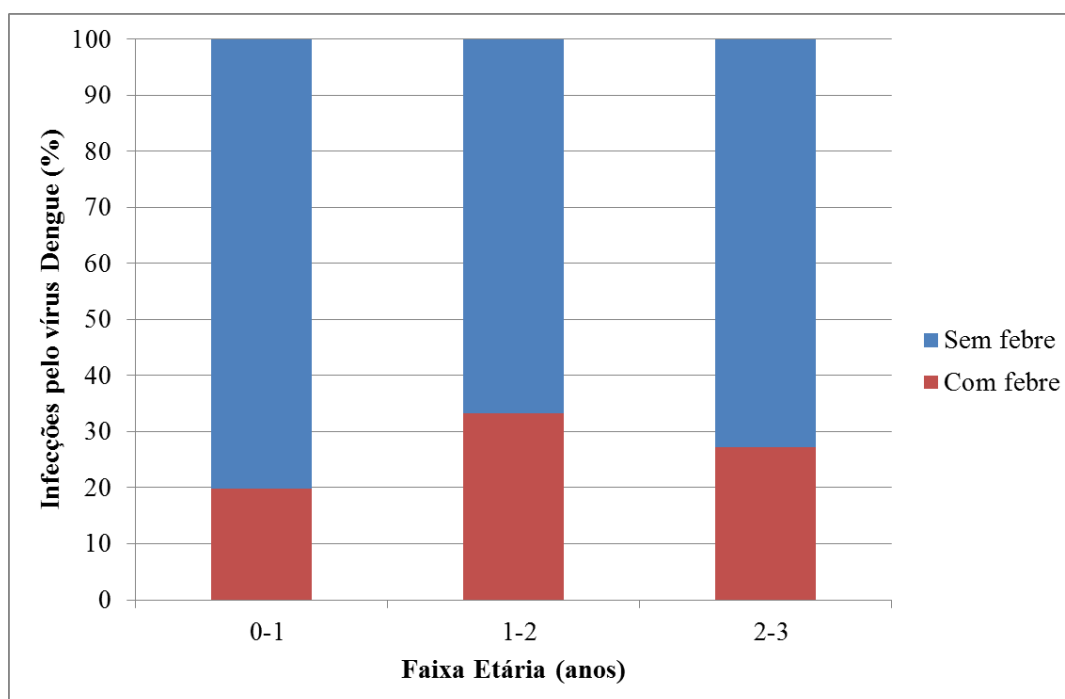


Figura 7.9: Proporção de infecções pelo vírus Dengue (N=152) segundo presença de febre por faixa etária (anos).

A maioria das crianças (90,9%) apresentou febre associada a outros sinais clínicos, entre eles: respiratórios (n = 24, 72,7%), gastrointestinais (n= 3, 9,1%) e exantema (n=3, 9,1%). Três crianças (9,1%) apresentam febre não associada a outros sinais ou sintomas (Figura 7.10).

Entre as infecções sem febre (n=119, 78,2%), a maioria dos lactentes e crianças apresentou sinais respiratórios (n=44, 36,9%) e gastrointestinais (n=9, 7,6%). Não foram observados sinais hemorrágicos. No total, 3,9% (n=6) das infecções pelo DENV apresentaram os sinais clássicos da doença (febre e/ou exantema) (Figura 7.10).

A taxa de doença clínica, com os sinais clássicos, foi de 12,6 / 1000 pessoas-ano.

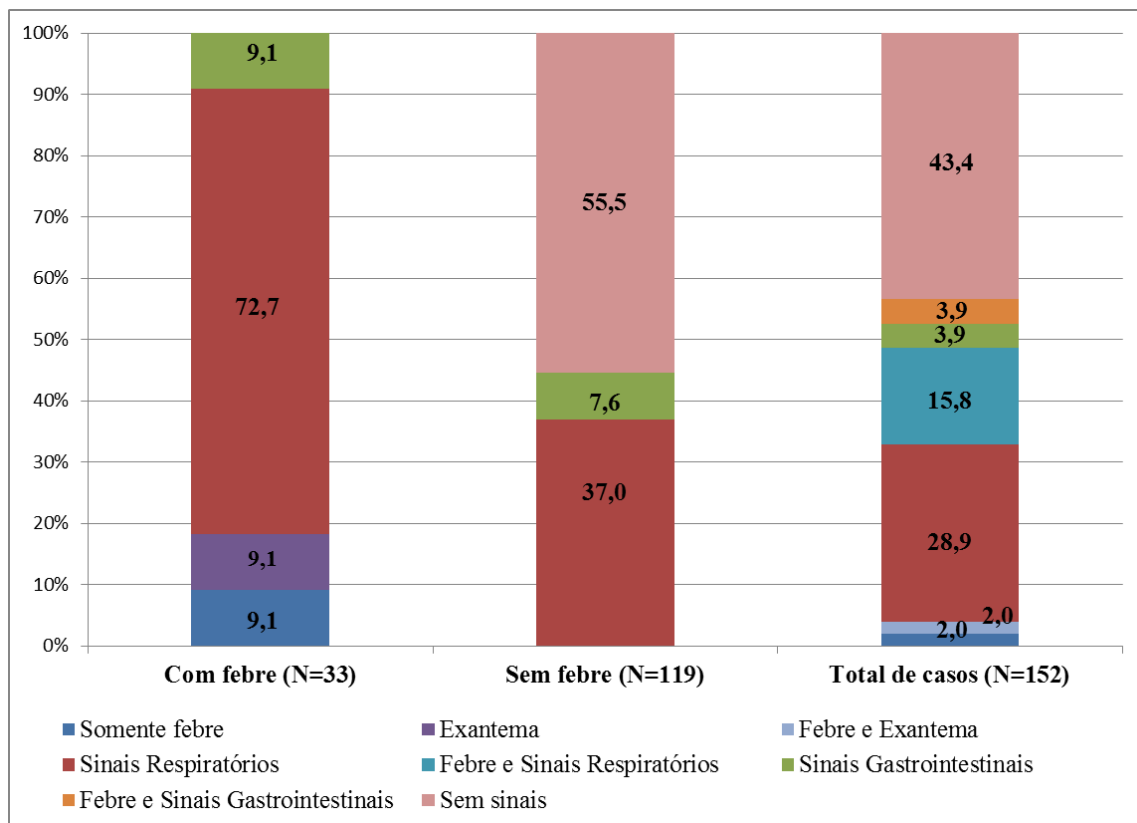


Figura 7.10 Proporção de sinais clínicos apresentados entre os lactentes e crianças com infecção pelo vírus Dengue (N=152).

Oito crianças apresentaram IgM anti-Dengue mais de uma vez (intervalo superior a um ano entre os resultados ou negativaram e ficaram positivos novamente). Metade delas apresentou febre e nenhuma criança evoluiu para Dengue grave.

Não houve associação entre a maioria dos sinais clínicos apresentados nas consultas pediátricas e a infecção pelo DENV confirmada laboratorialmente (Tabela 7.5). Observou-se que há uma menor chance de associação entre a ocorrência de febre associada a sinais gastrointestinais e a infecção pelo DENV.

Tabela 7.5: Sinais clínicos apresentados nas consultas pediátricas de acordo com o resultado laboratorial para Dengue na coorte de Manguinhos no período de 2012-2015.

	RESULTADO LABORATORIAL PARA DENGUE		OR (IC 95%)*
	Negativo N=1244 n (%)	Positivo N=152 n (%)	
<b>Febre</b>			
Não	817 (87,3)	119 (12,7)	1
Sim	427 (92,8)	33 (7,2)	0,8 (0,47-1,4)
<b>Febre não associada a outros sinais ou sintomas</b>			
Não	1192 (88,9)	149 (11,1)	1
Sim	52 (94,5)	3 (5,5)	0,42 (0,06-1,92)
<b>Febre e exantema <sup>a</sup></b>			
Não	1217 (89,1)	149 (10,9)	1
Sim	27 (90)	3 (10)	1,5 (0,32-5,86)
<b>Sinais respiratórios</b>			
Não	477 (87,2)	70 (12,8)	1
Sim	767 (90,3)	82 (9,7)	0,89 (0,56-1,47)
<b>Sinais gastrointestinais</b>			
Não	1055 (88,3)	140 (11,7)	1
Sim	189 (94,1)	12 (5,9)	0,63 (0,29-1,29)
<b>Febre e sinais respiratórios</b>			
Não	689 (87,3)	100 (12,3)	1
Sim	555 (91,4)	52 (8,6)	0,87 (0,54-1,44)
<b>Febre e sinais gastrointestinais</b>			
Não	1079 (88,1)	146 (11,9)	1
Sim	165 (96,5)	6 (3,5)	<b>0,36 (0,14-0,86)</b>

<sup>a</sup>Todos os casos de exantema estavam associados à febre.

\*Modelo de regressão logística multinível; IC = Intervalo de confiança.

### 7.2.1.1 Fatores associados à infecção pelo DENV

A mediana de idade das mães cujos filhos tiveram infecção pelo DENV foi de 25 anos. A maioria era casada (43,7%) e da cor negra (42,6%). Houve uma proporção semelhante de mães com escolaridade até o ensino fundamental (40,4%) e mães com ensino médio ou superior (39,0%). A vacinação de febre amarela foi relatada em 44,4% das mães. A maioria (40,9%) relatou que nunca teve dengue. No momento da inclusão no estudo, durante a gestação, 38,6% das mães apresentavam IgG anti-DENV e 32,4% apresentavam IgM anti-DENV. Não houve associação entre as características maternas e a infecção pelo DENV nas crianças (Tabela 7.6).

Tabela 7.6: Características das gestantes segundo diagnóstico laboratorial de infecção pelo vírus Dengue entre os lactentes e as crianças da Coorte de Manguinhos, 2012-2015.

CARACTERÍSTICAS DAS GESTANTES	Total de lactentes e crianças	Com infecção (N=152)	OR ajustado pela idade (IC 95%)*
<b>Idade (anos), Mediana (IQR)</b>		25 (21;30)	0,99 (0,96-1,01)
<b>Situação conjugal – n (%)<sup>a</sup></b>			
Casada ou mora junto com parceiro	245	107 (43,7)	1
Solteira	133	44 (33,1)	0,67 (0,44-0,94)
Viúva	2	1 (50,0)	1,51 (0,12-11,86)
<b>Raça/cor – n (%)</b>			
Branca	83	31 (37,3)	1
Negra	54	23 (42,6)	1,14 (0,63-2,04)
Parda	246	98 (39,8)	1,09 (0,71-1,69)
<b>Escolaridade – n (%)</b>			
Até o Ensino Fundamental	188	76 (40,4)	1
Ensino Médio e/ ou Ensino Superior	195	76 (39)	0,96 (0,67-1,37)
<b>Vacina de febre amarela – n (%)<sup>b</sup></b>			
Não	318	125 (39,3)	1
Sim	36	16 (44,4)	0,91 (0,49-1,59)
<b>Histórico de Dengue – n (%)<sup>c</sup></b>			
Não	279	114 (40,9)	1
Sim	103	38 (36,9)	0,87 (0,59-1,29)
<b>IgM – DENV – n (%)<sup>d</sup></b>			
neg	335	133 (39,7)	1
pos	37	12 (32,4)	0,82 (0,42-1,48)
<b>IgG – DENV – n (%)<sup>e</sup></b>			
neg	35	17 (48,6)	1
pos	342	132 (38,6)	0,69 (0,42-1,19)

<sup>a</sup> 3 gestantes divorciadas no grupo de crianças sem infecção pelo DENV; <sup>b</sup> Dados faltantes: 18 gestantes do grupo de crianças sem infecção pelo DENV e uma gestante do grupo de crianças com infecção pelo DENV; <sup>c</sup> 227 gestantes do grupo de crianças sem infecção pelo DENV não souberam responder; <sup>d</sup> Resultado indeterminado: 3 do grupo de crianças sem infecção pelo DENV e 7 do grupo de crianças com infecção pelo DENV; <sup>e</sup> Resultado indeterminado: 3 do grupo de crianças sem infecção pelo DENV e 3 do grupo de crianças com infecção pelo DENV.

\* Modelo Bayesiano de regressão logística multinível; IC = Intervalo de credibilidade.

Foram coletadas informações de 44,9% (n=172) dos domicílios dos lactentes e crianças acompanhados durante o período de transmissão de dengue.

Entre os domicílios com casos de crianças com infecção pelo DENV houve uma distribuição semelhante entre aqueles com presença ou ausência de criadouros potenciais para o mosquito *A. aegypti* como pneus, garrafas e recipientes que acumulam água de chuva, assim como no tipo de moradia como casa ou apartamento. A presença de ar condicionado foi relatada em 45,1% das crianças com infecção pelo DENV.

Cerca da metade (n=83) dos participantes possui reservatório para armazenamento de água em seu domicílio (Tabela 7.1) como caixa d'água com tampa (80%), pequenos recipientes (11,8%) e barris sem tampa (8,2%). O uso desses reservatórios foi associado a uma chance menor de infecção pelo DENV. Já a presença de terreno vizinho com acúmulo de lixo, relatada em 25% dos domicílios, aumentou em duas vezes a chance de a criança ter Dengue. No modelo de regressão múltiplo, o uso de reservatório para armazenamento de água e a presença de terreno vizinho com acúmulo de lixo aumentam a força de associação. Não houve associação entre as outras características dos domicílios e a infecção pelo DENV (Tabela 7.7).



Tabela 7.7: Características dos domicílios das crianças acompanhadas na Coorte de Mangueiros segundo infecção pelo vírus Dengue, 2012-2015.

CARACTERÍSTICAS DO DOMICÍLIO	Total de crianças	Com infecção (N=72) n (%)	Análise univariada OR (IC 95%)*	Análise multivariada OR (IC 95%)*
<b>Criadouros potenciais no domicílio<sup>a</sup></b>				
Não	99	39 (39,4)	1	
Sim	73	33 (45,2)	1 (0,7-1,41)	
<b>Tipo de moradia</b>				
casa	145	60 (41,4)	1	
apartamento	27	12 (44,4)	0,91 (0,47-1,65)	
<b>Usa ar condicionado?</b>				
nao	59	21 (35,6)	1	
sim	113	51 (45,1)	0,89 (0,61-1,27)	
<b>Reservatórios usados para armazenar água</b>				
Não	86	40 (46,5)	1	
Sim	83	30 (36,1)	<b>0,59 (0,38-0,89)</b>	<b>0,51 (0,32-0,78)</b>
<b>Terreno vizinho com acúmulo de lixo</b>				
Não	126	45 (35,7)	1	
Sim	43	26 (60,5)	<b>1,64 (1,01-2,59)</b>	<b>1,98 (1,2-3,2)</b>
<b>Estabelecimento vizinho<sup>b</sup></b>				
Não	126	49 (38,9)	1	
Sim	46	23 (50,0)	1,04 (0,63-1,65)	
<b>Condições internas da casa</b>				
Bem cuidado	55	17 (30,9)	1	
Razoavelmente cuidado	31	15 (48,4)	1,18 (0,77-1,77)	
Mal cuidado	83	39 (47,0)	1,06 (0,57-1,87)	
<b>Tem quintal ou área externa</b>				
Não	131	56 (42,7)	1	
Sim	41	16 (39,0)	0,77 (0,43-1,32)	
<b>Condições do quintal (N=41)</b>				
Bem cuidado	9	4 (44,5)	1	
Razoavelmente cuidado	16	6 (52,5)	0,74 (0,29-1,66)	
Mal cuidado	16	7 (43,7)	0,94 (0,37-1,92)	
<b>Condições do sombreamento do quintal (N=41)</b>				
Alguma sombra (>25% e <50%)	11	5 (45,5)	1	
Bastante sombra (>50%)	16	4 (25,0)	0,49 (0,16-1,25)	
Pouca ou nenhuma sombra (<25%)	14	7 (50,0)	0,94 (0,39-2,03)	

<sup>a</sup> Pneus, garrafas, recipientes que acumulam água da chuva, caixas d'água, tonéis, etc. <sup>b</sup> Ferro velho, borracharia, cemitério, casa abandonada ou local de reciclagem.

\* Modelo Bayesiano de regressão logística multinível; IC = Intervalo de credibilidade; OR ajustado pela idade.

## 7.2.2 Incidência de infecções pelo vírus Zika

Foram observados 49 casos de Zika entre 528 crianças em acompanhamento no período de 2015 a 2018: 22 soroconversões de PRNT-50 Zika, três crianças com PCR-Zika reagente na urina, e 27 casos de acordo com o algoritmo para investigação sorológica (Figura 2.4). Com isso, a incidência global de infecção pelo ZIKV foi de 9,3%.

A incidência de infecção pelo ZIKV foi semelhante em relação ao sexo e maior em crianças de quatro a cinco anos de idade (Tabela 7.8).

Tabela 7.8: Características dos lactentes e das crianças segundo diagnóstico laboratorial de infecção pelo vírus Zika, Coorte de Manguinhos, 2015-2018.

Variáveis	Total de crianças	Infecção pelo ZIKV	Incidência (%)
<b>Sexo</b>			
Feminino	259	21	8,1
Masculino	269	28	10,4
<b>Idade (em anos)</b>			
1-2	294	21	7,5
2-3	158	16	10,8
3-4	41	5	12,2
4-5	35	7	20,0

As infecções pelo ZIKV foram distribuídas homoganeamente na área de Manguinhos (APÊNDICE B).

Entre os 49 casos de infecção pelo ZIKV, 23 crianças (46,9%) apresentaram febre com tempo mediano de duração de dois dias, variando de zero a 29 dias. Observou-se uma proporção maior de febre entre as crianças de um a três anos de idade com infecção pelo ZIKV (Figura 7.11).

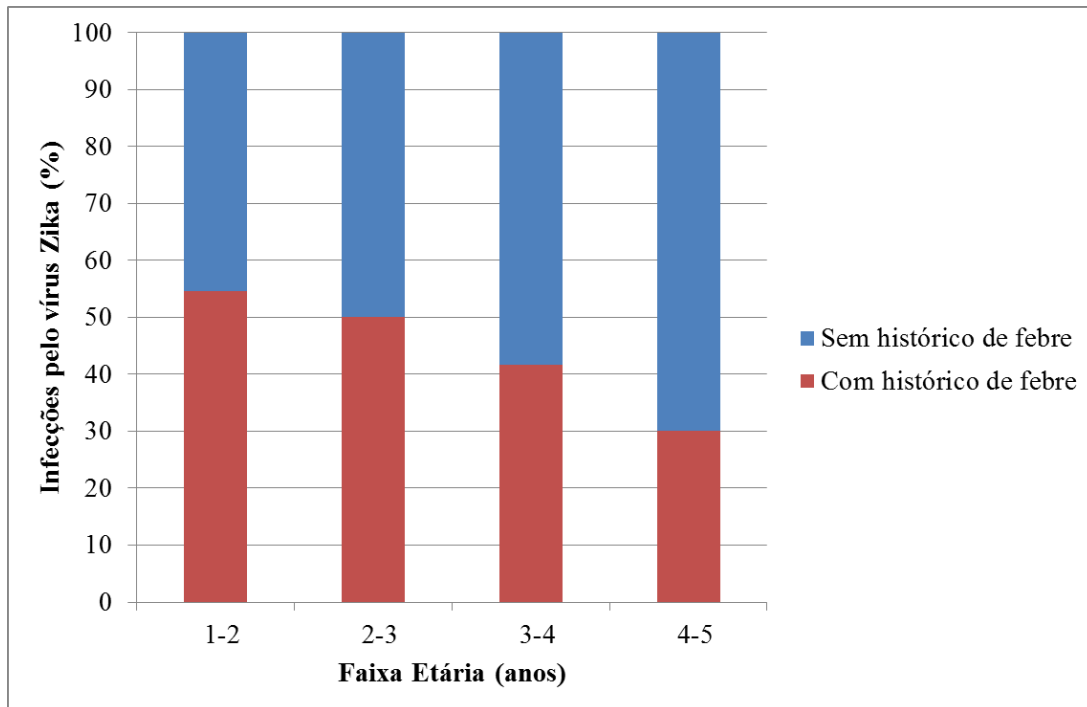


Figura 7.11: Proporção de infecções pelo vírus Zika com e sem histórico de febre de acordo com a faixa etária (anos).

Todas as crianças com febre apresentaram outros sinais clínicos associados como sinais respiratórios (n=14; 60,9%), sinais gastrointestinais (n=5; 21,7%) e exantema (n=4; 17,4%). Entre as infecções sem febre, os sinais mais comuns foram os respiratórios (61,5%) e gastrointestinais (7,7%). Não foram observados sintomas hemorrágicos. Do total de crianças infectadas, quatro (8,2%) tinham histórico de febre e/ou exantema (Figura 7.12).

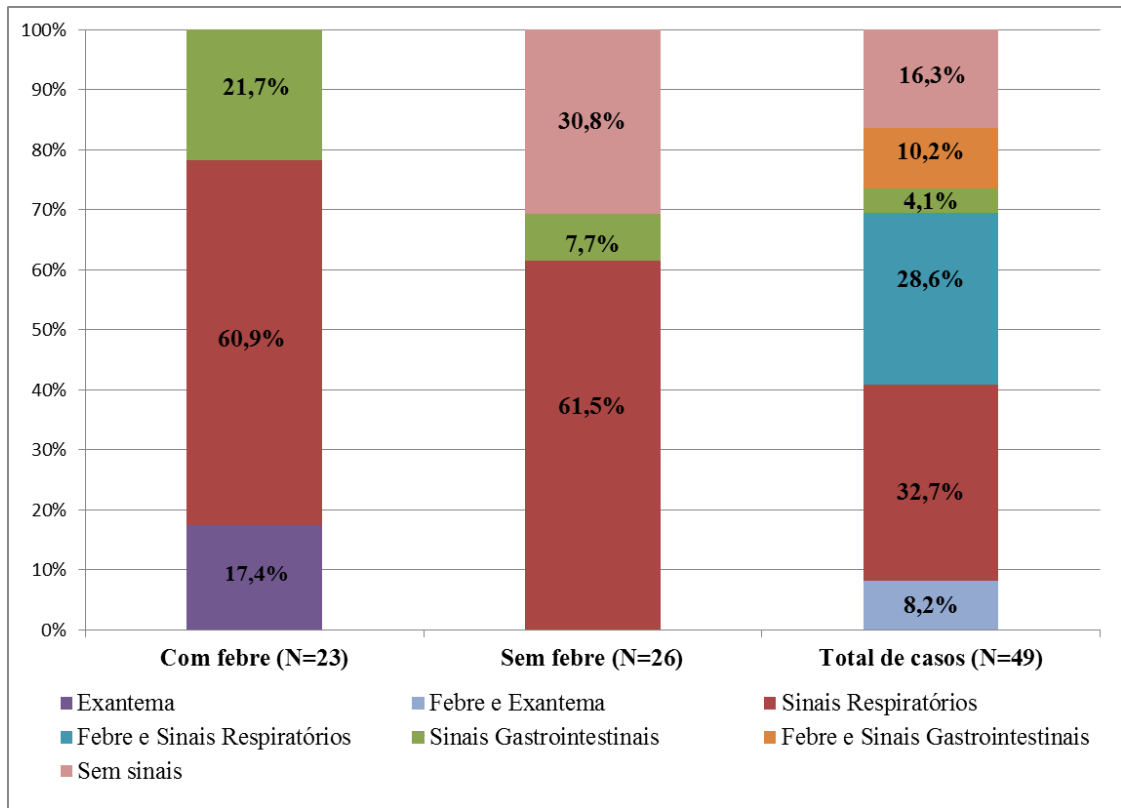


Figura 7.12: Proporção de sinais clínicos apresentados entre os lactentes e crianças com infecção pelo ZIKV (N=49).

### 7.2.2.1 Fatores associados à infecção pelo ZIKV

A mediana de idade das mães cujos filhos tiveram infecção pelo ZIKV foi de 26 anos. A maioria dessas mães era casada (60,0%) e da cor parda (70,0%). Em relação à escolaridade, 56,7% dessas mães tinham ensino médio e/ou superior. A maioria das mães cujos filhos tiveram infecção pelo ZIKV não relatou vacinação para febre amarela (86,7%) ou história prévia de dengue (60,0%).

Não foi observada associação entre as características de 328 gestantes e a infecção pelo ZIKV nos lactentes e crianças das coortes de nascimento (Tabela 7.9).

Tabela 7.9: Características das gestantes segundo diagnóstico laboratorial de infecção pelo vírus Zika entre as crianças da Coorte de Manguinhos, 2015-2018.

<b>CARACTERÍSTICAS DAS GESTANTES</b>	<b>Total de crianças</b>	<b>Com infecção (N=30)</b>	<b>OR ajustado pela idade (IC 95%)*</b>
<b>Idade (anos), Mediana (IQR)</b>		26 (20; 32)	0,98 (0,95-1)
<b>Situação conjugal – n (%)<sup>a</sup></b>			
Casada ou mora junto com parceiro	208	18 (8,7)	1
Solteira	116	12 (10,3)	1,02 (0,51-1,93)
<b>Raça/cor – n (%)<sup>b</sup></b>			
Branca	66	6 (9,1)	1
Negra	56	3 (5,4)	0,34 (0,09-1,03)
Parda	205	21 (10,2)	0,70 (0,38-1,27)
<b>Escolaridade – n (%)</b>			
Até o Ensino Fundamental	159	13 (8,2)	1
Ensino Médio e/ ou Ensino Superior	169	17 (10,1)	0,71 (0,38-1,26)
<b>Vacina de febre amarela – n (%)<sup>c</sup></b>			
Não	286	26 (9,1)	1
Sim	24	2 (8,3)	0,77 (0,16-2,8)
<b>Histórico de Dengue – n (%)<sup>d</sup></b>			
Não	230	18 (7,8)	1
Sim	96	12 (12,5)	1,11 (0,5-2,11)

<sup>a</sup> Grupo de crianças sem infecção pelo ZIKV: 3 gestantes divorciada e 1 viúva.

<sup>b</sup> Grupo de crianças sem infecção pelo ZIKV: 1 oriental.

<sup>c</sup> Dados faltantes: 16 do grupo de crianças sem infecção pelo ZIKV e 2 do grupo de crianças com infecção pelo ZIKV.

<sup>d</sup> Dados faltantes: 3 do grupo de crianças sem infecção pelo ZIKV.

\* Modelo Bayesiano de regressão logística multinível; IC = Intervalo de credibilidade.

Entre as crianças acompanhadas no período de 2015 a 2018, após a introdução do ZIKV, 49,3% (n=261) tiveram seus domicílios caracterizados.

Entre os domicílios com casos de crianças com infecção pelo ZIKV houve uma distribuição semelhante entre aqueles com presença ou ausência de criadouros potenciais para o mosquito *A. aegypti* como pneus, garrafas e recipientes que acumulam água de chuva. A maioria dessas crianças morava em casa (96,7%) e tinham ar condicionado em seu domicílio (72,4%). Oito domicílios (27,6%) possui reservatório para armazenamento de água como caixa d'água com tampa (76,9%), pequenos recipientes (16,9%) e barris sem tampa (6,2%); e o uso desses reservatórios foi associado a uma chance menor de infecção pelo ZIKV. A minoria (27,6%) desses domicílios tinha terreno vizinho com acúmulo de lixo, mas a maioria (68,9%) não foi considerada como “bem cuidados” (Tabela 7.10).

Tabela 7.10: Características dos domicílios das crianças acompanhadas na Coorte de Manguinhos segundo infecção pelo vírus Zika, 2015-2018.

CARACTERÍSTICAS DO DOMICÍLIO	Total de crianças	Com infecção (N=29)	OR ajustado pela idade (IC 95%)*
		n (%)	
<b>Criadouros potenciais no domicílio<sup>a</sup></b>			
Não	145	13 (9,0)	1
Sim	109	15 (13,8)	1,53 (0,8-2,8)
<b>Tipo de moradia</b>			
casa	227	28 (12,3)	1
apartamento	33	1 (3,0)	0,19 (0,02-1,04)
<b>Usa ar condicionado?</b>			
nao	87	8 (9,2)	1
sim	173	21 (12,1)	1,02 (0,57-1,81)
<b>Reservatórios usados para armazenar água</b>			
Não	121	19 (15,7)	<b>1</b>
Sim	130	8 (6,2)	<b>0,39 (0,17-0,8)</b>
<b>Terreno vizinho com acúmulo de lixo</b>			
Não	184	20 (10,9)	1
Sim	73	8 (11,0)	0,94 (0,41-1,95)
<b>Estabelecimento vizinho<sup>b</sup></b>			
Não	193	21 (10,9)	1
Sim	67	8 (11,9)	0,81 (0,36-1,68)
<b>Condições internas da casa</b>			
Bem cuidado	75	8 (10,7)	1
Razoavelmente cuidado	132	12 (9,1)	0,87 (0,43-1,7)
Mal cuidado	50	8 (16,0)	1,46 (0,62-3,12)
<b>Tem quintal ou área externa</b>			
Não	186	24 (12,9)	1
Sim	73	4 (5,5)	0,39 (0,13-1)
<b>Condições do quintal (N= 73)</b>			
Bem cuidado	17	1 (5,9)	1
Razoavelmente cuidado	35	2 (5,7)	0,42 (0,09-1,5)
Mal cuidado	21	1 (4,7)	0,35 (0,04-1,96)
<b>Condições do sombreamento do quintal (N= 73)</b>			
Alguma sombra (>25% e <50%)	25	1 (4,0)	1
Bastante sombra (>50%)	24	1 (4,2)	0,27 (0,03-1,51)
Pouca ou nenhuma sombra (<25%)	24	2 (8,7)	0,73 (0,15-2,6)

<sup>a</sup> Pneus, garrafas, recipientes que acumulam água da chuva, caixas d'água, tonéis, etc. <sup>b</sup> Ferro velho, borracharia, cemitério, casa abandonada ou local de reciclagem. \* Modelo Bayesiano de regressão logística multinível; IC = Intervalo de credibilidade.



### 7.2.3 Relação entre as infecções pelo DENV e pelo ZIKV

Entre o período de 2015 a 2018, 10 crianças foram diagnosticadas com infecção por flavivírus cuja diferenciação entre DENV ou ZIKV não possível. Não foram observados casos de coinfeção pelo DENV e ZIKV.

A maioria das crianças (53,2%) foi exposta à epidemia de Dengue em 2012, mas essa exposição não apresentou associação à infecção pelo ZIKV. Contudo, as crianças com infecção prévia pelo DENV (confirmada laboratorialmente) apresentaram uma chance menor de ter infecção pelo ZIKV (Tabela 7.11).

Tabela 7.11: Efeito da exposição à epidemia de Dengue e infecção prévia pelo vírus Dengue na chance de infecção pelo vírus Zika entre as crianças da Coorte de Manguinhos, 2015-2018.

	<b>Total de lactentes e crianças</b>	<b>Sem infecção pelo ZIKV (N=479)</b> n (%)	<b>Com infecção pelo ZIKV (N=49)</b> n (%)	<b>OR ajustado pela idade (IC 95%)**</b>
<b>Exposição à recente epidemia de Dengue</b>				
Não	247	233 (94,3)	14 (5,7)	1
Sim	281	246 (87,5)	35 (12,5)	0,99 (0,50-2,01)
<b>Infecção prévia pelo DENV*</b>				
Não	428	387 (90,4)	41 (9,6)	1
Sim	100	92 (92,0)	8 (8,0)	<b>0,42 (0,19-0,87)</b>

\* Confirmada laboratorialmente.

\*\* Modelo Bayesiano de regressão logística multinível; IC = Intervalo de credibilidade.

## 8 DISCUSSÃO

Estudos de coorte constituem o melhor delineamento para a avaliação da história natural das arboviroses. O período de acompanhamento desta coorte de nascimento (2012 a 2018) abrangeu dois momentos de relevância epidemiológica para o Rio de Janeiro: a entrada do DENV-4 em 2012 e o início da circulação do ZIKV em 2015.

### 8.1 CARACTERÍSTICAS DA COORTE DE NASCIMENTO DE MANGUINHOS

As questões metodológicas e a complexidade da implantação desta coorte para estudo dos aspectos clínicos, laboratoriais e entomológicos, em uma comunidade de baixa renda no Rio de Janeiro apresentaram obstáculos e elementos facilitadores (ANEXO I).

#### 8.1.1 Fatores que contribuíram para as perdas de seguimento

Apesar das mudanças estruturais instituídas no território, as residências dos participantes foram distribuídas homoganeamente em Manguinhos. O modelo da Estratégia de Saúde da Família (ESF) para a atenção básica foi muito importante para melhorar a adesão e especialmente útil no processo de recrutamento das gestantes (primeira onda) e das crianças (segunda onda). A semelhança das características sociodemográficas nas duas ondas indica que o critério de elegibilidade foi homogêneo e não se alterou ao longo do tempo.

Na primeira onda, a coleta de sangue dos recém-nascidos foi o motivo mais relevante para a recusa das gestantes em participar do estudo.

Os contatos por telefone ou busca ativa domiciliar para convidar as crianças para as visitas agendadas foram muitas vezes mal sucedidos como consequência das constantes mudanças de número de telefone e endereço tanto dentro quanto fora do território de Manguinhos (migração interna e externa). A localização dos endereços, ora incorretos, ora inexistentes também impediu o seguimento de algum dos participantes.

As dificuldades de adesão e as perdas de seguimento (em torno de 30% na primeira onda e 40% na segunda onda) estão diretamente relacionadas às condições sociais e de moradia do local de estudo. Em 2008, o governo federal implantou um programa de habitação, transporte e saneamento (PAC - Programa de Aceleração do Crescimento) na área, resultando em uma série de movimentos urbanos que de alguma forma poderia influenciar no cadastramento das famílias na ESF (RABELLO, 2016), explicando parcialmente a perda de seguimento. Além disso, a violência urbana relacionada ao tráfico de drogas e conflitos entre

policiais e traficantes limitou a movimentação das famílias e restringiu a presença da equipe de pesquisa na área em alguns períodos (BARCELLOS; ZALUAR, 2014).

A mudança consecutiva de governo como a ocorrida em 2015 com falta de investimentos regulares na área prejudicou a manutenção de melhorias nas intervenções de saúde pública e, conseqüentemente, nos projetos em andamento.

A maioria das crianças da 1ª onda realizou pelo menos uma consulta pediátrica programada nos dois primeiros anos de vida, e a perda anual de acompanhamento foi quase a mesma em ambos os períodos. A proporção de perdas dentre as crianças recrutadas entre 2012 e 2014 foi semelhante à de outro estudo de coorte conduzido na mesma região em 2008 (30,7% -35%) (GAMA et al., 2011). No entanto, as perdas foram menores (14,7%) em uma coorte pediátrica conduzida em Recife para o estudo de Dengue em crianças até dois anos de idade, provavelmente por se tratar de uma coorte de base hospitalar (BRAGA et al., 2016).

A perda de seguimento anual das crianças incluídas nas duas ondas foi semelhante, porém no período de 2015 a 2018 foi maior. A permanência das crianças na creche ao atingir a idade pré-escolar enquanto à mãe voltava ao mercado de trabalho nessa segunda onda poderia justificar essa perda. Concomitantemente, a mudança no intervalo das vistas programadas de três meses para um ano, pode ter impactado na adesão das participantes ao projeto, ao reduzir também o contato com a equipe.

### **8.1.2 Fatores que contribuíram para adesão**

A nosso ver o fator que mais contribuiu para a redução da perda no seguimento das crianças foi a consulta pediátrica, diferencial do programa da ESF que não oferece atendimento por especialistas. O total de consultas realizadas no decorrer do estudo (cerca de três mil) indica a importância dessa estratégia na adesão das participantes ao estudo.

A implantação da Unidade de Polícia Pacificadora (UPP-Manguinhos) em 2013, uma política de desenvolvimento local, inclusão social e ação contra a violência na área, beneficiando o bairro também beneficiou o estudo durante a sua vigência.

A admissão de moradores de Manguinhos na equipe de execução do projeto ajudou a minimizar os problemas de entrada e circulação pela comunidade. A disponibilidade de um carro e de motorista para trazer os participantes de suas residências para a unidade de saúde para as consultas pediátricas foi uma abordagem bem-sucedida. O uso de redes sociais como *Facebook* e *WhatsApp* em 2014 melhorou a comunicação entre a família e a equipe do projeto. Além disso, as visitas domiciliares para resgate dos participantes quando outras estratégias não obtiveram sucesso foram também fundamentais para garantir a adesão.

A vigilância ativa de doença febril aguda entre os participantes também fez diferença na adesão dos participantes, diferente de outros estudos de coorte que utiliza a vigilância passiva de casos febris (ANDERS et al., 2013; GORDON et al., 2013; KUAN et al., 2009; LIBRATY et al., 2009).

## 8.2 INCIDÊNCIA DE INFECÇÕES PELO DENV E ZIKV EM LACTENTES E CRIANÇAS

### 8.2.1 Dengue

A incidência de Dengue na coorte de Manguinhos (320 casos/1000 pessoas-ano) é superior a todas às coortes pediátricas do mundo até hoje relatadas. A incidência estimada foi mais do que dobro da maior taxa de incidência de Dengue (121,9 casos/1000 pessoas-ano) dentre os países do Sudeste Asiático (ALERA et al., 2016) e 20 vezes maior do que a taxa de incidência de Dengue na coorte de base comunitária da Nicarágua (16,1 casos/1000 pessoas-ano) (GORDON et al., 2013). A alta taxa de incidência de Dengue nesta coorte pode ser atribuída à entrada de um novo vírus (DENV-4), responsável por um grande número de casos em 2012 e 2013 no Rio de Janeiro (HERINGER et al., 2017).

Neste estudo, a maior taxa de incidência de Dengue ocorreu em lactentes no 1º ano de vida (549 casos/1000 pessoas-ano) assim como nos estudos conduzidos no Vietnã, na Tailândia e no México (CHAU et al., 2009; PENGSA et al., 2006; ROJAS et al., 2018). A diferença da incidência de Dengue no 1º ano de vida na coorte de Manguinhos e na coorte de Recife (107,6 casos/1000 pessoas-ano) (CASTANHA et al., 2017b), ambas realizadas com participantes de baixa renda e moradores de áreas desfavorecidas, demonstra a grande exposição dos bebês em áreas com alto índice de transmissão da doença, sobretudo em um período epidêmico. Na coorte de Manguinhos, a transmissão vertical também deve ser considerada, pois as mulheres eram recrutadas no terceiro trimestre de gestação e tanto os lactentes quanto as gestantes eram susceptíveis ao novo sorotipo.

A maioria dos casos de Dengue entre os lactentes e crianças de Manguinhos não apresentou os sintomas clássicos da doença como febre e exantema, corroborando com estudos anteriores (ALERA et al., 2016; CHAU et al., 2009; GORDON et al., 2013; PENGSA et al., 2006). A frequência dos casos sintomáticos clássicos nesta coorte foi de 4%. Quando considerado o total de casos, a frequência de assintomáticos foi igual a 43,4%.

Os demais apresentaram síndromes inespecíficas, com ou sem febre. É difícil a comparação dessas proporções entre os estudos, pelas diversas definições de assintomáticos e sintomáticos. O estudo de Castanha (2017), por exemplo, utiliza como definição de assintomática a ausência de síndrome febril aguda. Nesse caso, a proporção de assintomáticos e sintomáticas em Recife foi de 1:1,45; enquanto no nosso caso foi maior, de 4:1. Essa diferença pode estar relacionada ao sorotipo de DENV circulante: no Rio de Janeiro, o DENV-4 com manifestações predominantemente subclínicas e nenhum caso grave e em Recife, o DENV-3, responsável por um espectro mais sintomático da doença (HERINGER et al., 2015, 2017; OOI; GUBLER, 2011), embora ambos tenham sido em realizados em áreas hiperendêmicas de Dengue. A diferença dos desenhos de estudo pode também ter contribuído para a diversidade dos resultados: perfil mais assintomático no Rio de Janeiro (estudo de base populacional) e sintomático em Recife (estudo de base hospitalar).

Apesar de não observarmos associação de síndrome respiratória com infecção pelo DENV, o contrário também não foi observado. Ou seja, no nosso estudo, sinal respiratório não excluiu a infecção pelo DENV. Além de uma amostra maior, a identificação de patógenos respiratórios poderia auxiliar na classificação desses casos, como em outros estudos pediátricos (GORDON et al., 2015; KUAN et al., 2009).

Na população deste estudo, a presença de síndrome febril gastrointestinal não foi associada à infecção pelo DENV (OR:0,36; IC95%:0,14-0,86), diferente da definição de caso suspeito de Dengue em crianças do Ministério da Saúde. A presença de febre e exantema não foi associada a uma chance maior de infecção pelo DENV talvez pelo tamanho reduzido da amostra. Ou seja, a infecção por DENV não apresentou um padrão de manifestações clínicas, mas ao contrário, foi na maioria das vezes inespecífico e deve ser suspeitado em áreas e épocas de transmissão, independente da clínica.

### **8.2.2 Zika**

Na coorte de nascimentos de Mangueiros, calculou-se a taxa de incidência de infecção por ZIKV entre os lactentes e crianças, independente da presença de sinais e sintomas. Como a transmissão do ZIKV ocorreu em um período relativamente curto, 2015-2016, optamos por não estimar a taxa de incidência por pessoa-tempo. A taxa de infecção pelo ZIKV estimada neste estudo (9,3%) foi inferior ao da coorte pediátrica da Nicarágua (34,8%) (GORDON et al., 2019) e menor do que o esperado para uma área endêmica de Dengue, com alta densidade de *Ae. aegypti*, e com recente epidemia de Zika.

É importante ressaltar que o estudo da incidência de Zika em crianças ou adultos assintomáticos tem como desafio o diagnóstico sorológico da doença devido à reatividade imunológica cruzada entre ZIKV e DENV. Ademais, são poucos os estudos de Zika em crianças infectadas após o nascimento, sendo a maioria relatos de casos (GOODMAN, 2016; KARWOWSKI et al., 2016; LI et al., 2017; ROJAS et al., 2018). Recentemente foi demonstrado no México e na Nicarágua taxas de incidência de Zika de 4,07 casos/1000 pessoas-ano e 104 casos/1000 pessoas-ano entre as crianças com sintomas da doença (GORDON et al., 2019; ROJAS et al., 2018).

Cerca de metade (46%) dos lactentes e crianças com infecção pelo ZIKV apresentou histórico de síndrome febril, mas poucas crianças (8,2%) foram classificadas como infecções sintomáticas (com febre e/ou exantema). A possibilidade de infecção assintomática pelo ZIKV já tinha sido reportada entre adultos e crianças maiores de três anos de idade após um inquérito sorológico retrospectivo nas Ilhas de Yap onde 80% dos casos eram assintomáticos (DUFFY et al., 2009). No estudo de Duffy (2009), infecção assintomática foi definida pela ausência de sinais e sintomas ou pela ausência de sinais clássicos de Zika. Nesse caso, 91,8% das crianças e lactentes da nossa coorte seriam considerados assintomáticos.

Como a infecção aguda pelo ZIKV se restringiu a três casos com resultado positivo (PCR na urina), não foi possível analisar os sintomas associados à infecção pelo ZIKV (todas as três crianças apresentaram síndrome febril; uma associada à exantema, outra a sintoma gastrointestinal e a terceira a sintoma respiratório).

### **8.2.3 Dengue e Zika**

Se por um lado sintomas sejam difíceis de avaliar entre lactentes e crianças, por outro, os sinais de infecção respiratória foram altamente prevalentes na população de estudo, independente da infecção por DENV (44,7%) ou ZIKV (61,3%), o que está de acordo com estudos que demonstram a alta prevalência de infecções respiratórias em crianças até os cinco anos de idade (KINI et al., 2019; KRISHNAN et al., 2015; MARTINS et al., 2016).

Durante as epidemias de Dengue e Zika em 2012/2013 e 2015/2016, respectivamente, não houve aumento na incidência de febre ou de exantema entre as crianças. A baixa proporção de resultados positivos pela técnica de PCR entre os casos febris (Dengue: 4/652; Zika na urina: 3/107), pode ser atribuída ao predomínio de infecções inaparentes nesse grupo populacional. Portanto, a suspeição de Dengue e Zika entre zero e 5 anos não deve se limitar à febre e/ou exantema.

### 8.2.1 Fatores associados às infecções pelo DENV e pelo ZIKV

Na coorte de Manguinhos, houve uma distribuição homogênea em relação ao sexo entre casos e não casos de Dengue e Zika e, por isso, não se observou uma chance maior de incidência de Dengue entre os meninos como o reportado na coorte pediátrica de Recife (CASTANHA et al., 2017b); ou uma chance maior de incidência de Zika entre as meninas, de acordo com o observado em um estudo de soroprevalência de Zika entre as crianças da Nicarágua (GORDON et al., 2019; ZAMBRANA et al., 2018).

Observamos que a chance de infecção por ZIKV aumenta com a idade da criança como mostrado também em outros estudos (GORDON et al., 2019; ZAMBRANA et al., 2018), possivelmente por se deslocarem com maior frequência e portanto serem mais expostos ao ambiente.

Ao analisarmos os fatores maternos, não houve associação entre as variáveis das gestantes como situação conjugal, raça/cor e grau de escolaridade com a ocorrência de infecção pelo DENV ou ZIKV. Nesta coorte tivemos uma distribuição homogênea das crianças em relação às características das gestantes que podem ser consideradas variáveis *proxy* das condições socioeconômicas dessa população infantil (SANTOS; TEJADA; EWERLING, 2012). Assim como o observado em outro estudo (CASTANHA et al., 2017b), nem sempre o fato da mãe possuir mais escolaridade e, assim, ser relacionada a um maior esclarecimento sobre o cuidado na prevenção das arboviroses, pode minimizar os riscos de contrair Dengue ou Zika, uma vez que o ambiente de moradia da família é propício para a infecção.

Sabe-se que o abastecimento de água feito pela rede geral na região é intermitente (BARCELLOS et al., 2009), mas a presença de reservatório de água nos domicílios das crianças resultou em uma chance menor de infecção tanto pelo DENV quanto pelo ZIKV, porque as caixas d'água tinham tampa em sua maioria [OR 0,51; IC95% (0,32-0,78) e OR 0,39, IC95% (0,17-0,8)]. Além disso, o fato do participante relatar que não possui reservatório de água em casa não descarta a possibilidade de armazenamento em recipientes informais que resultam em potenciais locais de reprodução e contribuem para a infestação estável do mosquito ao longo do tempo (GIBSON et al., 2014; MACIEL-DE-FREITAS et al., 2007).

A associação demonstrada neste estudo entre terrenos com acúmulo de lixo e infecção pelo DENV ressalta que o ambiente está infestado de mosquito. Mundialmente, o controle de vetores não tem sido muito bem sucedido (HAUG; KIENY; MURGUE, 2016; MACIEL-DE-FREITAS et al., 2012). Apesar da maioria dos estudos considerarem o domicílio como o principal local de transmissão dos arbovírus, as creches/escolas e pontos estratégicos na

vizinhança (tais como ferro-velho, borracharia, oficinas mecânicas e garagens) apresentam maior risco à infestação dos vetores e não são alvos prioritários para vigilância e controle (DOS REIS et al., 2010; HONORIO, 2009).

Recentemente foi detectado *Aedes* spp infectado por ZIKV na casa de uma criança febril desta coorte assim como em um ponto estratégico na vizinhança (AYLLÓN et al., 2017), mostrando a importância da interação entre os componentes clínico-epidemiológico e entomológico na vigilância das doenças emergentes e re-emergentes.

Os casos de infecção pelo DENV e ZIKV desta coorte pediátrica foram distribuídos homogeneamente na região, apesar da grande variabilidade no risco de ser infectado por arbovírus dentro da área de Manguinhos (RODRIGUES et al., 2018).

Uma limitação da análise dos fatores associados às infecções pelo DENV ou ZIKV foi a pequena parcela dos participantes que respondeu ao questionário do domicílio. A coleta das características ambientais iniciada em 2015 teve como principal razão de baixo preenchimento do questionário a dificuldade de encontrar os domicílios das crianças após as obras do PAC, assim como a restrição à entrada no território após a desestruturação da UPP-Manguinhos.

### **8.2.2 Relação entre as infecções pelo DENV e pelo ZIKV**

Na coorte de Manguinhos observamos a associação de infecção recente pelo DENV e proteção contra a infecção pelo ZIKV (OR: 0,42; IC 95%: 0,19-0,87). Cabe lembrar que as crianças acompanhadas neste estudo viveram um período epidêmico de DENV-4 cerca de dois anos antes da introdução do ZIKV no Rio de Janeiro. A existência de proteção cruzada com o Dengue resultando em proteção contra a infecção por ZIKV demonstrada no nosso estudo corrobora os achados de estudos *in vitro* associados a modelos animais nos quais soros imunes a DENV foram capazes de neutralizar o ZIKV (ROBBIANI et al., 2017; SWANSTROM et al., 2016); e numa coorte de Salvador na qual a imunidade prévia ao DENV foi associada a uma redução de 9% no risco de infecção pelo ZIKV (RODRIGUEZ-BARRAQUER et al., 2019).

A associação entre infecção prévia de Dengue e formas mais brandas e subclínicas da infecção por ZIKV (GORDON et al., 2019; RODRIGUEZ-BARRAQUER et al., 2019) também foi relatada na literatura. Se o fenômeno do ADE (*antibody dependente enhancement*), implicado no aumento da gravidade do Dengue devido à presença de anticorpos produzidos em infecções prévias por vírus heterólogos (HALSTEAD, 1988), também se aplica ao modelo de infecção entre DENV e ZIKV não está esclarecido



(CULSHAW; MONGKOLSAPAYA; SCREATON, 2017; DEJNIRATTISAI et al., 2016; MONTOYA et al., 2018; STETTLER et al., 2016). A influência da infecção prévia de DENV sobre as manifestações clínicas das crianças infectadas pelo ZIKV não pode ser investigada na coorte de Manguinhos porque o número confirmado de infecções em fase aguda foi muito pequeno (3/528).

## 9 CONCLUSÕES

A alta taxa de incidência de Dengue, sobretudo em crianças menores de um ano de idade é consequência da epidemia de 2012-2013, quando foi introduzido o novo sorotipo, DENV-4. Com isso, em uma área hiperendêmica de Dengue, os lactentes foram os mais infectados pelo DENV, uma vez que as gestantes também eram susceptíveis ao novo sorotipo.

A baixa taxa de incidência de infecção pelo ZIKV entre os lactentes e as crianças da coorte de Manguinhos pode ser consequência da proteção conferida pela infecção recente pelo DENV na última epidemia; ou ser resultante de uma baixa circulação do vírus na comunidade. Um estudo de soroprevalência na região é necessário para estimativa da magnitude da epidemia em Manguinhos.

A suspeita clínico-epidemiológico de Dengue em lactentes e crianças não deve se restringir aos sintomas clássicos. A presença de sintomas respiratórios, mais comuns na infância, não deve afastar a hipótese de Dengue. Por outro lado, os sintomas gastrointestinais não foram associados à infecção pelo DENV na população deste estudo.

Mesmo não havendo associação entre as características das gestantes e as infecções pelos vírus Dengue e Zika deve-se considerar que o ambiente de moradia das famílias na comunidade de Manguinhos é propício à infecção.

Crianças que moravam em domicílios vizinhos a terrenos com acúmulo de lixo apresentaram uma maior chance de infecção pelo DENV; e a presença de reservatórios de água adequados (com tampas) nos domicílios foram considerados fator de proteção de Dengue e Zika.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADACHI, K. et al. Zika Virus Infections. In: **Feigin and Cherry's Textbook of Pediatric Infectious Diseases**. 8. ed. [s.l.] Elsevier, 2018. v. 2.
- ALBUQUERQUE, I. G. C. DE et al. Chikungunya virus infection: report of the first case diagnosed in Rio de Janeiro, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, n. 1, p. 128–129, 2012.
- ALERA, M. T. et al. Zika Virus Infection, Philippines, 2012. **Emerging Infectious Diseases**, v. 21, n. 4, p. 722–724, abr. 2015.
- ALERA, M. T. et al. Incidence of Dengue Virus Infection in Adults and Children in a Prospective Longitudinal Cohort in the Philippines. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 2, p. e0004337, 4 fev. 2016.
- ALVES, L. V. et al. Neurodevelopment of 24 children born in Brazil with congenital Zika syndrome in 2015: a case series study. **BMJ Open**, v. 8, n. 7, p. e021304, jul. 2018.
- ANDERS, K. L. et al. A birth cohort study of viral infections in Vietnamese infants and children: study design, methods and characteristics of the cohort. **BMC Public Health**, v. 13, n. 1, dez. 2013.
- ANDERS, K. L. et al. Epidemiology and Virology of Acute Respiratory Infections During the First Year of Life: A Birth Cohort Study in Vietnam. **The Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 34, n. 4, p. 361–370, abr. 2015a.
- ANDERS, K. L. et al. The epidemiology and aetiology of diarrhoeal disease in infancy in southern Vietnam: a birth cohort study. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 35, p. 3–10, jun. 2015b.
- ARAÚJO, V. E. M. DE et al. Aumento da carga de dengue no Brasil e unidades federadas, 2000 e 2015: análise do Global Burden of Disease Study 2015. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 20, n. suppl 1, p. 205–216, maio 2017.
- ARZUZA-ORTEGA, L. et al. Fatal Sick Cell Disease and Zika Virus Infection in Girl from Colombia. **Emerging Infectious Diseases**, v. 22, n. 5, p. 925–927, maio 2016.
- AYLLÓN, T. et al. Early Evidence for Zika Virus Circulation among *Aedes aegypti* Mosquitoes, Rio de Janeiro, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 23, n. 8, p. 1411–1412, ago. 2017.
- AYLLÓN, T. et al. Dispersion and oviposition of *Aedes albopictus* in a Brazilian slum: Initial evidence of Asian tiger mosquito domiciliation in urban environments. **PLOS ONE**, v. 13, n. 4, 23 abr. 2018.
- BARCELLOS, C. et al. Identificação de locais com potencial de transmissão de dengue em Porto Alegre através de técnicas de geoprocessamento. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, n. 3, p. 246–250, maio 2005.
- BARCELLOS, C. et al. Republicação Mudanças climáticas e ambientais e as doenças infecciosas: cenários e incertezas para o Brasil. p. 20, 2009.

- BARCELLOS, C.; ZALUAR, A. Homicídios e disputas territoriais nas favelas do Rio de Janeiro. **Revista de Saúde Pública**, v. 48, n. 1, p. 94–102, fev. 2014.
- BARROS, A. J. D. et al. Coorte de nascimentos de Pelotas, 2004: metodologia e descrição. **Revista de Saúde Pública**, v. 40, n. 3, p. 402–413, jun. 2006.
- BARROS, F. C. et al. Metodologia do estudo da coorte de nascimentos de 1982 a 2004-5, Pelotas, RS. **Revista de Saúde Pública**, v. 42, n. suppl 2, p. 7–15, dez. 2008.
- BAUD, D. et al. An update on Zika virus infection. **The Lancet**, 2017.
- BHATT, S. et al. The global distribution and burden of dengue. **Nature**, v. 496, n. 7446, p. 504–507, 25 abr. 2013.
- BRAGA, C. et al. Prospective birth cohort in a hyperendemic dengue area in Northeast Brazil: methods and preliminary results. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 32, n. 1, 2016.
- BRASIL, P. et al. Guillain-Barré syndrome associated with Zika virus infection. **The Lancet**, v. 387, n. 10026, p. 1482, abr. 2016a.
- BRASIL, P. et al. Zika Virus Outbreak in Rio de Janeiro, Brazil: Clinical Characterization, Epidemiological and Virological Aspects. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 4, 12 abr. 2016b.
- BRASIL, P. et al. Zika Virus Infection in Pregnant Women in Rio de Janeiro. **The New England journal of medicine**, v. 375, n. 24, p. 2321–2334, 15 dez. 2016c.
- BRITO, C. A. A. DE; CORDEIRO, M. T. One year after the Zika virus outbreak in Brazil: from hypotheses to evidence. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 49, n. 5, p. 537–543, out. 2016.
- CALISHER, C. H. et al. Antigenic Relationships between Flaviviruses as Determined by Cross-neutralization Tests with Polyclonal Antisera. **Journal of General Virology**, v. 70, n. 1, p. 37–43, 1 jan. 1989.
- CAMPOS, G. S.; BANDEIRA, A. C.; SARDI, S. I. Zika Virus Outbreak, Bahia, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 21, n. 10, p. 1885–1886, out. 2015.
- CAO-LORMEAU, V.-M. et al. Guillain-Barré Syndrome outbreak associated with Zika virus infection in French Polynesia: a case-control study. **The Lancet**, v. 387, n. 10027, p. 1531–1539, abr. 2016.
- CAPEDING, M. R. et al. Dengue and Other Common Causes of Acute Febrile Illness in Asia: An Active Surveillance Study in Children. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 7, p. e2331, 25 jul. 2013.
- CARVALHO, M. S. et al. **Inquérito de Saúde na Esfera Local colocando em prática**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2016.
- CASTANHA, P. M. S. et al. Placental Transfer of Dengue Virus (DENV)–Specific Antibodies and Kinetics of DENV Infection–Enhancing Activity in Brazilian Infants. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 214, n. 2, p. 265–272, 15 jul. 2016.

CASTANHA, P. M. S. et al. Incidence and risk factors for Dengue virus (DENV) infection in the first 2 years of life in a Brazilian prospective birth cohort. **Epidemiology and Infection**, v. 145, n. 14, p. 2971–2979, out. 2017a.

CASTANHA, P. M. S. et al. Incidence and risk factors for Dengue virus (DENV) infection in the first 2 years of life in a Brazilian prospective birth cohort. **Epidemiology and Infection**, v. 145, n. 14, p. 2971–2979, out. 2017b.

CDC. **Revised diagnostic testing for Zika, chikungunya, and dengue viruses in US Public Health Laboratories**, 2016. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/zika/pdfs/denvchikvzikkv-testing-algorithm.pdf>>. Acesso em: 1 abr. 2018

CDC. **Zika vírus**. Disponível em: <[https://www.cdc.gov/zika/healtheffects/birth\\_defects.html](https://www.cdc.gov/zika/healtheffects/birth_defects.html)>. Acesso em: 11 nov. 2018.

CERBINO-NETO, J. et al. Clinical Manifestations of Zika Virus Infection, Rio de Janeiro, Brazil, 2015. **Emerging Infectious Diseases**, v. 22, n. 7, p. 1318–1320, jul. 2016.

CHAU, T. N. B. et al. Dengue Virus Infections and Maternal Antibody Decay in a Prospective Birth Cohort Study of Vietnamese Infants. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 200, n. 12, p. 1893–1900, 15 dez. 2009.

CHOUIN-CARNEIRO, T. et al. Differential Susceptibilities of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* from the Americas to Zika Virus. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 3, 3 mar. 2016.

COSTA, A. I. P. DA; NATAL, D. Distribuição espacial da dengue e determinantes socioeconômicos em localidade urbana no Sudeste do Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 32, n. 3, p. 232–236, jun. 1998.

CULSHAW, A.; MONGKOLSAPAYA, J.; SCREATON, G. R. The immunopathology of dengue and Zika virus infections. **Current Opinion in Immunology**, v. 48, p. 1–6, out. 2017.

CUNHA, R. DA et al. Retrospective Study on Dengue in Fortaleza, State of Ceará, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 93, n. 2, p. 155–159, mar. 1998.

CUNHA, R. V. et al. Dengue epidemic in the State of Rio Grande do Norte, Brazil, in 1997. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 93, n. 3, p. 247–249, jun. 1999.

DE ARAÚJO, T. V. B. et al. Association between Zika virus infection and microcephaly in Brazil, January to May, 2016: preliminary report of a case-control study. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 16, n. 12, p. 1356–1363, dez. 2016.

DE OLIVEIRA, W. K. et al. Infection-related microcephaly after the 2015 and 2016 Zika virus outbreaks in Brazil: a surveillance-based analysis. **The Lancet**, v. 390, n. 10097, p. 861–870, ago. 2017.

DE SIMONE, T. S. et al. Dengue virus surveillance: the co-circulation of DENV-1, DENV-2 and DENV-3 in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 98, n. 9, p. 553–562, set. 2004.

DE SOUZA, R. V. et al. An outbreak of dengue in the State of Ceará, Brazil. **Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 90, n. 3, p. 345–346, jun. 1995.

DEJNIRATTISAI, W. et al. Dengue virus sero-cross-reactivity drives antibody-dependent enhancement of infection with Zika virus. **Nature immunology**, v. 17, n. 9, p. 1102–1108, set. 2016.

DICK, G. W. A.; KITCHEN, S. F.; HADDOW, A. J. Zika virus. I. Isolations and serological specificity. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 46, n. 5, p. 509–520, set. 1952.

DONALISIO, M. R.; FREITAS, A. R. R.; ZUBEN, A. P. B. V. Arboviruses emerging in Brazil: challenges for clinic and implications for public health. **Revista de Saúde Pública**, v. 51, n. 0, 2017.

DOS REIS, I. C. et al. Relevance of differentiating between residential and non-residential premises for surveillance and control of *Aedes aegypti* in Rio de Janeiro, Brazil. **Acta Tropica**, v. 114, n. 1, p. 37–43, abr. 2010.

DUARTE, A. C. M. **Arboviroses em uma coorte da comunidade de manguinhos-RJ: avaliação do perfil sorológico materno-infantil contra dengue e diagnóstico sorológico de Zika vírus em crianças.** [s.l: s.n.].

DUFFY, M. R. et al. Zika Virus Outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. **New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 24, p. 2536–2543, 11 jun. 2009.

DUPONT-ROUZEYROL, M. et al. Co-infection with Zika and Dengue Viruses in 2 Patients, New Caledonia, 2014. **Emerging Infectious Diseases**, v. 21, n. 2, p. 381–382, fev. 2015.

ENGSTROM, E.; FONSECA, Z.; LEIMANN, B. **A Experiência do Território Escola Manguinhos na Atenção Primária de Saúde.** Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2012.

FAUSTO, M. A. et al. O modelo de regressão linear misto para dados longitudinais: uma aplicação na análise de dados antropométricos desbalanceados. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 24, n. 3, p. 513–524, mar. 2008.

FONSECA, G. F. **Dengue no Brasil: tendências, vigilância e as epidemias de 2008.** Goiânia: Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, 2009.

FRANÇA, G. V. A. DE et al. Síndrome congênita associada à infecção pelo vírus Zika em nascidos vivos no Brasil: descrição da distribuição dos casos notificados e confirmados em 2015-2016. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 27, n. 2, jun. 2018.

GAMA, S. R. et al. Cohort study for monitoring cardiovascular risk factors in children using a primary health care service: methods and initial results. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 27, n. 3, p. 510–520, mar. 2011.

GIBSON, G. et al. Conditions of the household and peridomicile and severe dengue: a case-control study in Brazil. **Infection Ecology & Epidemiology**, v. 4, 2014.

GOODMAN, A. B. Characteristics of Children Aged <18 Years with Zika Virus Disease Acquired Postnatally — U.S. States, January 2015–July 2016. **MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 65, 2016.

- GORDON, A. et al. The Nicaraguan Pediatric Dengue Cohort Study: Incidence of Inapparent and Symptomatic Dengue Virus Infections, 2004–2010. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 9, p. e2462, 26 set. 2013.
- GORDON, A. et al. The Nicaraguan pediatric influenza cohort study: design, methods, use of technology, and compliance. **BMC Infectious Diseases**, v. 15, 9 nov. 2015.
- GORDON, A. et al. Prior dengue virus infection and risk of Zika: A pediatric cohort in Nicaragua. **PLoS Medicine**, v. 16, n. 1, 22 jan. 2019.
- GULLAND, A. Zika virus is a global public health emergency, declares WHO. **BMJ**, p. i657, 2 fev. 2016.
- GUZMAN, M. G. et al. Dengue infection. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 2, p. 16055, 18 ago. 2016.
- HADDOW, A. D. et al. Genetic Characterization of Zika Virus Strains: Geographic Expansion of the Asian Lineage. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n. 2, p. e1477, 28 fev. 2012.
- HALAI, U.-A. et al. Maternal Zika Virus Disease Severity, Virus Load, Prior Dengue Antibodies, and Their Relationship to Birth Outcomes. **Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 65, n. 6, p. 877–883, 15 set. 2017.
- HALSTEAD, S. B. Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. **Science (New York, N.Y.)**, v. 239, n. 4839, p. 476–481, 29 jan. 1988.
- HALSTEAD, S. B. Dengue virus-mosquito interactions. **Annual Review of Entomology**, v. 53, p. 273–291, 2008.
- HASAN, S. et al. Dengue virus: A global human threat: Review of literature. **Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry**, v. 6, n. 1, p. 1–6, 2016.
- HAUG, C. J.; KIENY, M. P.; MURGUE, B. The Zika Challenge. **New England Journal of Medicine**, v. 374, n. 19, p. 1801–1803, 12 maio 2016.
- HERINGER, M. et al. Impact of the emergence and re-emergence of different dengue viruses' serotypes in Rio de Janeiro, Brazil, 2010 to 2012. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 109, n. 4, p. 268–274, 1 abr. 2015.
- HERINGER, M. et al. Dengue type 4 in Rio de Janeiro, Brazil: case characterization following its introduction in an endemic region. **BMC Infectious Diseases**, v. 17, 9 jun. 2017.
- HONEIN, M. A. et al. Birth Defects Among Fetuses and Infants of US Women With Evidence of Possible Zika Virus Infection During Pregnancy. **JAMA**, v. 317, n. 1, p. 59–68, 3 jan. 2017.
- HONORIO, N. A. **Indicadores da distribuição espacial e temporal de Aedes (Stegomyia) aegypti (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) associados às variáveis climáticas, ambientais e transmissão de dengue**. Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, 2009.
- KARWOWSKI, M. P. et al. Zika Virus Disease: A CDC Update for Pediatric Health Care Providers. **PEDIATRICS**, v. 137, n. 5, p. e20160621–e20160621, 1 maio 2016.

KINI, S. et al. Prevalence of respiratory syncytial virus infection among children hospitalized with acute lower respiratory tract infections in Southern India. **World Journal of Clinical Pediatrics**, v. 8, n. 2, p. 33–42, 9 abr. 2019.

KLEBER DE OLIVEIRA, W. et al. Increase in Reported Prevalence of Microcephaly in Infants Born to Women Living in Areas with Confirmed Zika Virus Transmission During the First Trimester of Pregnancy — Brazil, 2015. **MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 65, n. 9, p. 242–247, 11 mar. 2016.

KRISHNAN, A. et al. Epidemiology of acute respiratory infections in children - preliminary results of a cohort in a rural north Indian community. **BMC Infectious Diseases**, v. 15, 26 out. 2015.

KROW-LUCAL, E. R. et al. Association and birth prevalence of microcephaly attributable to Zika virus infection among infants in Paraíba, Brazil, in 2015–16: a case-control study. **The Lancet Child & Adolescent Health**, v. 2, n. 3, p. 205–213, mar. 2018.

KUAN, G. et al. The Nicaraguan Pediatric Dengue Cohort Study: Study Design, Methods, Use of Information Technology, and Extension to Other Infectious Diseases. **American Journal of Epidemiology**, v. 170, n. 1, p. 120–129, 1 jul. 2009.

LI, J. et al. Characteristics of Zika Virus Disease in Children: Clinical, Hematological, and Virological Findings from an Outbreak in Singapore. **Clinical Infectious Diseases**, v. 64, n. 10, p. 1445–1448, 15 maio 2017.

LIBRATY, D. H. et al. A Prospective Nested Case-Control Study of Dengue in Infants: Rethinking and Refining the Antibody-Dependent Enhancement Dengue Hemorrhagic Fever Model. **PLoS Medicine**, v. 6, n. 10, 27 out. 2009.

LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. et al. The invasion of urban forest by dengue vectors in Rio de Janeiro. **Journal of Vector Ecology: Journal of the Society for Vector Ecology**, v. 29, n. 1, p. 94–100, jun. 2004.

LOWE, R. et al. The Zika Virus Epidemic in Brazil: From Discovery to Future Implications. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 15, n. 1, jan. 2018.

LWANGA, S.; LEMESHOW, S. **Sample size determination in health studies - a practical manual**. [s.l.] World Health Organization, 1991.

MACIEL-DE-FREITAS, R. et al. Variation in *Aedes aegypti*(Diptera: Culicidae) container productivity in a slum and a suburban district of Rio de Janeiro during dry and wet seasons. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 102, n. 4, p. 489–496, jun. 2007.

MACIEL-DE-FREITAS, R. et al. Why do we need alternative tools to control mosquito-borne diseases in Latin America? **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, n. 6, p. 828–829, 2012.

MACNAMARA, F. N. Zika virus : A report on three cases of human infection during an epidemic of jaundice in Nigeria. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 48, n. 2, p. 139–145, 1 mar. 1954.



MARINHO, F. et al. Microcefalia no Brasil: prevalência e caracterização dos casos a partir do Sistema de Informações sobre Nascidos Vivos (Sinasc), 2000-2015. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, n. 4, p. 701–712, out. 2016.

MARTINS, A. L. O. et al. Incidência de infecções comunitárias de vias aéreas inferiores em crianças. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 34, n. 2, p. 204–209, jun. 2016.

MARZOCHI, K. B. F. Dengue in Brazil - situation, transmission and control: a proposal for ecological control. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 89, n. 2, p. 235–245, jun. 1994.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Exames Laboratoriais - Zika**. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/zika-virus/17826-tratamento-zika>>. Acesso em: 17 out. 2018.

MONTOYA, M. et al. Longitudinal Analysis of Antibody Cross-neutralization Following Zika Virus and Dengue Virus Infection in Asia and the Americas. **The Journal of Infectious Diseases**, 2 abr. 2018.

MS. **Sistema de informação de agravos de notificação - Sinan Net 2009**. Disponível em: <<http://portalsinan.saude.gov.br/>>. Acesso em: 20 ago. 2011.

MS. **Boletim Epidemiológico Secretaria de Vigilância em Saúde** Volume 46 N° 42, , 2015a. Disponível em: <<http://portalquivos.saude.gov.br/images/pdf/2015/dezembro/11/svs-be-2015-047-dengue-se47-final.pdf>>. Acesso em: 13 out. 2017

MS. **Informe epidemiológico N° 02/2015: monitoramento de casos de microcefalia no Brasil** Ministério da Saúde, , 2015b. Disponível em: <<http://portalquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2015/novembro/30/COES-Microcefalias---Informe-Epidemiol--gico---SE-47---30nov2015.pdf>>. Acesso em: 15 nov. 2018

MS. **Dengue : diagnóstico e manejo clínico : adulto e criança**. 5. ed. Brasília, DF: [s.n.].

MS; SVS. **Sistema de Informações sobre Nascidos Vivos – SINASC – ano 2007**. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinasc/cnv/nvrj.def>>. Acesso em: 20 ago. 2011.

MS; SVS. **Sistema nacional de vigilância em saúde: relatório de situação: Rio de Janeiro / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde**. 5. ed. Brasília, DF: Ministerio da Saude, 2011.

MS; SVS. **Boletim Epidemiológico** N° 2, volume 48, , 2017. Disponível em: <[http://portalquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2017/janeiro/12/2017\\_001%20-%20Dengue%20SE51\\_publicacao.pdf](http://portalquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2017/janeiro/12/2017_001%20-%20Dengue%20SE51_publicacao.pdf)>. Acesso em: 10 nov. 2018

MULLER, D. A.; DEPELSENAIRE, A. C. I.; YOUNG, P. R. Clinical and Laboratory Diagnosis of Dengue Virus Infection. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 215, n. suppl\_2, p. S89–S95, 1 mar. 2017.

MUSSO, D.; NILLES, E. J.; CAO-LORMEAU, V.-M. Rapid spread of emerging Zika virus in the Pacific area. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 20, n. 10, p. O595–O596, out. 2014.

NISALAK, A. LABORATORY DIAGNOSIS OF DENGUE VIRUS INFECTIONS. **The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, v. 46 Suppl 1, p. 55–76, 2015.

NÓBREGA, M. E. B. DA et al. Surto de síndrome de Guillain-Barré possivelmente relacionado à infecção prévia pelo vírus Zika, Região Metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil, 2015. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 27, n. 2, jun. 2018.

NOGUEIRA, R. M. et al. Dengue epidemic in the stage of Rio de Janeiro, Brazil, 1990-1: co-circulation of dengue 1 and dengue 2 serotypes. **Epidemiology and Infection**, v. 111, n. 1, p. 163–170, ago. 1993.

NOGUEIRA, R. M.; EPPINGHAUS, A. L. Dengue virus type 4 arrives in the state of Rio de Janeiro: a challenge for epidemiological surveillance and control. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 106, n. 3, p. 255–256, 2011.

NOGUEIRA, R. M. R. et al. Isolation of dengue virus type 2 in Rio de Janeiro. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 85, n. 2, p. 253–253, jun. 1990.

NOGUEIRA, R. M. R. et al. Dengue virus type 3 in Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 96, n. 7, p. 925–926, 2001.

NOGUEIRA, R. M. R. et al. Dengue Virus Type 3, Brazil, 2002. **Emerging Infectious Diseases**, v. 11, n. 9, p. 1376–1381, set. 2005.

NOGUEIRA, R. M. R.; ARAÚJO, J. M. G. DE; SCHATZMAYR, H. G. Dengue viruses in Brazil, 1986-2006. **Revista Panamericana de Salud Publica**, v. 22, n. 5, p. 358–363, 2007.

NUNES, M. R. T. et al. Emergence and potential for spread of Chikungunya virus in Brazil. **BMC Medicine**, v. 13, n. 1, dez. 2015.

NUNES, P. C. G. et al. 30 years of fatal dengue cases in Brazil: a review. **BMC Public Health**, v. 19, 21 mar. 2019.

OEHLER, E. et al. Zika virus infection complicated by Guillain-Barré syndrome – case report, French Polynesia, December 2013. **Eurosurveillance**, v. 19, n. 9, 6 mar. 2014.

OLSON, J. G. et al. Zika virus, a cause of fever in Central Java, Indonesia. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 75, n. 3, p. 389–393, jan. 1981.

OMS (ED.). **Dengue: guidelines for diagnosis, treatment, prevention, and control**. New ed ed. Geneva: TDR : World Health Organization, 2009.

OMS. **Epidemiological Alert - Zika virus infection**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2015/2015-may-7-cha-zika-virus-epi-alert.pdf>>. Acesso em: 9 nov. 2018a.

OMS. **Epidemiological Alert - Increase of microcephaly in the northeast of Brazil**. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2015/2015-nov-17-cha-microcephaly-epi-alert.pdf>>. Acesso em: 9 nov. 2018b.

OMS. **Dengue and severe dengue**, 2016a. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/>>. Acesso em: 10 nov. 2017

OMS. **Testes de laboratório para a infecção pelo vírus Zika**, 2016b.

OMS. **Zika virus**. Disponível em: <<http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/zika-virus>>. Acesso em: 11 nov. 2018.

OOI, E. E.; GUBLER, D. J. Dengue and Dengue Hemorrhagic Fever. In: **Tropical Infectious Diseases**. 3rd. ed. Oxford: Elsevier, 2011.

OPAS. **Epidemiological Alert: Neurological syndrome, congenital malformations, and Zika virus infection. Implications for public health in the Americas**, 2015. Disponível em: <<https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2015/2015-dec-1-cha-epi-alert-zika-neuro-syndrome.pdf>>. Acesso em: 15 nov. 2018

OPAS. **Zika virus (ZIKV) Surveillance in the Americas: Laboratory detection and diagnosis**, 2016. Disponível em: <<https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2016/2015-cha-algorithm-detecting-zikv.pdf>>. Acesso em: 12 nov. 2018

OPAS. **Tool for the diagnosis and care of patients with suspected arboviral diseases.**, 2017. Disponível em: <[http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/33895/9789275119365\\_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://iris.paho.org/xmlui/bitstream/handle/123456789/33895/9789275119365_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y)>. Acesso em: 12 nov. 2018

PAIXÃO, E. S. et al. History, Epidemiology, and Clinical Manifestations of Zika: A Systematic Review. **American Journal of Public Health**, v. 106, n. 4, p. 606–612, abr. 2016.

PATTERSON, J.; SAMMON, M.; GARG, M. Dengue, Zika and Chikungunya: Emerging Arboviruses in the New World. **Western Journal of Emergency Medicine**, v. 17, n. 6, p. 671–679, nov. 2016.

PENGSA, K. et al. Dengue virus infections in the first 2 years of life and the kinetics of transplacentally transferred dengue neutralizing antibodies in thai children. **The Journal of infectious diseases**, v. 194, n. 11, p. 1570–1576, 2006.

PONE, S. M. et al. Clinical and laboratory signs associated to serious dengue disease in hospitalized children. **Jornal de Pediatria**, v. 92, n. 5, p. 464–471, set. 2016.

PONE, S. M. et al. Socio-demographic inequalities in the clinical characteristics of dengue haemorrhagic fever in the city of Rio de Janeiro, Brazil, 2007–2008. **Epidemiology and Infection**, v. 146, n. 3, p. 359–366, fev. 2018.

PORTAL GEO. **Índice de Desenvolvimento Humano Municipal (IDH), por ordem de IDH, segundo os bairros ou grupo de bairros – 2000**. Disponível em: <<http://portalgeo.rio.rj.gov.br/amdados800.asp?gtema=15>>.

PRAYITNO, A. et al. Dengue seroprevalence and force of primary infection in a representative population of urban dwelling Indonesian children. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 6, p. e0005621, 15 jun. 2017.

R CORE TEAM. **R: The R Project for Statistical Computing**. Disponível em: <<https://www.r-project.org/>>. Acesso em: 10 nov. 2019.

RABELLO, R. DOS S. **Estratégia Saúde da Família: sistema de informações e fatores associados ao cadas-tramento em inquérito de saúde em uma comunidade do Rio de**

- Janeiro.** Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca - Fundação Oswaldo Cruz, 2016.
- ROBBIANI, D. F. et al. Recurrent Potent Human Neutralizing Antibodies to Zika Virus in Brazil and Mexico. **Cell**, v. 169, n. 4, p. 597- 609.e11, 4 maio 2017.
- RODRIGUES, N. C. P. et al. Risk factors for arbovirus infections in a low-income community of Rio de Janeiro, Brazil, 2015-2016. **PLoS ONE**, v. 13, n. 6, 7 jun. 2018.
- RODRIGUEZ-BARRAQUER, I. et al. Impact of preexisting dengue immunity on Zika virus emergence in a dengue endemic region. p. 5, 2019.
- ROJAS, D. P. et al. Epidemiology of dengue and other arboviruses in a cohort of school children and their families in Yucatan, Mexico: Baseline and first year follow-up. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 11, p. e0006847, 21 nov. 2018.
- RUE, H.; MARTINO, S.; CHOPIN, N. Approximate Bayesian inference for latent Gaussian models by using integrated nested Laplace approximations. **Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Statistical Methodology)**, v. 71, n. 2, p. 319–392, 2009.
- SANTOS, A. M. A. DOS; TEJADA, C. A. O.; EWERLING, F. Os determinantes socioeconômicos do estado de saúde das crianças do Brasil rural. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 50, n. 3, p. 473–492, set. 2012.
- SASMONO, R. T. et al. Dengue virus serotype distribution based on serological evidence in pediatric urban population in Indonesia. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 6, p. e0006616, 28 jun. 2018.
- SATTERFIELD-NASH, A. et al. Health and Development at Age 19–24 Months of 19 Children Who Were Born with Microcephaly and Laboratory Evidence of Congenital Zika Virus Infection During the 2015 Zika Virus Outbreak — Brazil, 2017. **MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 66, n. 49, p. 1347–1351, 15 dez. 2017.
- SCHATZMAYR, H. G.; NOGUEIRA, R. M. R.; ROSA, A. P. A. T. DA. An outbreak of dengue virus at Rio de Janeiro - 1986. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 81, n. 2, p. 245–246, jun. 1986.
- SES. **Boletim Epidemiológico Arboviroses Nº 005/2018**, 2018. Disponível em: <<http://www.riocomsaude.rj.gov.br/Publico/MostrarArquivo.aspx?C=2z%2FxFxLiKZJhk%3D>> . Acesso em: 10 nov. 2018
- SIMMONS, C. P. et al. Maternal Antibody and Viral Factors in the Pathogenesis of Dengue Virus in Infants. **The Journal of infectious diseases**, v. 196, n. 3, p. 416–424, 1 ago. 2007.
- SIMMONS, C. P. et al. Dengue. **New England Journal of Medicine**, v. 366, n. 15, p. 1423–1432, 12 abr. 2012.
- SLAVOV, S. N. et al. Overview of Zika virus (ZIKV) infection in regards to the Brazilian epidemic. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 49, n. 5, 29 abr. 2016.
- STETTLER, K. et al. Specificity, cross-reactivity, and function of antibodies elicited by Zika virus infection. **Science (New York, N.Y.)**, v. 353, n. 6301, p. 823–826, 19 ago. 2016.

SUWANMANEE, S.; LUPLERTLOP, N. Dengue and Zika viruses: lessons learned from the similarities between these Aedes mosquito-vectored arboviruses. **Journal of Microbiology**, v. 55, n. 2, p. 81–89, fev. 2017.

SWANSTROM, J. A. et al. Dengue Virus Envelope Dimer Epitope Monoclonal Antibodies Isolated from Dengue Patients Are Protective against Zika Virus. **mBio**, v. 7, n. 4, 19 jul. 2016.

TEIXEIRA, M. DA G. et al. Epidemiologia do dengue em Salvador-Bahia, 1995-1999. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n. 3, p. 269–274, jun. 2001.

TEIXEIRA, M. G. et al. Recent Shift in Age Pattern of Dengue Hemorrhagic Fever, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 14, n. 10, p. 1663–1663, out. 2008.

TUN-LIN, W.; KAY, B. H.; BARNES, A. The Premise Condition Index: a tool for streamlining surveys of Aedes aegypti. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 53, n. 6, p. 591–594, dez. 1995.

VAN KERKHOVE, M. D. et al. Harmonisation of Zika virus research protocols to address key public health concerns. **The Lancet Global Health**, v. 4, n. 12, p. e911–e912, dez. 2016.

VARGAS, A. et al. Características dos primeiros casos de microcefalia possivelmente relacionados ao vírus Zika notificados na Região Metropolitana de Recife, Pernambuco. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, n. 4, p. 691–700, out. 2016.

VASCONCELOS, P. F. et al. A large epidemic of dengue fever with dengue hemorrhagic cases in Ceará State, Brazil, 1994. **Revista Do Instituto De Medicina Tropical De Sao Paulo**, v. 37, n. 3, p. 253–255, jun. 1995.

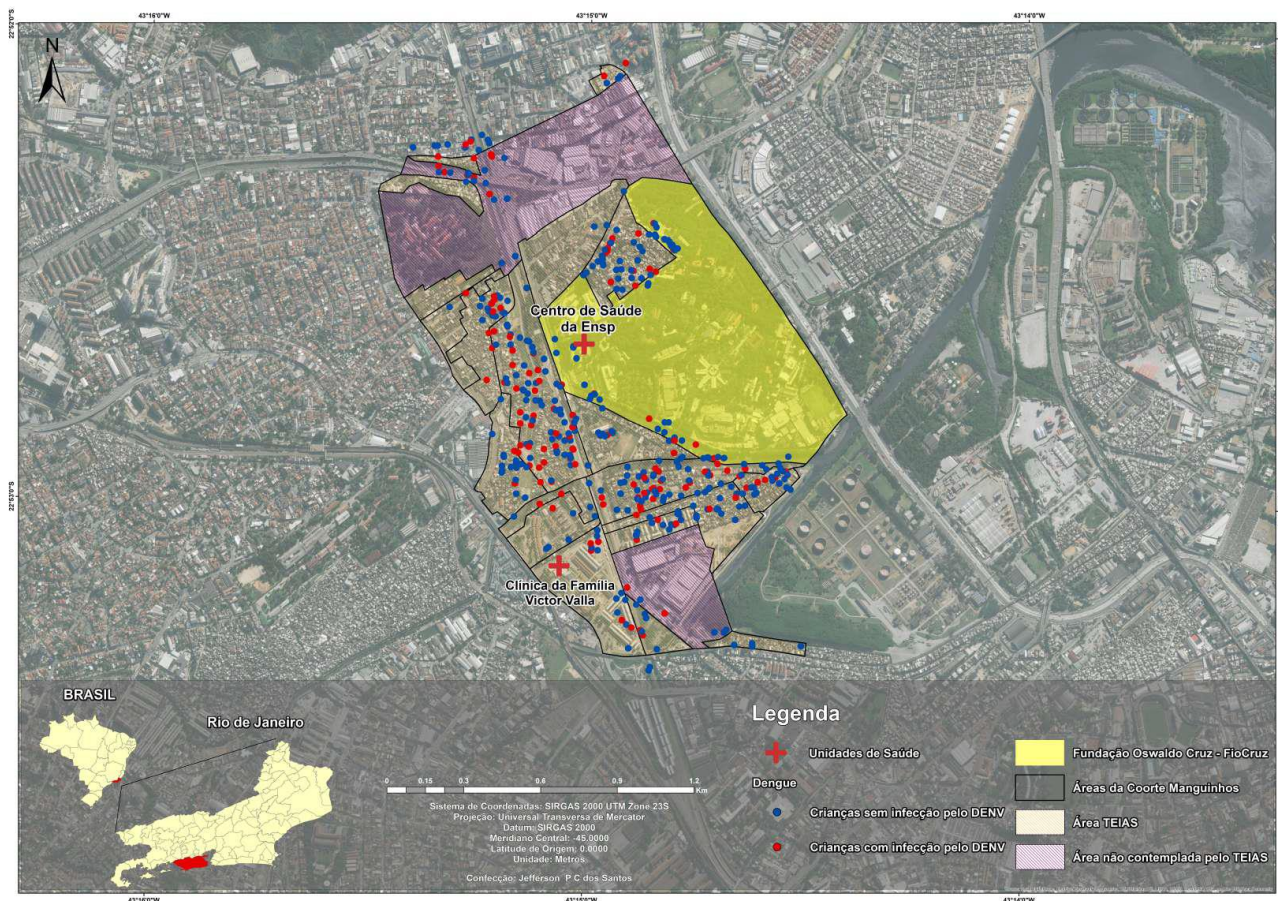
VERHAGEN, L. M.; DE GROOT, R. Dengue in children. **Journal of Infection**, v. 69, p. S77–S86, nov. 2014.

WAKIMOTO, M. D. et al. Dengue in children: a systematic review of clinical and laboratory factors associated with severity. **Expert Review of Anti-infective Therapy**, v. 13, n. 12, p. 1441–1456, 2 dez. 2015.

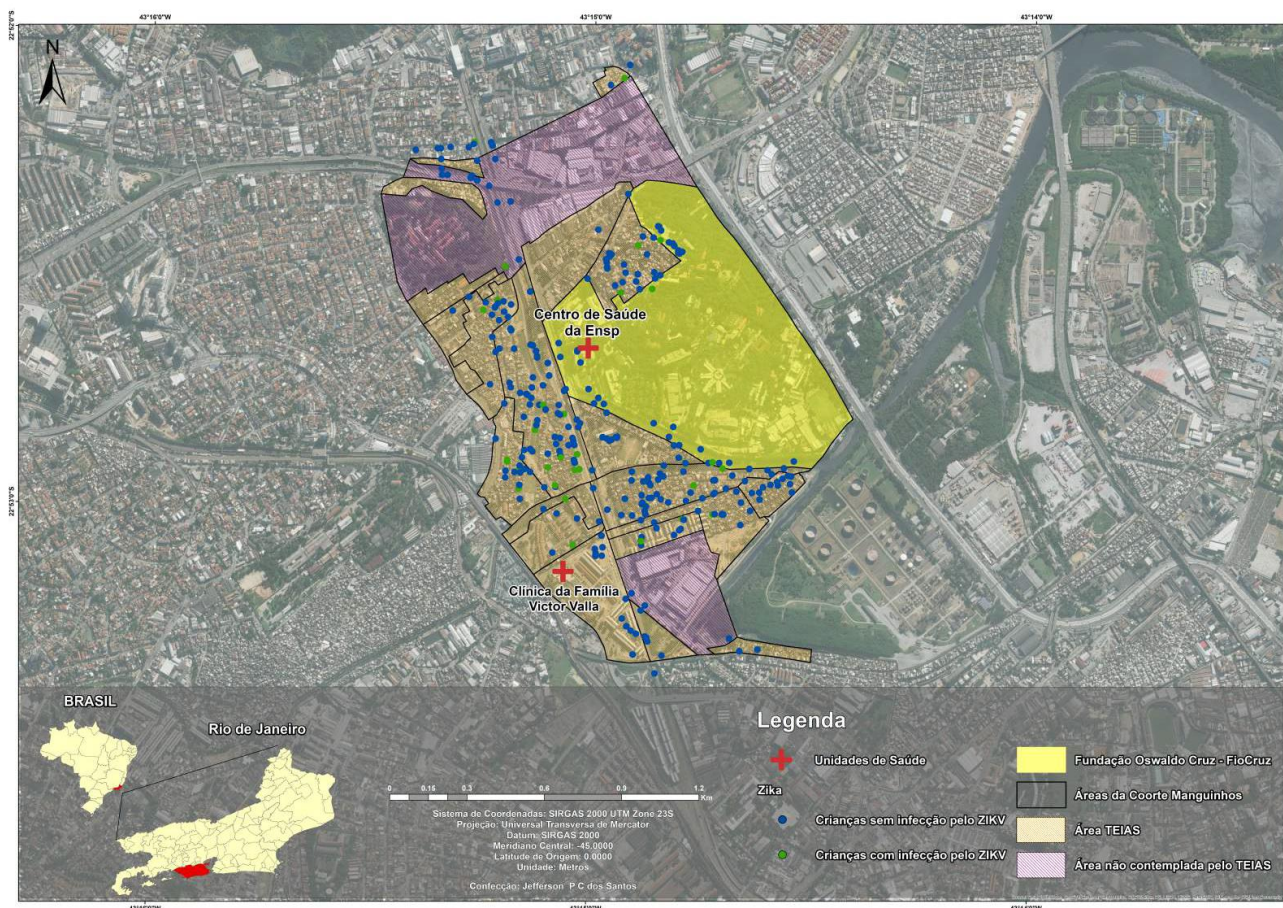
ZAMBRANA, J. V. et al. Seroprevalence, risk factor, and spatial analyses of Zika virus infection after the 2016 epidemic in Managua, Nicaragua. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 115, n. 37, p. 9294–9299, 11 set. 2018.

ZANLUCA, C. et al. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 4, p. 569–572, 9 jun. 2015.

**APÊNDICE A: Distribuição dos participantes em relação à infecção pelo vírus dengue na área do estudo, Manguinhos, 2012-2015.**



APÊNDICE B: Distribuição dos participantes em relação à infecção pelo vírus zika na área do estudo, Manguinhos, 2015-2018.



## ANEXO A: Termo de consentimento livre e esclarecido – Coorte Inicial



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz  
Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca  
Comitê de Ética em Pesquisa



### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Você está sendo convidada para participar da pesquisa **Formação de uma coorte prospectiva para o estudo do dengue em uma população infantil**. A pesquisadora responsável por este estudo é a Dra. Patrícia Brasil, chefe do Laboratório de Doenças Febris Agudas do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas.

Você foi convidada porque é mulher no terceiro trimestre de gestação (7 a 9 meses), está cadastrada e é assistida pelo serviço de pré-natal de baixo risco do TEIAS de Manguinhos e não pretende se mudar no próximo ano. Você participará do estudo até o momento do parto. Em seguida, se você permitir, o seu filho(a) permanecerá no estudo pelo período mínimo de dois anos, sendo acompanhado(a) por meio de consultas com um pediatra da equipe.

Durante este período a equipe do estudo entrará em contato com você, por telefone, ou pessoalmente para perguntar sobre sua saúde e de seu bebê, confirmar consultas ou endereço. Caso a equipe não a encontre em casa, será deixado um bilhete informando a data da consulta. Se você autorizar, o bilhete poderá ser deixado com seu vizinho(a).

A sua participação e a do seu filho não é obrigatória. A qualquer momento você pode desistir de participar e retirar o seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com o seu atendimento na instituição.

Os objetivos deste estudo são: 1. Saber se você já teve dengue em algum momento da sua vida, e se os anticorpos que você tem passaram através da placenta para o seu bebe.

2. Saber se o seu filho vai ser infectado pelo vírus da Dengue no (s) próximo(s) ano(s) de estudo. O seu filho fará parte de um grupo de crianças que serão acompanhadas para detecção da infecção pelo vírus da Dengue.

Sua participação nesta pesquisa consistirá em entrevistas e consultas médicas que serão anotadas em formulários próprios. Será coletado 10 ml do seu sangue hoje, no momento do parto e no momento em que você tiver febre, enquanto estiver grávida. Imediatamente após o parto e após o nascimento do bebê, o sangue contido no cordão será coletado, em um tubo de coleta de sangue de 5 mL para pesquisa de anticorpos contra dengue. A participação do seu filho será através da coleta de 2 ml de sangue para verificar se ele adquiriu o seu anticorpo contra a Dengue, e sempre que tiver febre, para saber se essa febre foi por causa do vírus da Dengue ou não. Serão feitas três coletas de sangue no primeiro e duas no segundo ano de vida do seu filho, mesmo se ele não tiver febre, para verificarmos se ele foi infectado pelo vírus da Dengue sem apresentar nenhum sintoma. A coleta de sangue será feita por um profissional de saúde qualificado, após a aplicação de anestésico local.

Todas as amostras de sangue coletadas, suas e de seu bebê, serão utilizadas para exames que podem indicar se você ou seu bebê tiveram dengue. Uma parte das amostras será armazenada, pelo período máximo de dez anos, no laboratório de Imunodiagnóstico do IPEC (Fiocruz) sob a responsabilidade da Dra Patrícia Brasil, utilizando-se somente suas iniciais e o número que você terá no estudo, garantindo a confidencialidade dos dados. Ao final do período de armazenamento as mesmas serão descartadas de acordo com as leis vigentes. A qualquer momento você pode retirar o consentimento da guarda e utilização deste material, sendo que neste caso ele será descartado. Se necessário, as amostras podem ser utilizadas em outros projetos de pesquisa, desde que estes projetos sejam aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa e você autorize, por meio de novo consentimento.



Os riscos relacionados com sua participação ou do seu filho(a) são mínimos, sendo relacionados a coleta de sangue (desconforto, mancha roxa), que será feita por profissional de saúde qualificado, e serão minimizados pela aplicação de anestésico local.

Os benefícios relacionados com a sua participação são os seguintes:

Você estará colaborando com um estudo científico que ajudará na prevenção dessa doença.

Você, enquanto grávida, e seu filho(a) receberão atendimento pelos médicos da Pesquisa sempre que tiverem febre. É importante que você entre em contato com a equipe do estudo em caso de febre.

As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre sua participação. Os dados não serão divulgados de forma a possibilitar sua identificação e estarão protegidos por códigos e senhas de acesso ao banco.

Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e o endereço institucional da pesquisadora principal, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento.

Pesquisadora principal: Patrícia Brasil

Av Brasil 4365, Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC)

Sala 109 subsolo do Hospital Tel: 3865-9554 ou 3965-9110.

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

- Autorizo que o meu sangue seja coletado no 3º trimestre de gravidez.
- Autorizo que o meu sangue e o sangue do cordão umbilical coletados no momento do parto sejam utilizados na pesquisa de infecção pelo vírus da Dengue.
- Autorizo a coleta de sangue do meu filho (a) quando tiver febre.
- Autorizo três coletas de sangue do meu filho (a) no primeiro ano de vida.
- Autorizo duas coletas de sangue do meu filho (a) no segundo ano de vida.
- Autorizo receber contato telefônico e visita domiciliar.
- Autorizo que nos casos de não ter ninguém na minha casa, um bilhete com a data da consulta seja entregue para o meu vizinho (a).
- Concordo que uma amostra do meu sangue e uma amostra de sangue do meu filho(a) será armazenada e qualquer utilização posterior dessas amostras necessitará de aprovação formal do pesquisador principal do estudo e de nova aprovação pelo CEP. Todas as amostras serão armazenadas no laboratório de Imunodiagnóstico do IPEC (Fiocruz) sob a responsabilidade da Dra Patrícia Brasil, utilizando-se o número do paciente no estudo e suas iniciais, para que seja garantida a confidencialidade.
- Autorizo o descarte das amostras após o período de armazenamento.

Este documento deve ser rubricado em todas as páginas pela participante e pelo membro da equipe que obteve o consentimento, e assinado em duas vias, uma para a participante e outra para o pesquisador.

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Nome do pesquisador ou membro da equipe

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador ou membro da equipe

\_\_\_\_\_  
Nome da gestante

\_\_\_\_\_  
Assinatura da gestante

\_\_\_\_\_  
Nome da mãe ou responsável

\_\_\_\_\_  
Assinatura da mãe ou responsável

## ANEXO B: Termo de consentimento livre e esclarecido – Extensão do acompanhamento da Coorte Inicial



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca

Comitê de Ética em Pesquisa




---

### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Você e seu filho participam da pesquisa **Formação de uma coorte prospectiva para o estudo do dengue em uma população infantil**. A pesquisadora responsável por este estudo é a Dra. Patrícia Brasil, chefe do Laboratório de Doenças Febris Agudas do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas.

Você participa do estudo até o momento do parto. Se você permitir, estamos convidando seu filho(a) a permanecer no estudo por mais 3 anos, ou seja, por um período de 5 anos, continuando a ser acompanhado(a) por meio de consultas com um pediatra da equipe.

Durante este período a equipe do estudo entrará em contato com você, por telefone, ou pessoalmente para perguntar sobre sua saúde e de seu bebê, confirmar consultas ou endereço. Caso a equipe não o encontre em casa, será deixado um bilhete informando a data da consulta. Se você autorizar, o bilhete poderá ser deixado com seu vizinho(a). Você também poderá se comunicar com a equipe pela página do Facebook, Coorte Dengue Manguinhos.

A sua participação e a do seu filho não é obrigatória. A qualquer momento você pode desistir de participar e retirar o seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com o seu atendimento na instituição.

Os objetivos deste estudo são: 1. Saber se você já teve dengue em algum momento da sua vida, e se os anticorpos que você tem passaram através da placenta para o seu bebê.

2. Saber se o seu filho vai ser infectado pelo vírus da Dengue no (s) próximo(s) ano(s) de estudo. O seu filho fará parte de um grupo de crianças que serão acompanhadas para detecção da infecção pelo vírus da Dengue.

A participação do seu filho será através da coleta de 2 ml de sangue para verificar se ele adquiriu o seu anticorpo contra a Dengue. Será feita uma coleta de sangue uma vez/ ano após os dois anos de idade até o quinto ano de vida do seu filho, mesmo se ele não tiver febre, para verificarmos se ele foi infectado pelo vírus da Dengue sem apresentar nenhum sintoma. A coleta de sangue será feita por um profissional de saúde qualificado, após a aplicação de anestésico local.

Todas as amostras de sangue coletadas de seu bebê serão utilizadas para exames que podem indicar se seu bebê teve dengue. Uma parte das amostras será armazenada, pelo período máximo de dez anos, no laboratório de Imunodiagnóstico do IPEC (Fiocruz) sob a responsabilidade da Dra. Patrícia Brasil, utilizando-se somente suas iniciais e o número que você terá no estudo, garantindo a confidencialidade dos dados. Ao final do período de armazenamento as mesmas serão descartadas de acordo com as leis vigentes. A qualquer momento você pode retirar o consentimento da guarda e utilização deste material, sendo que neste caso ele será descartado. Se necessário, as amostras podem ser utilizadas em outros projetos de pesquisa, desde que estes projetos sejam aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa e você autorize, por meio de novo consentimento.

Os riscos relacionados com a participação do seu filho(a) são mínimos, sendo relacionados a coleta de sangue (desconforto, mancha roxa), que será feita por profissional de saúde qualificado, e serão minimizados pela aplicação de anestésico local.

Os benefícios relacionados com a sua participação são os seguintes:

Você estará colaborando com um estudo científico que ajudará na prevenção dessa doença. Seu filho(a) receberá atendimento pelos médicos da Pesquisa sempre que tiverem febre. É importante que você entre em contato com a equipe do estudo em caso de febre.

As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre sua participação. Os dados não serão divulgados de forma a possibilitar sua identificação e estarão protegidos por códigos e senhas de acesso ao banco.

Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e o endereço institucional da pesquisadora principal, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento.

Pesquisadora principal: Patrícia Brasil

Av Brasil 4365, Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC)

Sala 109 subsolo do Hospital Tel: 3865-9554 ou 3965-9110.

Se você tiver qualquer dúvida sobre questões éticas, poderá questionar os Comitês de Ética em Pesquisa(CEP) que aprovaram este estudo:

Comitê de Ética em Pesquisa da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca- CEP da ENSP -Rua Leopoldo Bulhões, 1.480, Térreo ,Manguinhos - Rio de Janeiro - RJ Tel: 2598-2863

Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde e Defesa Civil CEP/SMSDC/RJ - Rua Afonso Cavalcanti, 455 sala 710- Cidade Nova- Rio de Janeiro - RJ Telefone: 3971-1463

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

- Autorizo uma coleta de sangue do meu filho (a) no terceiro ano de vida.
- Autorizo uma coleta de sangue do meu filho (a) no quarto ano de vida.
- Autorizo uma coleta de sangue do meu filho (a) no quinto ano de vida.
- Autorizo receber contato telefônico e visita domiciliar.
- Autorizo que nos casos de não ter ninguém na minha casa, um bilhete com a data da consulta seja entregue para o meu vizinho (a).
- Concordo que uma amostra de sangue do meu filho(a) será armazenada e qualquer utilização posterior dessas amostras necessitará de aprovação formal do pesquisador principal do estudo e de nova aprovação pelo CEP. Todas as amostras serão armazenadas no laboratório de Imunodiagnóstico do IPEC (Fiocruz) sob a responsabilidade da Dra Patrícia Brasil, utilizando-se o número do paciente no estudo e suas iniciais, para que seja garantida a confidencialidade.
- Autorizo o descarte das amostras após o período de armazenamento.

Este documento deve ser rubricado em todas as páginas pela participante e pelo membro da equipe que obteve o consentimento, e assinado em duas vias, uma para a participante e outra para o pesquisador.

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Nome do pesquisador ou membro da equipe

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador ou membro da

\_\_\_\_\_  
Nome da gestante

\_\_\_\_\_  
Assinatura da gestante

\_\_\_\_\_  
Nome da mãe ou responsável

\_\_\_\_\_  
Assinatura da mãe ou responsável

## ANEXO C: Termo de consentimento livre e esclarecido – Reabertura da Coorte



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz  
Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca  
Comitê de Ética em Pesquisa



### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Este é um convite para a pesquisa **Formação de uma coorte prospectiva para o estudo de arboviroses em uma população infantil**. A pesquisadora responsável por este estudo é a Dra. Patrícia Brasil, chefe do Laboratório de Doenças Febris Agudas do Instituto de Infectologia Evandro Chagas, da Fiocruz.

Se você permitir, estamos convidando seu filho(a) a participar de um estudo de 5 anos de duração, no qual será acompanhado(a) por meio de consultas com um pediatra da equipe.

O período do estudo vai depender de quando ele entrar no estudo:

Se ele entrou no estudo antes de 2015 ou no ano de 2015, terá cinco visitas programadas

Se entrar em 2016, terá quatro visitas programadas

Se ele entrar em 2017, terá três visitas programadas

Se ele entrar em 2018, terá duas visitas programadas

Se ele entrar em 2019, terá uma visita programada

Ele está entrando no Ano do Estudo \_\_\_\_\_, o que quer dizer que ele terá \_\_\_\_\_ Visitas

Durante este período a equipe do estudo entrará em contato com você, por telefone, ou pessoalmente para perguntar sobre sua saúde e de seu bebê, confirmar consultas ou endereço.

Caso a equipe não a encontre em casa, será deixado um bilhete informando a data da consulta.

Se você autorizar, o bilhete poderá ser deixado com seu vizinho (a). Você também poderá se comunicar com a equipe pela página do Facebook, Coorte Dengue Manguinhos.

A sua participação e a do seu filho não é obrigatória. A qualquer momento você pode desistir de participar e retirar o seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com o seu atendimento na instituição.

Os objetivos deste estudo são: 1. Saber se você já teve dengue, chikungunya ou Zika em algum momento da sua vida, e se os anticorpos que você tem passaram através da placenta para o seu bebe.

2. Saber se o seu filho vai ser infectado pelo vírus da Dengue, CHIKV ou ZIKAV no (s) próximo(s) ano(s) de estudo. O seu filho fará parte de um grupo de crianças que serão acompanhadas para detecção da infecção pelo vírus da Dengue, CHIKV ou ZIKAV.

A participação do seu filho será através da coleta de 2 ml de sangue para verificar se ele adquiriu o seu anticorpo contra a Dengue. Será feita uma coleta de sangue uma vez por ano mesmo se ele não tiver febre, para verificarmos se ele foi infectado pelo vírus da Dengue, CHIKV ou ZIKAV sem apresentar nenhum sintoma. A coleta de sangue será feita por um profissional de saúde qualificado.

Todas as amostras de sangue coletadas de seu bebê serão utilizadas para exames que podem indicar se seu bebê teve dengue. Uma parte das amostras será armazenada, pelo período máximo de dez anos, no laboratório de Imunodiagnóstico do IPEC (Fiocruz) sob a responsabilidade da Dra Patrícia Brasil, utilizando-se somente suas iniciais e o número que você terá no estudo, garantindo a confidencialidade dos dados. Ao final do período de armazenamento as mesmas serão descartadas de acordo com as leis vigentes. A qualquer momento você pode retirar o consentimento da guarda e utilização deste material, sendo que neste caso ele será descartado. Se necessário, as amostras podem ser utilizadas em outros projetos de pesquisa, desde que estes projetos sejam aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa e você autorize, por meio de novo consentimento.

Os riscos relacionados com a participação do seu filho(a) são mínimos, sendo relacionados a coleta de sangue (desconforto, mancha roxa), que será feita por profissional de saúde qualificado, e serão minimizados pela aplicação de anestésico local.

Os benefícios relacionados com a sua participação são os seguintes:

Você estará colaborando com um estudo científico que ajudará na prevenção dessas doenças.

Seu filho(a) receberá atendimento pelos médicos da pesquisa sempre que tiverem febre ou vermelhidão na pele. É importante que você entre em contato com a equipe do estudo em caso de febre.

As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre sua participação. Os dados não serão divulgados de forma a possibilitar sua identificação e estarão protegidos por códigos e senhas de acesso ao banco.

Você receberá uma via deste termo onde consta o telefone e o endereço institucional da pesquisadora principal, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento.

Pesquisadora principal: Patrícia Brasil

Av Brasil 4365, Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC) Sala 109 subsolo do Hospital  
Tel: 3865-9110.

Se você tiver qualquer dúvida sobre questões éticas, poderá questionar os Comitês de Ética em Pesquisa(CEP) que aprovaram este estudo: Comitê de Ética em Pesquisa da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca- CEP da ENSP -Rua Leopoldo Bulhões, 1.480, Térreo ,Manguinhos - Rio de Janeiro - RJ Tel: 2598-2863. Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde e Defesa Civil CEP/SMSDC/RJ - Rua Afonso Cavalcanti, 455 sala 710- Cidade Nova- Rio de Janeiro - RJ Telefone: 3971-1463

Declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

- Autorizo a coleta de sangue do meu filho (a) quando tiver febre ou vermelhidão.
- Autorizo uma coleta de sangue do meu filho (a) em 2015
- Autorizo uma coleta de sangue do meu filho (a) em 2016.
- Autorizo uma coleta de sangue do meu filho (a) em 2017.
- Autorizo uma coleta de sangue do meu filho (a) em 2018.
- Autorizo uma coleta de sangue do meu filho (a) em 2019.
- Autorizo receber contato telefônico/whatsapp, por rede social (facebook) e visita domiciliar.
- Autorizo que nos casos de não ter ninguém na minha casa, um bilhete com a data da consulta seja entregue para o meu vizinho (a).
- Concordo que uma amostra de sangue do meu filho(a) será armazenada e qualquer utilização posterior dessas amostras necessitará de aprovação formal do pesquisador principal do estudo e de nova aprovação pelo CEP. Todas as amostras serão armazenadas no laboratório de Imunodiagnóstico do IPEC (Fiocruz) sob a responsabilidade da Dra Patrícia Brasil, utilizando-se o número do paciente no estudo e suas iniciais, para que seja garantida a confidencialidade.
- Autorizo o descarte das amostras após o período de armazenamento.

Este documento deve ser rubricado em todas as páginas pela participante e pelo membro da equipe que obteve o consentimento, e assinado em duas vias, uma para a participante e outra para o pesquisador.

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Nome do pesquisador ou membro da equipe

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador ou membro da equipe

\_\_\_\_\_  
Nome da participante

\_\_\_\_\_  
Assinatura da participante

\_\_\_\_\_  
Nome do responsável legal

\_\_\_\_\_  
Assinatura do responsável legal

## ANEXO D: Questionário do domicílio

FOLHA DE IDENTIFICAÇÃO	
1. Entrevistador: _____	
2. Data: ____/____/____ Hora: ____: ____	
3. Número de registro na pesquisa <span style="float: right;">□□□</span>	
4. Foram encontrados <b>criadouros potenciais</b> no domicílio (pneus, garrafas, recipientes que acumulam água da chuva, caixas-d'água, tonéis, etc? <input type="checkbox"/>	
0. Não    1. Sim	
5. Nome do respondente: _____	
6. Sexo 0. Masculino <input type="checkbox"/> 1. Feminino	7. Idade do respondente (anos) <span style="float: right;">□□</span>
8. É o principal responsável (chefe) financeiro pelo domicílio? 0. Não    1. Sim <span style="float: right;">□</span>	
9. Endereço: _____	
10. Complemento _____	11. Comunidade _____
12. Telefone (s): _____ _____	
13. Coordenadas do GPS S <span style="float: right;">□□□□□□□□</span> W <span style="float: right;">□□□□□□□□□□</span>	
14. Assinou TCLE? 0. Não    1. Sim <span style="float: right;">□</span>	

## DADOS DOS MORADORES

<b>15. Quantas pessoas são responsáveis financeiramente pelo domicílio?</b>		<input type="text"/> <input type="text"/>
<b>16. Renda aproximada do domicílio em real (soma da renda de todos os moradores)</b> R\$ _____		
<b>17. Sexo (principal responsável pelo domicílio)</b>		
0. Masculino	1. Feminino	<input type="checkbox"/>
<b>18. Data de Nascimento do principal responsável pelo domicílio</b> ____/____/____		
<b>19. Número de moradores na casa:</b>		
Adultos acima de 18 anos		<input type="text"/> <input type="text"/>
Crianças de 2 a 18 anos		<input type="text"/> <input type="text"/>
Crianças menores de 2 anos		<input type="text"/> <input type="text"/>
<b>20. Algum morador da casa já teve diagnóstico de dengue?</b>		
0. Não		<input type="checkbox"/>
1. Sim. Especificar quem e quando: _____		
8. Não soube informar		
<b>21. Algum morador da casa teve mais de um episódio de dengue (recebeu mais de um diagnóstico em períodos distintos)?</b>		
0. Não		<input type="checkbox"/>
1. Sim. Especificar quem e quando: _____		
8. Não soube informar		
<b>22. A família recebe visita regularmente da equipe de saúde da Estratégia de Saúde da Família (ESF)?</b>		
0. Não	1. Sim	8. Não soube informar <input type="checkbox"/>
<b>23. Se sim, especificar com que frequência?</b>		
0. Mensal	2. Anual	8. Não soube informar <input type="checkbox"/>
1. Semestral	3. Outros	
<b>24. A equipe de saúde da família aborda ou já abordou alguma questão relacionada ao dengue durante as visitas domiciliares (como evitar formação de criadouros, sintomas da doença, etc) ?</b>		
0. Não	2. Frequentemente	9. Não se aplica
1. Raramente	8. Não soube informar	
Especificar que aspectos da doença são ou já foram abordados: _____ _____ _____		
<b>CARACTERÍSTICAS DO DOMICÍLIO</b>		
<b>25. Tipo de moradia</b>		

<p><b>0.</b> Casa <input type="checkbox"/></p> <p><b>1.</b> Apartamento</p> <p><b>2.</b> Casa de vila ou condomínio</p> <p><b>3.</b> Tenda/barraca</p> <p><b>4.</b> Casa de cômodos, cortiço ou cabeça de porco</p> <p><b>5.</b> Outro</p>										
<p><b>26. Há quanto tempo a família mora na casa (mesmo endereço)?</b></p> <p><input type="text"/><input type="text"/> anos      <input type="text"/><input type="text"/> meses      <i>88- Não soube informar</i></p>										
<p><b>27. Quanto de cada um destes cômodos tem nesta casa?</b></p> <p><input type="text"/><input type="text"/> Quarto (s)    <input type="text"/><input type="text"/> Sala (s)    <input type="text"/><input type="text"/> Cozinha    <input type="text"/><input type="text"/> Banheiro(s)</p>										
<p><b>28. Usa ar condicionado em casa?</b></p> <p><b>0.</b> Não <input type="checkbox"/></p> <p><b>1.</b> Sim</p>										
<p><b>29. Qual a principal forma de abastecimento de água no domicílio?</b></p> <p><b>1.</b> Ligado à rede geral      <b>3.</b> Carro pipa <input type="checkbox"/></p> <p><b>2.</b> Poço ou nascente      <b>4.</b> Rio, açude, lago</p> <p><b>3.</b> <b>5.</b> Outros. Especificar: _____</p>										
<p><b>30. Há intermitência de abastecimento de água?</b></p> <p><b>0.</b> Não    <b>8.</b> Não soube informar <input type="checkbox"/></p> <p><b>1.</b> Sim    <b>9.</b> Não se aplica</p>										
<p><b>31. Se sim, com que frequência?</b></p> <p><b>0.</b> Diária    <b>1.</b> Semanal    <b>2.</b> Quinzenal    <b>3.</b> Mensal <input type="checkbox"/></p> <p><b>4.</b> Semestral    <b>5.</b> Anual    <b>8.</b> Não soube informar    <b>9.</b> Não se aplica</p>										
<p><b>32. Quais desses reservatórios/utensílios domésticos você usa para armazenar água?</b></p> <p><b>0.</b> Não    <b>1.</b> Sim</p> <table> <tbody> <tr> <td><input type="checkbox"/> poço ou cacimba</td> <td><input type="checkbox"/> tanque</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> cisterna</td> <td><input type="checkbox"/> barril sem tampa/ mal vedado</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> caixa- d'água sem tampa/mal vedada</td> <td><input type="checkbox"/> tonel/ barril com tampa</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> caixa- d'água com tampa</td> <td><input type="checkbox"/> piscina não tratada</td> </tr> <tr> <td><input type="checkbox"/> pequenos recipientes (panelas, garrafas, frascos de vidro, jarros, etc)</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	<input type="checkbox"/> poço ou cacimba	<input type="checkbox"/> tanque	<input type="checkbox"/> cisterna	<input type="checkbox"/> barril sem tampa/ mal vedado	<input type="checkbox"/> caixa- d'água sem tampa/mal vedada	<input type="checkbox"/> tonel/ barril com tampa	<input type="checkbox"/> caixa- d'água com tampa	<input type="checkbox"/> piscina não tratada	<input type="checkbox"/> pequenos recipientes (panelas, garrafas, frascos de vidro, jarros, etc)	
<input type="checkbox"/> poço ou cacimba	<input type="checkbox"/> tanque									
<input type="checkbox"/> cisterna	<input type="checkbox"/> barril sem tampa/ mal vedado									
<input type="checkbox"/> caixa- d'água sem tampa/mal vedada	<input type="checkbox"/> tonel/ barril com tampa									
<input type="checkbox"/> caixa- d'água com tampa	<input type="checkbox"/> piscina não tratada									
<input type="checkbox"/> pequenos recipientes (panelas, garrafas, frascos de vidro, jarros, etc)										



<p><b>33. Há terreno(s) baldio(s) na vizinhança (100 metros ou 100 passos) onde se costuma ter acúmulo de lixo?</b></p> <p>1. Não</p> <p>2. Sim <input type="checkbox"/></p> <p>8. Não soube informar</p>	
<p><b>34. Quais dos estabelecimentos abaixo existem na vizinhança (aproximadamente 100 metros ou 100 passos)?</b></p> <p>0. Não      1. Sim      8. Não soube informar</p> <p><input type="checkbox"/> Ferro Velho      <input type="checkbox"/> Cemitério      <input type="checkbox"/> Centros de reciclagem</p> <p><input type="checkbox"/> Borracharia      <input type="checkbox"/> Casa abandonada/fechada</p>	
<p><b>35. Qual destes materiais predomina na construção das paredes externas deste domicílio?</b></p> <p style="text-align: right;"><input type="checkbox"/></p> <p>1. Alvenaria de tijolo/bloco com revestimento      2. Taipa não revestida</p> <p>3. Alvenaria de tijolo/bloco sem revestimento      4. Palha</p> <p>5. Madeira para construção      6. Madeira aproveitada</p> <p>7. Lata/ papelão/pedaços de madeira      8. Lona/Plástico</p> <p>9. Outro. Especificar: _____</p>	
<p><b>36. Qual destes materiais predomina na cobertura (telhado) deste domicílio?</b></p> <p style="text-align: right;"><input type="checkbox"/></p> <p>1. Telhado de barro      2. Tela de zinco/amianto (Brasilit)</p> <p>3. Madeira para construção      4. Laje de concreto</p> <p>5. Madeira aproveitada      6. Plástico/Palha</p> <p>7. Outro. Especificar: _____</p>	
<p><b>37. Tem forro no domicílio?</b> <input type="checkbox"/></p> <p>0. Não</p> <p>1. Sim</p>	
<p><b>38. Qual destes materiais predomina no forro deste domicílio?</b> <input type="checkbox"/></p> <p>1. Madeira      3. Alvenaria</p> <p>2. PVC      4. Outro: _____</p> <p>9. Não se aplica</p>	
<p><b>39. Qual destes materiais predomina no piso deste domicílio?</b> <input type="checkbox"/></p> <p>1. Cerâmica/lajota/pedra/mosaico      2. Terra batida</p> <p>3. Madeira para construção      4. Madeira aproveitada</p> <p>5. Cimento/tijolo      6. Outros: _____</p>	
<p><b>RECEPTIVIDADE DO DOMICÍLIO (ICD)</b> (preenchido pelo entrevistador)</p>	
<p><b>40. Condições internas da casa</b> <input type="checkbox"/></p> <p>0. Mal cuidado (estrutura ruim, paredes descascadas, improvisadas, itens quebrados visíveis, pouca organização e limpeza);</p>	

<p>1. Razoavelmente cuidado (estrutura ruim compensada pela boa organização e limpeza);</p> <p>2. Visivelmente bem cuidado (estrutura interna em bom estado, pintura nova, ambiente visivelmente limpo e organizado);</p>	
<p><b>41. Tem quintal ou área externa (peridomicílio)?</b></p> <p>0. Não</p> <p>1. Sim</p>	<input type="checkbox"/>
<p><b>42. Condições do quintal ou área externa (peridomicílio)</b></p> <p>1. Mal cuidado (presença de lixo/entulho, gramado crescido, pneus, garrafas, etc);</p> <p>2. Razoavelmente cuidado (estrutura ruim compensada pela boa organização e limpeza);</p> <p>3. Bem cuidado (não há lixo/entulho evidente, grama cortada, jardim bem conservado);</p> <p>9. Não se aplica</p>	<input type="checkbox"/>
<p><b>43. Condições do sombreamento do quintal ou área externa (peridomicílio)</b></p> <p>0. Pouca ou nenhuma sombra (&lt;25%), sem árvores grandes, arbustos ou algo que funcione de toldo;</p> <p>1. Alguma sombra (&gt;25% e &lt;50%);</p> <p>2. Quintal com bastante sombra (&gt;50%), com cobertura artificial, árvores grandes ou camadas de arbustos com efeito de estufa;</p>	<input type="checkbox"/>
<p><b>Anotações complementares:</b></p>	
<p><b>44. Qual o destino do lixo da sua casa?</b></p> <p>1. Recolhido por serviço de limpeza pública</p> <p>2. Queimado</p> <p>3. Jogado em terreno baldio ou equivalente</p> <p>4. Coletado em caçamba</p> <p>5. Jogado em rio ou equivalente</p> <p>6. Enterrado</p> <p>7. Outros. Especificar: _____</p>	<input type="checkbox"/>
<p><b>45. Com que periodicidade o lixo é recolhido pelo serviço público de limpeza?</b></p> <p>0. Uma vez por semana      3. Três vezes por semana      9. Não se aplica</p> <p>1. Duas vezes por semana      8. Não soube informar</p>	<input type="checkbox"/>
<p><b>46. Pavimentação. A calçada desta casa é:</b></p> <p>0. Não tem                      2. Tijolo</p> <p>1. Terra                          3. Cimentada</p> <p>4. Outros: _____</p>	<input type="checkbox"/>
<p><b>47. Pavimentação. A rua na qual esta casa se localiza é de:</b></p> <p>0. Não tem (rua na qual não seja possível transitar um veículo)</p> <p>1. Asfalto</p> <p>2. Terra                          3. Pedra/tijolo</p> <p>3. Pedra/tijolo                  4. Outro: _____</p>	<input type="checkbox"/>

## ANEXO E: Termo de consentimento livre e esclarecido – Domicílio



Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz  
Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca  
Comitê de Ética em Pesquisa



### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Referente ao Adendo: COMPONENTE ENTOMOLÓGICO DA VIGILÂNCIA ATIVA DOS CASOS FEBRIS EM ÁREA ENDÊMICA DE DENGUE NO RIO DE JANEIRO. Do Projeto: FORMAÇÃO DE UMA COORTE PROSPECTIVA PARA O ESTUDO DO DENGUE EM UMA POPULAÇÃO INFANTIL

Você está sendo convidado (a) a participar de uma etapa da pesquisa **Formação de uma coorte prospectiva para o estudo do dengue em uma população infantil**. A pesquisadora responsável por este estudo é a Dra. Patrícia Brasil, chefe do Laboratório de Doenças Febris Agudas do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas.

A pesquisadora responsável por esta etapa é a Dra. Nildimar Honório do Laboratório de Transmissores de Hematozoários do Instituto Oswaldo Cruz.

Caso você aceite, os seguintes procedimentos serão realizados no domicílio:

Aplicação de um questionário para a coleta de dados sobre a família e o domicílio. As perguntas sobre a família serão para caracterizar os participantes da pesquisa. O tempo para responder este questionário é de aproximadamente 30 minutos. Durante a visita, algumas informações sobre o domicílio serão observadas, relativas às condições estruturais e organização que servirão para caracterização do ambiente, visto que o mosquito se desenvolve em determinadas condições. Você será orientado (a) sobre como prevenir que o mosquito se desenvolva no domicílio. Todas as informações obtidas são confidenciais e a família não será identificada.

Coleta de mosquitos adultos e coleta dos ovos do mosquito dentro e ao redor da casa, com o objetivo de verificar a presença de *Aedes aegypti*, que é o mosquito que transmite o dengue no Brasil e, posteriormente, detectar o vírus dengue nos adultos capturados.

A coleta do mosquito é feita por aspiradores movidos à bateria, que é um método que captura os mosquitos que estão repousando dentro ou fora da casa. Os mosquitos serão capturados vivos, transferidos para gaiolas devidamente etiquetadas quanto ao endereço, data e local de coleta (dentro ou fora da residência) e depois levados para o Laboratório de Transmissores de Hematozoários, do Instituto Oswaldo Cruz. Todos os mosquitos serão mantidos vivos, identificados quanto à espécie, separados por sexo e, posteriormente, colocados em freezer - 70°C para posterior isolamento viral.

A coleta dos ovos é feita por armadilhas denominadas ovitrampas (que são do tamanho de um vaso pequeno de planta). Os ovos serão capturados e devidamente identificados quanto ao endereço, data e local de coleta (dentro ou fora da residência) e depois levados para o Laboratório de Transmissores de Hematozoários, do Instituto Oswaldo Cruz para contagem e identificação da espécie.

Caso alguém da família tenha sido anteriormente internado por dengue, a equipe precisará acessar o(s) prontuário(s) médico(s) relativo à esta internação. Os resultados dos exames serão fornecidos de maneira confidencial e serão utilizados para publicação científica com sigilo absoluto da identidade. Além disso, as conclusões do estudo serão encaminhadas para as autoridades públicas de saúde.

Os riscos relacionados com sua participação nesta etapa é somente relacionado ao possível desconforto de responder ao questionário, ter o domicílio aspirado e a instalação da(s) ovitrampa (s) no domicílio. Este desconforto será minimizado pelo treinamento da equipe.

Os benefícios relacionados com a sua participação são os seguintes: Você estará colaborando com um estudo científico que ajudará na prevenção dessa doença.

Você pode não concordar com qualquer um dos procedimentos descritos acima, ou mesmo retirar o consentimento já dado em qualquer momento, sem que isto prejudique o atendimento.

Você receberá uma via deste termo onde consta o telefone e o endereço institucional da pesquisadora principal, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento.

Pesquisadora principal: Patrícia Brasil

Av Brasil 4365, Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC)

Sala 109 subsolo do Hospital Tel: 3865-9110.

Pesquisadora responsável pela coleta mosquitos: Dra. Nildimar Honório

Av Brasil 4365, Laboratório de Transmissores de Hematozoários do Instituto Oswaldo Cruz

Tel (21) 2562-1309

Se você tiver qualquer dúvida sobre questões éticas, poderá questionar os Comitê de Ética em Pesquisa(CEP) que aprovou o estudo:

Comitê de Ética em Pesquisa da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca- CEP da ENSP -Rua Leopoldo Bulhões, 1.480, Térreo ,Manguinhos - Rio de Janeiro - RJ Tel: 2598-2863

Este documento deve ser rubricado em todas as páginas pelo (a) participante e pelo membro da equipe que obteve o consentimento, e assinado em duas vias, uma para o (a) participante e outra para o pesquisador.

Declaro ter recebido informações a respeito desse estudo e autorizo a equipe do projeto:

- a realizar as capturas de mosquitos adultos no domicílio.
- a instalar as ovitrampas para captura de ovos no domicílio.
- Concordo em responder ao questionário.

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Nome do pesquisador ou membro da equipe  
equipe

\_\_\_\_\_  
Assinatura do pesquisador ou membro da  
equipe

\_\_\_\_\_  
Nome do (a) participante

\_\_\_\_\_  
Assinatura do (a) participante

\_\_\_\_\_  
Nome do responsável legal

\_\_\_\_\_  
Assinatura do responsável legal

## ANEXO F: Questionário do Lactente

### FORMAÇÃO DE UMA COORTE PROSPECTIVA PARA O ESTUDO DO DENGUE EM UMA POPULAÇÃO INFANTIL

#### Questionário do Lactente

<b>1. Nº Registro na pesquisa</b> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>	Avaliação: 0 ou vínculo <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> 1 <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> 4 <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> 2 <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> 5 <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> 3 <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/>	Número do Prontuário: _____
<b>Dados de Identificação</b>		
Nome da Criança:		Data de Nasc.: <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> / <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> / <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/>
Nome da Mãe:		Idade na consulta: <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> Meses <input style="width: 20px; height: 15px;" type="text"/> Dias
O telefone é o mesmo? 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> Novos tels: 1) _____ 2) _____ 3) _____		
O endereço é o mesmo? 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>	Novo endereço: _____ Comunidade: _____	
<b>Interrogatório Sintomatológico</b>		
Data / /		
Hipoatividade	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 3. Não sabe informar <input type="checkbox"/>	
Febre (no dia da consulta)	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 3. Não sabe informar <input type="checkbox"/>	
Vômitos	1. Sim <input type="checkbox"/> Nº de episódios/24horas <input style="width: 30px;" type="text"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 3. Não sabe informar <input type="checkbox"/>	
Sonolência	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 3. Não sabe informar <input type="checkbox"/>	
Diarréia	1. Sim <input type="checkbox"/> Nº de evacuações/dia <input style="width: 30px;" type="text"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 3. Não sabe informar <input type="checkbox"/>	
Recusa alimentar	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 3. Não sabe informar <input type="checkbox"/>	
Exantema	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 3. Não sabe informar <input type="checkbox"/>	
Fezes com sangue	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 3. Não sabe informar <input type="checkbox"/>	
Choro fácil / irritação	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 3. Não sabe informar <input type="checkbox"/>	
Tosse	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 3. Não sabe informar <input type="checkbox"/>	
Coriza	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 3. Não sabe informar <input type="checkbox"/>	
Sangramento	1. Sim <input type="checkbox"/> Localizar: _____         2. Não <input type="checkbox"/> 3. Não sabe informar <input type="checkbox"/>	
Cansaço / Dispnéia	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 3. Não sabe informar <input type="checkbox"/>	
Outros:	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> Descrever: _____	
Uso de Medicamento:	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> Qual: _____	
1) Alguma vez teve febre desde que nasceu ou desde a última avaliação? 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Pós-vacina <input type="checkbox"/> 3. Não <input type="checkbox"/> <b>Se respondeu "Não", pule para a questão 4</b>		
2) Quanto tempo durou a febre? <input style="width: 20px;" type="text"/> Dias <input style="width: 20px;" type="text"/> Horas <input type="checkbox"/> Não se aplica		
3) Teve febre pela última vez há quanto tempo? <input style="width: 20px;" type="text"/> Meses <input style="width: 20px;" type="text"/> Dias <input style="width: 20px;" type="text"/> Horas		
4) Desde a última avaliação, alguém teve Dengue em casa? 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 3. Não sabe informar <input type="checkbox"/>		

Temperatura (°C)		FC: _____ bpm	FR: _____ irm
Peso (em g):		Comprimento (cm)	
Perímetro cefálico (cm)			
PA (mm Hg) 3. NA <input type="checkbox"/>			
Tempo de Preenchimento Capilar	1. Normal (< 2 segundos) <input type="checkbox"/>		2. Anormal (≥ 2 segundos) <input type="checkbox"/>
Estado Geral	1. Bom <input type="checkbox"/>		2. Regular <input type="checkbox"/> 3. Grave <input type="checkbox"/>
Palidez cutâneo-mucosa +++/4	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>		
Hidratação	1. Hidratado <input type="checkbox"/> 2. Hipohidratado <input type="checkbox"/> 3. Desidratado <input type="checkbox"/>		
Prova do Laço	1. Positiva <input type="checkbox"/> 2. Negativa <input type="checkbox"/> 3. Não realizada <input type="checkbox"/>		
Estado de consciência	1. Normal <input type="checkbox"/> 2. Sonolência/irritação <input type="checkbox"/> 3. Torpor <input type="checkbox"/>		
Alterações da Pele	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> Descrever: _____		
Petéquias	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> Localizar: _____		
Edema	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> Localizar: _____		
Exantema	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>		
Tipo de Exantema Urticariforme	1. Macular <input type="checkbox"/> 2. Maculopaular <input type="checkbox"/> 3. Papulovesicular <input type="checkbox"/> 4. Morfome <input type="checkbox"/> 5. <input type="checkbox"/>		
Icterícia	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>		
Gânglios linfáticos	1. Normal <input type="checkbox"/> 2. Hipertrofia <input type="checkbox"/> Descrever: _____		
Nariz (coriza/obstrução)	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>		
<b>Garganta</b>			
Petéquias no palato	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>		
Úlceras	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>		
Placas	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>		
Otoscopia/sinais de OMA	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 3. Não realizada <input type="checkbox"/>		
<b>Aparelho Respiratório</b>			
Inspeção			
Tiragem	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>		
BAN	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>		
Gemência	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>		
Ausculta	1. Normal <input type="checkbox"/> 2. Alterada <input type="checkbox"/> Descrever: _____		
<b>Aparelho Cardiovascular</b>			
RCT 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>	Sopro sistólico 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>	Arritmia 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>	
BNF 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>	sopro diastólico 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>		
<b>Aparelho Digestivo</b>			
Inspeção de Abdomen	1. Normal <input type="checkbox"/> 2. Alterada <input type="checkbox"/> Descrever: _____		
Hepatomegalia	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>		
Esplenomegalia	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>		
<b>Sistema Nervoso</b>			
Alterações do SN	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> Descrever: _____		
Fontanela anterior	1. Normal <input type="checkbox"/> 2. Normotensa <input type="checkbox"/> 3. Abaulada <input type="checkbox"/> 4. Deprimida <input type="checkbox"/>		
Rigidez de nuca	1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/>		

## ANEXO G: Questionário do Lactente Febril

### FORMAÇÃO DE UMA COORTE PROSPECTIVA PARA O ESTUDO DO DENGUE EM UMA POPULAÇÃO INFANTIL

#### Questionário do Lactente Febril

<b>1. Nº Registro na pesquisa</b> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/> <input style="width: 20px; height: 20px;" type="text"/>	Avaliação: 1 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> VF <input type="checkbox"/>
<b>Dados de Identificação</b>	
Nome da Criança: _____	Data de Nasc.: _____ Meses      Dias
Nome da Mãe: <input style="width: 40px;" type="text"/> <input style="width: 40px;" type="text"/>	Idade na consulta: <input style="width: 20px;" type="text"/> Meses <input style="width: 20px;" type="text"/> Dias
O telefone é o mesmo? 1. Sim      2. Não      Novos tels: 1) _____ 2) _____ 3) _____	
O endereço é o mesmo?      Novo Endereço: 1. Sim <input type="checkbox"/> Comunidade: _____ 2. Não <input type="checkbox"/>	
Início da Febre    ___/___/___      Término da Febre    ___/___/___      Aferida / Não aferida      Temp. máx. aferida: _____	
<b>Interrogatório Sintomatológico</b>	
Data    ___/___/___	
Hipoatividade	<input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não
Febre (no dia da consulta)	<input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não
Sonolência	<input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não
Choro fácil / irritação	<input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não
Vômitos	<input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não      Nº de episódios/24horas: _____
Recusa alimentar	<input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não
Diarréia	<input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não      Nº de evacuações/dia _____
Fezes com sangue	<input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não
Exantema	<input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não <input type="checkbox"/> 1. Macular <input type="checkbox"/> 2. Maculopapular <input type="checkbox"/> 3. Papulovesicular <input type="checkbox"/> 4. Morbiliforme <input type="checkbox"/> 5. Urticariforme
Tosse	<input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não
Coriza	<input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não
Sangramento	<input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não      Localizar: _____
Cansaço / Dispnéia	<input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não
Outros:	<input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não      Descrever: _____
Uso de Medicamento:	<input type="checkbox"/> 1. Sim <input type="checkbox"/> 2. Não      Qual: _____

Temperatura (°C)		FC: _____ bpm	FR: _____ irm
Peso (em g):		Comprimento (cm)	
Perímetro cefálico (cm)			
PA (mm Hg)		3. NA <input type="checkbox"/>	
Tempo de Preenchimento Capilar	1. Normal (< 2 segundos) <input type="checkbox"/>	2. Anormal (≥ 2 segundos) <input type="checkbox"/>	
Estado Geral	1. Bom <input type="checkbox"/>	2. Regular <input type="checkbox"/>	3. Grave <input type="checkbox"/>
Palidez cutâneo-mucosa +++/4	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	
Hidratação	1. Hidratado <input type="checkbox"/>	2. Hipohidratado <input type="checkbox"/>	3. Desidratado <input type="checkbox"/>
Prova do Laço	1. Positiva <input type="checkbox"/>	2. Negativa <input type="checkbox"/>	3. Não realizada <input type="checkbox"/>
Estado de consciência	1. Normal <input type="checkbox"/>	2. Sonolência/irritação <input type="checkbox"/>	3. Torpor <input type="checkbox"/>
Alterações da Pele	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	Descrever: _____
Petéquias	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	Localizar: _____
Edema	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	Localizar: _____
Exantema	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	
Tipo de Exantema Urticariforme	1. Macular <input type="checkbox"/>	2. Maculopaular <input type="checkbox"/>	3. Papulovesicular <input type="checkbox"/>
	4. Mortarmente <input type="checkbox"/>	5. <input type="checkbox"/>	
Icterícia	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	
Gânglios linfáticos	1. Normal <input type="checkbox"/>	2. Hipertrofia <input type="checkbox"/>	Descrever: _____
Nariz (coriza/obstrução)	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	
<b>Garganta</b>			
Petéquias no palato	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	
Úlceras	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	
Placas	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	
Otoscopia/sinais de OMA	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	3. Não realizada <input type="checkbox"/>
<b>Aparelho Respiratório</b>			
Inspeção			
Tiragem	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	
BAN	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	
Gemência	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	
Ausulta	1. Normal <input type="checkbox"/>	2. Alterada <input type="checkbox"/>	Descrever: _____
<b>Aparelho Cardiovascular</b>			
RCR 2T	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	Sopro sistólico 1. Sim <input type="checkbox"/>
			2. Não <input type="checkbox"/>
			Arritmia 1. Sim <input type="checkbox"/>
			2. Não <input type="checkbox"/>
BNF	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	sopro diastólico 1. Sim <input type="checkbox"/>
			2. Não <input type="checkbox"/>
<b>Aparelho Digestivo</b>			
Inspeção de Abdomen	1. Normal <input type="checkbox"/>	2. Alterada <input type="checkbox"/>	Descrever: _____
Hepatomegalia	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	
Esplenomegalia	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	
<b>Sistema Nervoso</b>			
Alterações do SN	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	Descrever: _____
Fontanela anterior	1. Normal <input type="checkbox"/>	2. Normotensa <input type="checkbox"/>	3. Abaulada <input type="checkbox"/>
			4. Deprimida <input type="checkbox"/>
Rigidez de nuca	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	



Manifestações Hemorrágicas	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	
Petéquias	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	Localizar:
Sangramento Nasal	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	
Genívorragia	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	
Evacuação com sangue	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	
Vômito em borra de café	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	
<b>Impressão diagnóstica</b>			
Infecção de vias aéreas	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	3. Ignorado <input type="checkbox"/>
OMA	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	3. Ignorado <input type="checkbox"/>
Sinusite	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	3. Ignorado <input type="checkbox"/>
Roséola	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	3. Ignorado <input type="checkbox"/>
Pneumonia /BCP	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	3. Ignorado <input type="checkbox"/>
Bronquiolite	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	3. Ignorado <input type="checkbox"/>
Meningite viral	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	3. Ignorado <input type="checkbox"/>
Meningite bacteriana	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	3. Ignorado <input type="checkbox"/>
ITU	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	3. Ignorado <input type="checkbox"/>
Dengue	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	3. Ignorado <input type="checkbox"/>
Febre com sinais localizados	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	3. Ignorado <input type="checkbox"/>
Bacteremia oculta	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	3. Ignorado <input type="checkbox"/>
Outro diagnóstico:	<input type="checkbox"/>	Descrever:	
Antibioticoterapia	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	
Data de início da antibioticoterapia	/ /		
Nome do antibiótico	Não sabe informar <input type="checkbox"/>		
<b>Exames Laboratoriais</b>			
Hemograma	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	
Data de coleta	/ /		
Hora	:		
Hematócrito (%)			
Hemoglobina (g/dL)			
Leucócitos			
Bastonetes			
Segmentados			
Linfócitos típicos			
Plaquetas			
Atipia linfocitária	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	
Granulações tóxicas	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	

Urianálise realizada	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>
Data	/ /	
Leucócitos por campo		
Nitritos		
pH		
Densidade urinária		
RX de Tórax realizado	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>
Data	/ /	
Alterações radiológicas	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/> Descrever:
Urocultura realizada	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>
Data	/ /	
Resultado:	1. Negativa <input type="checkbox"/>	2. Positiva <input type="checkbox"/> 3. NSA <input type="checkbox"/>
Isolado		

#### Diagnóstico final (1. Sim 2.Não)

Inf vias aéreas sup <input type="checkbox"/>	OMA <input type="checkbox"/>	Pneumonia/BCP <input type="checkbox"/>	Bronquiolite <input type="checkbox"/>	Meningite viral <input type="checkbox"/>
Sinusite <input type="checkbox"/>	Roséola <input type="checkbox"/>	Meningite bacteriana <input type="checkbox"/>	ITU <input type="checkbox"/>	Dengue <input type="checkbox"/>
Febre resolvida sem sinais localizados <input type="checkbox"/>	Bacteremia oculta <input type="checkbox"/>			
Outro diagnóstico <input type="checkbox"/>	Especificar:			
É caso confirmado de dengue?	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>		

#### Forma Clínica do Dengue

OMS 1997	1. Clássica <input type="checkbox"/>	2. Com complicações <input type="checkbox"/>	3. Hemorrágica <input type="checkbox"/>
	4. Síndrome do choque do dengue <input type="checkbox"/>	5. Extravasamento Plasmático <input type="checkbox"/>	
	6. Manifestação Hemorrágica <input type="checkbox"/>		
OMS 2009	1. Grave <input type="checkbox"/>	Choque <input type="checkbox"/>	Disfunção Respiratória <input type="checkbox"/>
	Hemorragia importante <input type="checkbox"/>	Disfunção Orgânica _____	
	2. Não grave <input type="checkbox"/>	Sem sinais de alerta <input type="checkbox"/>	Com sinais de alerta <input type="checkbox"/>
Se dengue hemorrágica, GRAU:	1. I <input type="checkbox"/>	2. II <input type="checkbox"/>	3. III <input type="checkbox"/> 4. IV <input type="checkbox"/>
RN/Lactente foi internado?	1. Sim <input type="checkbox"/>	2. Não <input type="checkbox"/>	3. Ignorado <input type="checkbox"/>
Data da internação	__/__/__		
Tempo de hospitalização	horas <input type="text"/>	dias <input type="text"/>	
Evolução hospitalar	1. Alta por cura <input type="checkbox"/>	2. Óbito <input type="checkbox"/>	3. Alta por transferência <input type="checkbox"/> 4. Não foi internado <input type="checkbox"/>

## ANEXO H: Questionário da Gestante

FORMAÇÃO DE UMA COORTE PROSPECTIVA PARA O ESTUDO DO DENGUE EM  
UMA POPULAÇÃO INFANTIL

### Questionário da Gestante

Nome: _____			Número do Prontuário: _____		
<b>1. Nº Registro na pesquisa</b>	<b>2. Local do Recrutamento</b> 1. Clínica da Família Vitor Valla 2. Clínica da Família CSGSF 3. Maternidade	<b>3. Data do Recrutamento</b> ____/____/____ ____	<b>4. Data provável do parto</b> ____/____/____		
<b>CARACTERIZAÇÃO DEMOGRÁFICA E SOCIOECONOMICA</b>					
<b>5. Quantos anos você completou no seu último aniversário?</b>  _____anos		<b>6. Qual a data do seu nascimento?</b>  ____/____/____			
<b>Endereço:</b>					
Logradouro: _____			Nº _____		
Comunidade: _____					
Há quanto tempo mora nesta comunidade? _____					
Telefone 1: _____ Obs Tel1 _____					
Telefone 1: _____ Obs Tel1 _____					
Telefone 1: _____ Obs Tel1 _____					
<b>7. Já teve Dengue?</b> 1. Não 2. Sim 1986                      1991- 1992 2001-2002                2007- 2008 2010-2011                2011-2012 2012-2013                2013-2014 Não se lembra 3. Não sabe informar	<b>8. Qual a data (dia/ mês/ano) da última menstruação?</b>  ____/____/____	<b>9. Idade gestacional:</b>  _____semanas	<b>10. Alguma vez tomou vacina para febre amarela?</b> 1. Sim 2. Não 3. Não sabe informar		
<b>11. Qual a sua cor/raça?</b> 1. Parda 2. Negra 3. Branca 4. Indígena 5. Oriental (amarela) 6. Ignorado	<b>12. Qual a sua situação conjugal?</b> 1. Solteira 2. União estável (mora junto) 3. Casada nocivil 4. Separada/ Divorciada 5. Viúva 6. Ignorado	<b>13. Qual foi o curso mais elevado que você concluiu?</b> 1. Alfabetização                      5. Supletivo ensino fundamental 2. 1ª a 4ª série do 1º grau        6. Superior 3. 5ª a 8ª série do 1º grau        7. Não alfabetizado 4. Ensino Médio			
		<b>14. Número de anos de estudo</b>	<table border="1" style="display: inline-table; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20px; height: 20px;"></td> <td style="width: 20px; height: 20px;"></td> </tr> </table>		

**ANEXO I: Artigo publicado**

## A populational-based birth cohort study in a low-income urban area in Rio de Janeiro, Brazil: implementation and description of the characteristics of the study

Um estudo de coorte de nascimento de base populacional em uma área urbana desfavorecida no Rio de Janeiro, Brasil: implementação e descrição das características do estudo

Estudio de una cohorte de nacimientos de base poblacional en un área urbana desfavorecida de Río de Janeiro, Brasil: implementación y descripción de las características del estudio

Renata Saraiva Pedro <sup>1</sup>  
Marília Sá Carvalho <sup>2</sup>  
Vania Reis Girianelli <sup>3</sup>  
Luana Santana Damasceno <sup>1</sup>  
Izabel Leal <sup>1</sup>  
Denise Cotrim da Cunha <sup>3</sup>  
Liège Maria Abreu de Carvalho <sup>1</sup>  
Tania Ayllón <sup>4,5</sup>  
Mayumi Duarte Wakimoto <sup>1</sup>  
Jennifer Braathen Salgueiro <sup>1</sup>  
Laith Yakob <sup>6</sup>  
Nildimar Alves Honório <sup>4,5</sup>  
Patrícia Brasil <sup>1</sup>

doi: 10.1590/0102-311X00023918

### Abstract

*A comprehensive cohort study including an entomological surveillance component can contribute to our knowledge of clinical aspects and transmission patterns of arbovirolosis. This article describes the implementation of a populational-based birth cohort study that included an entomological surveillance component, and its associated challenges in a low-income community of Rio de Janeiro, Brazil. The participants were recruited in two periods: from 2012 to 2014, and from 2015 to 2017. The children had scheduled pediatric consultations and in case of fever. Epidemiological, clinical data and biological samples were collected at pediatric visits. Active febrile surveillance was performed by telephone calls, social networking, message apps, and household visits. A total of 387 newborns and 332 new children were included during the first and second recruitment periods, respectively. By July 2017, there were 451 children on follow-up. During the study, 2,759 pediatric visits were performed: 1,783 asymptomatic and 976 febrile/rash consultations. The number of febrile or rash consultations increased 3.5-fold after the use of media tools for surveillance. No temporal pattern, seasonality or peak of febrile cases was observed during the study period. A total of 10,105 adult mosquitoes (including 3,523 Aedes spp. and 6,582 Culex quinquefasciatus) and 46,047 Aedes eggs were collected from households, schools, and key sites. Although challenging, this structured sentinel populational-based birth cohort is relevant to the knowledge of risks and awareness of emerging pathogens.*

*Arbovirus Infections; Cohort Studies; Maternal and Child Health; Vector Control*

### Correspondence

R. S. Pedro  
Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas,  
Fundação Oswaldo Cruz.  
Av. Brasil 4365, Rio de Janeiro, RJ 21040-360, Brasil.  
rensape2@gmail.com

<sup>1</sup> Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas,  
Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil.

<sup>2</sup> Programa de Computação Científica, Fundação Oswaldo  
Cruz, Rio de Janeiro, Brasil.

<sup>3</sup> Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca,  
Fundação Oswaldo Cruz, Rio De Janeiro, Brasil.

<sup>4</sup> Núcleo Operacional Sentinela de Mosquitos Vetores –  
Nosmove, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil.

<sup>5</sup> Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz,  
Rio de Janeiro, Brasil.

<sup>6</sup> Department of Disease Control, London School of  
Hygiene and Tropical Medicine, London, U.K.



## Background

Arbovirose are arthropod-borne viral diseases considered a global health problem due to their significant morbidity in humans. The invasive and urban mosquito species *Aedes aegypti* can transmit the main relevant arbovirose, such as yellow fever, dengue, Zika, and chikungunya<sup>1</sup>. Comprehensive cohort studies are needed to better understand clinical aspects, and transmission patterns of these arboviruses, particularly in places where all viruses co-circulate and might influence both the vector capacity and human immune responses.

Dengue is endemic in about 100 countries, with 3.2 million reported cases in 2015<sup>2</sup>. In Brazil, dengue is an important cause of epidemics since the 1980s, chikungunya virus (CHIKV) emerged in 2014<sup>3</sup>, and Zika virus (ZIKV) in 2015. Zika virus emergence and spread in Brazil – the congenital Zika syndrome and its consequences in neonate<sup>4,5,6,7,8</sup> – have raised major concerns.

There are few clinical and epidemiological studies about arbovirose in infants. Most published prospective dengue studies in neonates have been conducted in Southeast Asian countries<sup>9,10,11,12</sup>. In Vietnam, prevalent infectious diseases as dengue, influenza, and rotavirus were studied in a cohort of neonates<sup>12</sup>. In a pediatric cohort of Nicaragua, children were followed up until they were 14-years-old for an overall incidence of 16.1 cases of dengue/1,000 person-years. Most of the primary dengue cases occurred in children under 6-years-old<sup>13,14</sup>. In Brazil, a birth cohort study was carried out in Recife showing a cumulative incidence of dengue of 10% in infants in their first year of life<sup>15</sup>. Prospective studies including both passive and active serological surveillance are important to estimate the incidence of arbovirose and to guide control measures.

Focused efforts worldwide on mosquito vector control have not been very successful<sup>16,17</sup>. Although most studies consider the household as the main default location of arboviruses, daycare spaces for young children and neighborhood key-sites (such as junkyards, thrift stores, factories, tire repair shops and garages) should also be included in epidemiological studies. Although these sites may contribute to a significant proportion of the overall mosquito population, they are not usually priority targets for vector surveillance and control<sup>18,19</sup>.

In 2012, considering the epidemiological scenario in Brazil, the main objective of the study was to increase the knowledge about the prevalence of maternal antibodies and the kinetics of the maternal anti-DENV antibodies transplacental transference, essential to understand the dynamics of the disease incidence and to establish the optimal age for vaccination. Furthermore, we expected to contribute to the identification of asymptomatic cases and their role in disease transmission, which became even more challenging after the ZIKV emergence due to its serological cross-reactions with DENV.

This article aims to describe the implementation and characteristics of a populational-based birth cohort for the study of arbovirose integrating entomological data in a low-income urban area in Rio de Janeiro. The laboratory investigation is not within the scope of this publication.

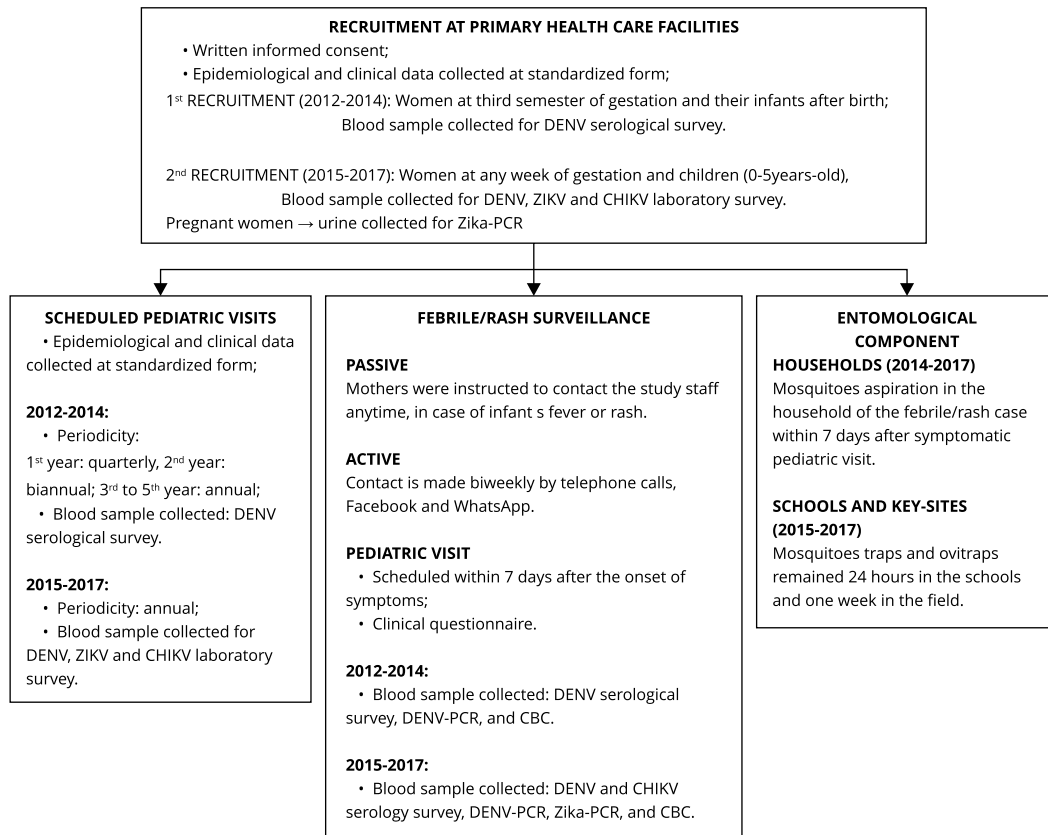
## Methods

A prospective cohort study of 0-5-year-old children resident in Manguinhos – a low-income community in Rio de Janeiro, Brazil – began in May of 2012 and is ongoing. Manguinhos, with approximately 36,000 inhabitants, had, at the beginning of the study, one of the lowest Human Development Indices of the municipality (12<sup>nd</sup> in the ranking of 126 neighborhoods)<sup>20</sup>. Primary care is delivered by two primary health-care facilities that coordinate the work of 13 family health teams<sup>21</sup>: the health center at Sergio Arouca National School of Public Health (ENSP)/Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz) and Victor Valla Family Clinic.

The initial design of this prospective populational-based birth cohort for dengue ended at the age of 2 years. In 2014, the follow-up was extended to 5-years-old, in order to study the natural history of dengue in the children in this area. In 2015, we reopened the enrollment to compensate the dropout rate and to include in the study two other arboviruses, Zika, and chikungunya, already spreading in the city (study design is summarized in Figure 1).

**Figure 1**

Study design of the arbovirolos birth cohort study in Manguinhos, Rio de Janeiro, Brazil.



CBC: complete blood count; CHIKV: chikungunya virus; DENV: dengue virus; PCR: polymerase chain reaction; ZIKV: Zika virus.

### Sample size

As there is no available data about incidence, and it varies substantially between epidemic and non-epidemic years, we estimated an incidence of 50%, conservatively, leading to a sample size higher than necessary (fixing the other variables). For the sample size calculation, a level of significance of 0.05 and a statistical power of 0.8 was set, resulting in a sample of 383 newborns<sup>22</sup>. Considering 25% of loss, we aimed to recruit 500 pregnant women. The sample size to reopen the enrollment has considered the lower incidence risk of dengue (0.08) in the two years (2013-2015) and an absolute error of 0.035. Losses of 32.5% over the same period were considered, resulting in approximately 700 children.

### Eligibility criteria and recruitment

The main eligibility criterion was to be assisted by the primary health care facilities. Newborns whose parents withdrew consent for infant participation at any time during the follow-up were excluded. Participants who moved from the study area were also excluded because they were no longer assisted by the primary health care facilities and would not represent the local incidence of arbovirolos.

- **1<sup>st</sup> recruitment: 2012-2014**

From 2012 to 2014 the eligibility criteria were women in the third trimester of pregnancy enrolled in low-risk prenatal care at the primary health care facilities. Their offspring were automatically included in the study.

A standardized form to collect epidemiological and clinical data of pregnant women's recruitment was applied. Blood samples from mothers collected at recruitment and at delivery were stored at -80°C.

- **2<sup>nd</sup> recruitment: 2015-2017**

From 2015 to 2017, the eligibility criteria were pregnant women at any gestational week. Newborns were included in the study after parental informed consent and had the same follow-up of any other children in the cohort.

Epidemiological and clinical data were registered in a similar form of the previous group (Supplementary Material 1: [http://cadernos.ensp.fiocruz.br/site/public\\_site/arquivo/suppl-e000239-18-1\\_2773.pdf](http://cadernos.ensp.fiocruz.br/site/public_site/arquivo/suppl-e000239-18-1_2773.pdf)). Blood and urine samples collected at every trimester and at delivery were stored at -80°C.

Since early 2016, children aged 0-5 years have been recruited to replace losses to follow-up.

### Follow-up

At the primary health care facilities, questionnaires were applied by nurses, the material collection was performed by specialized technicians, while physical examinations and febrile consultations were performed by pediatricians.

Newborns that were included between 2012 to 2014 had a quarterly contact in the first year, biannual in the second year, and annual in the third, fourth and fifth years of follow-up. Newborns and children included between 2015 and 2017 had annual scheduled pediatric visits or febrile/rash visits.

Clinical history, physical examination, anthropometry, and demographic data (i.e., address and phone number) of infants were collected at each contact in a standardized form (Supplementary Material 2: [http://cadernos.ensp.fiocruz.br/site/public\\_site/arquivo/suppl-e000239-18-2\\_2175.pdf](http://cadernos.ensp.fiocruz.br/site/public_site/arquivo/suppl-e000239-18-2_2175.pdf)). Blood samples were stored at -80°C.

We only considered a loss to follow-up if the child had no contact for one year. Children missing any scheduled contact were re-invited by phone, social networks, message apps or by household visits by the staff.

### Febrile/rash surveillance

Passive and active febrile/rash cases surveillance was also included in the study protocol. Mothers could contact the study staff anytime in case of an infant's fever or rash. Active surveillance of children was fortnightly by phone calls and household visits. Since 2014, the use of the most popular social network and message app (Facebook and WhatsApp) was implemented.

In case of fever or rash, a pediatric visit was scheduled within seven days of symptoms onset. The protocol included a clinical evaluation by a pediatrician and blood sample collection for complete blood count (CBC), dengue and chikungunya serological tests, reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) for dengue and Zika. Families were told to return for a consultation with the infant within 48 hours after the first febrile/rash visit for a clinical review and 14 days after the onset of symptoms for pairing serological tests. Children missing those return visits were invited to schedule it again by phone, social networks, and message apps or by home visits by the staff.

### Entomological surveillance

Mosquitoes capture was performed weekly and started in February 2014 in the households and in May 2015 in schools and key-sites in the vicinity of the fever/rash cases within seven days after the



symptomatic pediatric visit. Adult mosquitoes were collected using backpack aspirators<sup>23</sup> following febrile/rash notifications. Collections by aspiration took 15-20 minutes per site<sup>20,21,22,23,24,25</sup>. A total of 45 ovitraps – consisting of a black plastic container filled with hay infusion and a wooden paddle – were placed weekly in schools from October 2015 to May 2016 to routinely collect mosquito eggs<sup>24</sup>. Adults were carried on dry ice to the Sentinel Operational Unit for Mosquito Vectors (Nosmove/Fiocruz), where they were counted, sexed and identified according to the standard taxonomic key<sup>25</sup>. Wooden paddles were collected weekly and inspected for the presence of eggs, which were counted and hatched at 25-28°C and 80% humidity. Engorged and nonengorged females were stored in the freezer (-80°C) until tested<sup>26</sup>. All collection sites were geocoded using GPS. A structured questionnaire was developed to collect socioeconomic data of participants and environmental data of households.

### **Ethics approval and consent to participate**

Informed consent was signed by each pregnant woman and by the children's parents at the moment of recruitment and cohort extension. The study protocol was approved by the Ethics Committee of the ENSP/Fiocruz (protocol number: 1.721.793, CAAE: 13202113.1.0000.5240).

### **Data analysis and statistical procedures**

The descriptive analysis presented included the data available for the period between May 2012 and July 2017. Differences in mothers characteristics between groups of infants included and not included in the cohort follow-up were determined by Chi-square test. Statistical analysis was performed using R statistical package, version 3 (<http://www.r-project.org>)<sup>23</sup>.

## **Results**

The results presented here are the adherence of participants, children's follow-up by the number of consultations, entomological surveillance, and characteristics of the household.

Cohort enrollment and a number of participants in the follow-up is shown in Figure 2. At the beginning of the study (first recruitment), 78.4% of the eligible infants were included in the cohort follow-up. There were no statistically significant differences in the mother's age, marital status, ethnicity or years of study between groups of infants included and not included in the cohort follow-up.

Almost 17% of infants recruited were lost to follow-up in the first year of life and 17% in the second year. Most of them could not be located (unsuccessful contact or address not found) (n = 57; 47%) or had moved (n = 35; 29%) in two years.

From the second recruitment, 332 new children were included in the study. To date, 719 children were enrolled in the study with at least one blood sample collected: 451 children are on follow-up, 75 5-years-old children concluded the study, and the others were lost during the period (Figure 2). One child died because of non-infectious disease.

Cohort participants reside in different areas covered by primary health care facilities in Manguinhos (Figure 3).

Most of the mothers enrolled in the study were young, married or living with a partner and with a median level of schooling (Table 1).

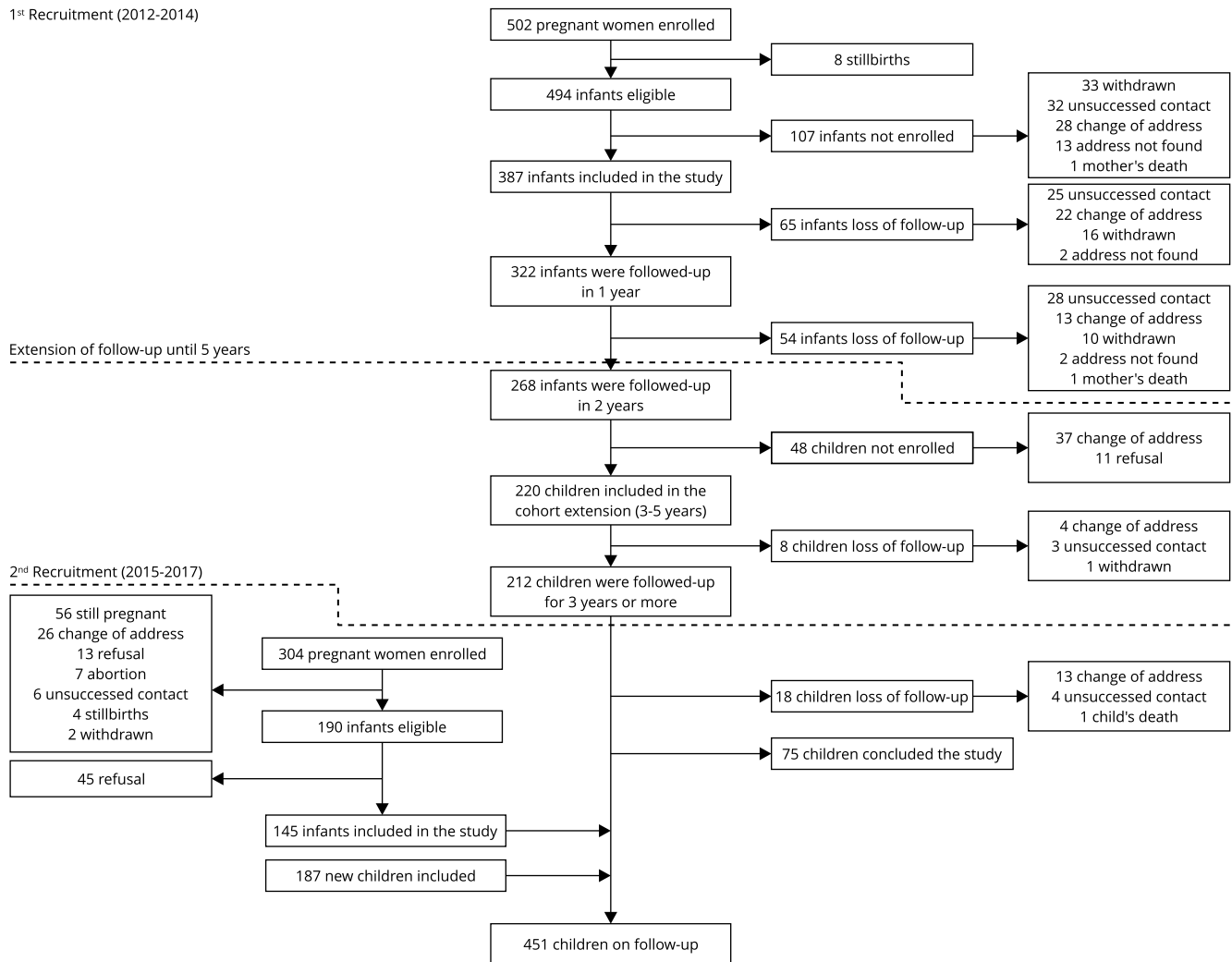
There was a similar proportion of male (48%) and female followed-up in 2,759 pediatric consultations during the study period. Among 2,181 scheduled consultations in the follow-up routine, 81.8% of children were asymptomatic. In total, there were 976 symptomatic consultations between scheduled and febrile/rash surveillance visits.

Phone calls, WhatsApp or Facebook messages were effective methods for active febrile/rash surveillance in 36.7% of cases, while household visits were successful in 48.7% of cases. Passive contacts were not registered.

At the beginning of the study, 34.4% of infants have not even had one febrile or rash consultation. After implementation of the media apps for active surveillance, this proportion decreased to 29.6%,

**Figure 2**

Flowchart of participants of the arbovirology birth cohort study in Manguinhos, Rio de Janeiro, Brazil, 2012-2017.



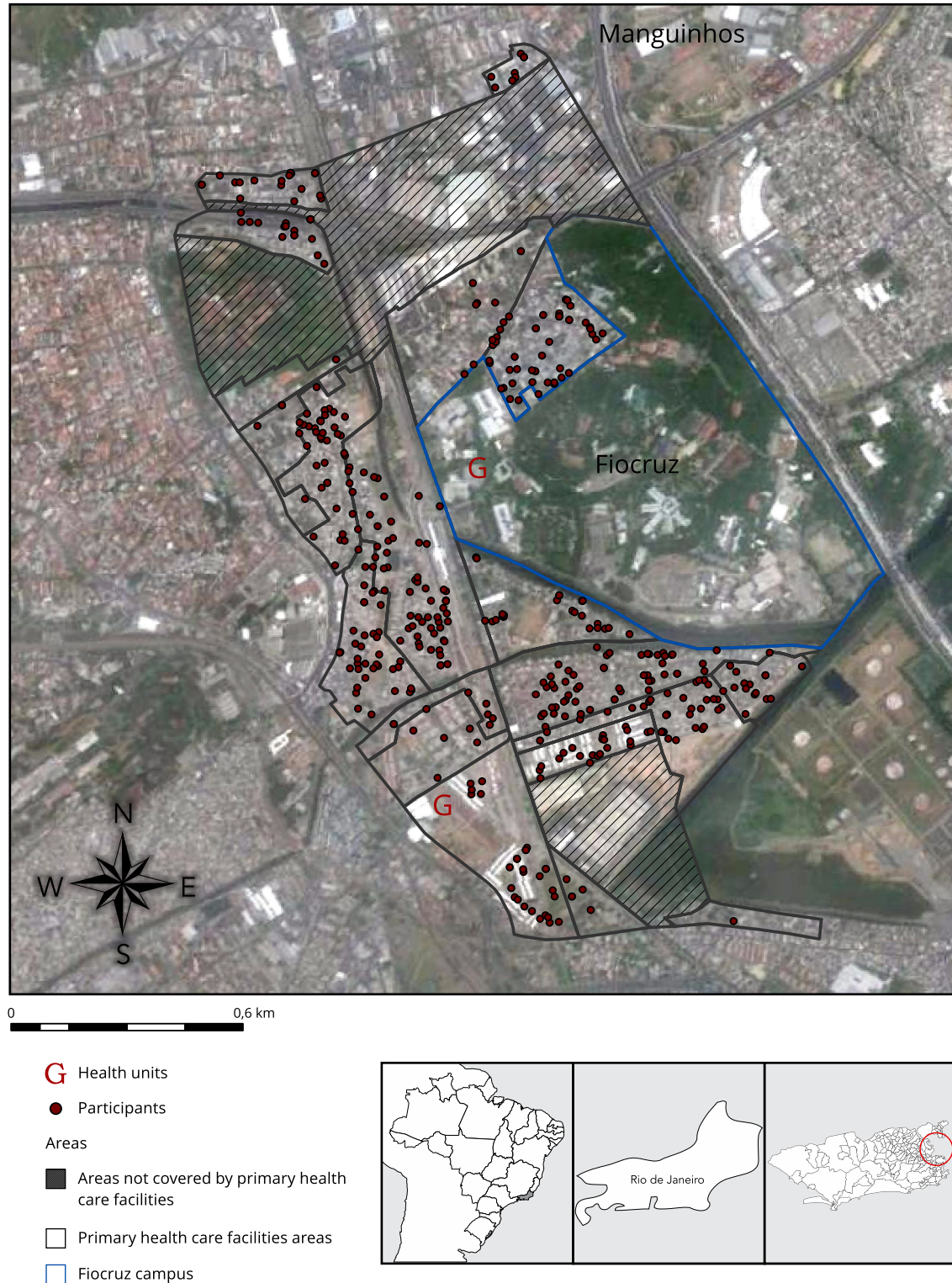
and the total number of febrile or rash consultations increased 3.5-fold. During the study period, no temporal pattern, seasonality or peak of febrile cases were observed in the graphics, depicting the small number and high fluctuation of cases (Figure 4a).

During the entomological surveillance, 277 households, 23 key-sites, and nine schools were visited for the collection of adult mosquitoes and eggs (Figures 4a and 4b). A total of 10,105 adult mosquitoes were collected, including 3,457 *Ae. aegypti*, 46 *Ae. albopictus*, 16 *Ae. scapularis*, 4 *Ae. fluviatilis* and 6,582 *Culex quinquefasciatus*. Moreover, 46,047 eggs were collected from the schools. The mean eggs/week collected per school varied between 13.2 and 233. From the total eggs collected, 12 *Ae. albopictus* and 183 *Ae. aegypti* larvae were identified (eclosion rate: 0.42%).

Several characteristics of the households presented potential breeding sites, as described in Table 2.

**Figure 3**

Geographic distribution of participants of the arbovirolos birth cohort study in Manguinhos, Rio de Janeiro, Brazil.



Fiocruz: Oswaldo Cruz Foundation.

Note: the distribution of participants in the areas covered by primary health-care facilities is shown.

**Table 1**

Characteristics of mothers enrolled in the arbovirolos cohort study in Manguinhos, Rio de Janeiro, Brazil, 2012-2017.

	2012-2014 (N = 502)	2015-2017 (N = 452)
Mean age in years [SD]	25 [6]	24 [7]
Marital status *		
Single	179 (35.7)	151 (33.6)
Living with partner or married	317 (63.1)	298 (65.9)
Separated/Divorced	3 (0.6)	2 (0.5)
Widowed	2 (0.4)	-
Ethnicity **		
Brown	322 (64.2)	215 (47.6)
Black	72 (14.3)	91 (21.2)
White	108 (21.5)	133 (29.4)
Yellow	-	5 (1.1)
Indigenous	-	2 (0.7)
Years of study ***		
≤ 9	255 (50.8)	209 (46.2)
9 to 12	231 (46.0)	231 (51.1)
> 12	15 (3.2)	12 (2.7)

Note: Number of mothers for each category is indicated, followed by percentage in parenthesis.

\* Two missing data;

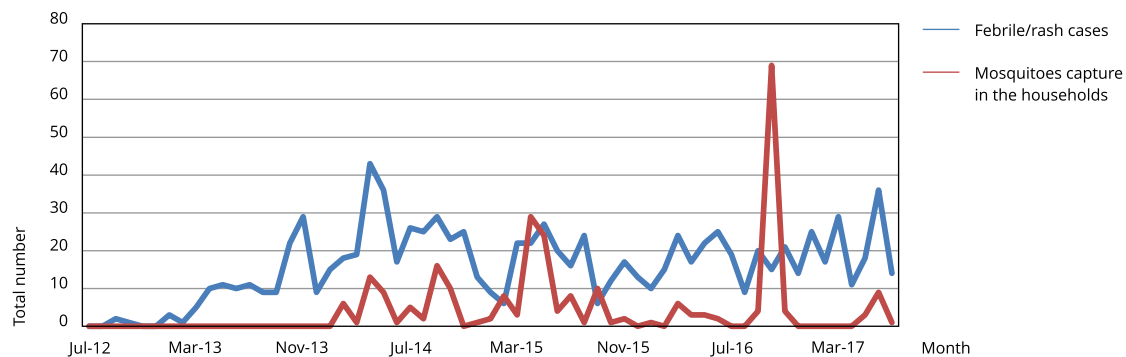
\*\* Five missing data;

\*\*\* One missing datum.

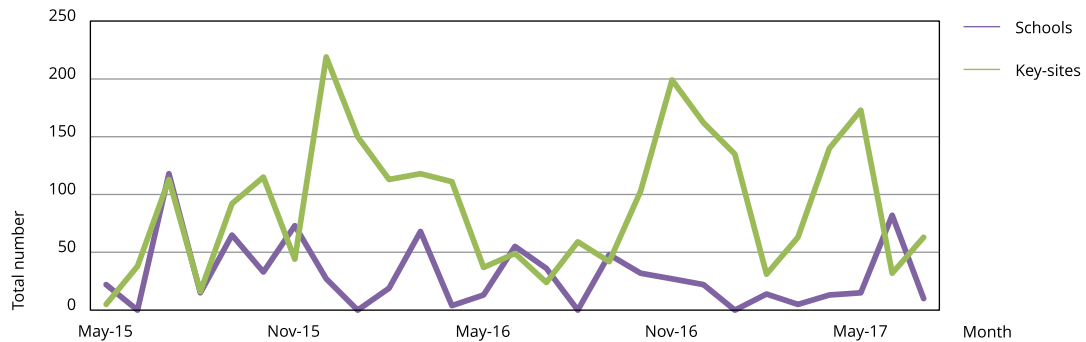
**Figure 4**

Total number of febrile/rash cases and *Aedes* spp. collected per month during the study period.

4a) Monthly febrile/rash cases and *Aedes* spp. capture in the households



(continues)

**Figure 4 (continued)**4b) Monthly *Aedes* spp. capture at schools and key-sites

Note: the number of febrile/rash cases (blue line) and mosquitoes (red line) numbers collected where febrile/rash cases were reported is shown (a). The number of adult traps and ovitraps at schools (purple line) and key-sites (green line) is shown (b). *Aedes* spp. included the species *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus*, *Ae. scapularis*, and *Ae. fluviatilis*.

**Table 2**

Characteristics of participants' households of the arbovirolos cohort study in Manguinhos, Rio de Janeiro, Brazil, 2012-2017.

	<b>N = 341</b> <b>n (%)</b>
Household water tank	181 (53.1)
Properties in the vicinity *	
Junkyard	35 (33.3)
Tire repair shops	17 (16.3)
Recycling centers	10 (9.5)
Abandoned house	43 (40.9)
Destination of household waste **	
Garbage container	194 (56.9)
Regular garbage collection	139 (40.8)

\* N = 105;

\*\* Eight missing data.

## Discussion

This study is the first birth populational-based cohort in a low-income neighborhood in Rio de Janeiro, an important hub for all arbovirolos endemic in South America. We describe the methodological aspects and the complexity of implementing a comprehensive cohort study in such areas of a large urban settlement in a middle-income country, enlightening the main obstacles and facilitators.

Participants' households were homogeneously distributed in the Manguinhos territory. The primary health care facilities was very important to improve adherence, and especially helpful in the recruitment process of pregnant women and children. The similarity of social and demographic characteristics in both phases of recruitment indicates that the criterion for eligibility was homogeneous and had not changed over time.

The pediatric care offered to the children included in the study was central to the adherence; a large number of consultations indicated the importance of this cohort. Most children had at least one scheduled pediatric visit in the first two years of life, and the annual loss of follow-up was almost the same in each year.

Concerns about newborns blood collection were the most relevant reason for the refusal of pregnant women to participate in the study, as shown in previous studies<sup>9,10,11,12,14</sup>. In addition, the frequency of dropouts in this populational-based birth cohort was directly related to the social and housing conditions of the study's territory.

Phone calls to invite children to scheduled visits were often unsuccessful due to the frequent phone number and address changes, both inside and outside the territory of Manguinhos. In 2008, the federal government implemented a housing, transportation and sanitation program (Growth Acceleration Program – PAC) in the area, resulting in a series of urban movements, partially explaining the loss of follow-up<sup>27</sup>. Moreover, urban violence related to traffic dealers and police gun conflagrations limited the movement of families and restricted the presence of the research team in the area<sup>28</sup>. In fact, the proportion of losses was similar in other cohort studies in the same region (30.7%-35%)<sup>29</sup>. However, losses were smaller (14.7%) in a hospital-based infant dengue cohort study carried out in Recife, Pernambuco State<sup>15</sup>.

The implementation of the Pacifying Police Unit (UPP-Manguinhos), a policy of local development, social inclusion and action against violence in the area, benefited the neighborhood and, consequently, the study between 2013 and 2015, when it was interrupted. The lack of regular investments in the study area impaired the maintenance of improvements in public health interventions and, hence, the ongoing projects.

During the study, we adopted some strategies to improve attendance at scheduled visits. The availability of a car ride to bring participants from their residences to the health unit for the pediatric consultations was a successful approach. The use of social networks, such as Facebook and WhatsApp in 2014, improved the communication between the family and the project team. Furthermore, we used visits by our local staff to remind participants of the scheduled visit when other strategies were not successful.

Most cohort studies have used mainly passive surveillance of suspected cases for disease monitoring<sup>11,12,13,14</sup>. In this study, although young, mothers were concerned about their children, which helped increasing adherence to the project and contributed to the surveillance of febrile children. The most effective strategy to enhance the frequency of children consultation was the household visit performed by the local field assistants.

Integration of entomological surveillance with the epidemiological populational-based cohort study was successful, resulting in relevant data. Household conditions favored the presence of *Ae. aegypti*. The presence of water reservoirs inside the households results in potential breeding sites and contributes to stable mosquito infestation over time<sup>30,31</sup>. As expected, mosquitoes collection in key-sites and daycare facilities were more effective than in the households<sup>30</sup>. In almost all households in which a febrile case dwelt, the *Aedes* spp. was collected. *Ae. albopictus*, a competent vector for important arboviruses and more commonly found in areas with higher vegetation coverage, was present in this low-income urbanized area<sup>32</sup>. Moreover, Zika virus was detected in April 2015 in engorged *Ae. aegypti* mosquitoes collected in this area<sup>26</sup>.

During the dengue and Zika epidemics in 2013/2014 and 2015/2016, respectively, there was no increase in the referred incidence of fever or rash episodes among children. Whether previous dengue infection or maternal antibodies protected them against Zika or they had asymptomatic infections is unknown. Further serological studies are needed to answer this question.

Reopening the cohort was sufficient to replace the dropouts and contributed to the incorporation in the study of another arbovirosis such as Zika and chikungunya virus infection, since 2015<sup>4,26,32</sup>. The opportunity for detecting emerging infectious diseases increases in an open cohort with time extension and constant enrollment of new participants and changing of clinical criteria inclusion, all within a flexible methodology, in contrast to regular clinical research protocols.

Our capacity to mount a rapid research response during emergency periods such as the detection and follow up of ZIKV positive pregnant women at the very beginning of the Zika epidemic was due to the existence of this ongoing cohort study<sup>4</sup>. Furthermore, although challenging, adding an ento-

mological component to the study enabled detection of ZIKV in mosquitoes before the first case of autochthonous ZIKV virus disease was diagnosed in Rio de Janeiro <sup>26</sup>.

Although the contests and facilitators discussed here are not statistically representative of the population as a whole, our results highlights the need of studies in endemicity places and, maybe, even contribute to the implementation of similar studies in these areas.

The ability to perform such a population-based cohort study relied on the willingness and enthusiasm of a multidisciplinary team, capable of keeping continuous surveillance over the years. Together, our indirect results <sup>4,26,32</sup> underscore potential contributions of this structured sentinel populational-based birth cohort, both towards the knowledge of risks and awareness of emerging pathogens.

## Contributors

R. S. Pedro conceptualized, designed and coordinated the study, wrote the original draft, assisted epidemiological and ethical advice, performed data analysis, was responsible for writing, reviewing, and editing the manuscript; read and approved the final manuscript. M. S. Carvalho conceptualized and designed the study, assisted epidemiological advice, supervised data analysis, and was responsible for writing, reviewing, and editing the manuscript; read and approved the final manuscript. V. R. Girianelli assisted epidemiological advice and was responsible for writing, reviewing, and editing the manuscript; read and approved the final manuscript. M. D. Wakimoto assisted epidemiological advice and was responsible for writing, reviewing, and editing the manuscript; read and approved the final manuscript. T. Ayllón performed laboratory experiments of the entomological component, and was responsible for writing, reviewing, and editing the manuscript; read and approved the final manuscript. L. M. A. Carvalho, D. C. Cunha and I. Leal carried out the pediatric consultations and collected data and biological samples; read and approved the final manuscript. L. S. Damasceno coordinated the study, read and approved the final manuscript. J. B. Salgueiro assisted ethical advice, read and approved the final manuscript. L. Yakob responsible for writing, reviewing, and editing the manuscript; read and approved the final manuscript. N. A. Honório conceptualized, designed and coordinated the entomological component of the study; was responsible for writing, reviewing, and editing the manuscript, read and approved the final manuscript. P. Brasil conceptualized, designed, coordinated and collected resources for the study; was responsible for writing, reviewing, and editing the manuscript, read and approved the final manuscript.

## Additional informations

ORCID: Renata Saraiva Pedro (0000-0002-2169-035X); Marília Sá Carvalho (0000-0002-9566-0284); Vania Reis Girianelli (0000-0002-8690-9893); Mayumi Duarte Wakimoto (0000-0001-9380-3387); Tania Ayllón (0000-0002-1195-5078); Liège Maria Abreu de Carvalho (0000-0002-9657-1232); Denise Cotrim da Cunha (0000-0003-1602-5504); Izabel Leal (0000-0002-0013-0126); Luana Santana Damasceno (0000-0003-1724-598X); Jennifer Braathen Salgueiro (0000-0001-9142-3735); Laith Yakob (0000-0001-8639-4511); Nildimar Alves Honório (0000-0002-2535-3844); Patrícia Brasil (0000-0001-9555-7976).

## Acknowledgments

We thank the families who participated in the study and the directors of the health center at Sergio Arouca National School of Public Health, Oswaldo Cruz Foundation, and Victor Valla Family Clinic for the provided facilities. We are also grateful to our field team for the commitment throughout the study and Mônica A. F. M. Magalhães for the georeferencing support. R. S. Pedro is supported by a doctoral fellowship from Graduate Studies Coordinating Board (Capes) and T. Ayllón by a post-doctoral fellowship Brazilian National Research Council (CNPq). The study received financial support from the CNPq and the London School of Hygiene & Tropical Medicine.

## References

1. Donalisio MR, Freitas ARR, Zuben APBV. Arboviruses emerging in Brazil: challenges for clinic and implications for public health. *Rev Saúde Pública* 2017; 51:30.
2. World Health Organization. Dengue and severe dengue. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs117/en/> (accessed on 10/Nov/2017).
3. Nunes MRT, Faria NR, de Vasconcelos JM, Golding N, Kraemer MU, de Oliveira LF, et al. Emergence and potential for spread of chikungunya virus in Brazil. *BMC Med* 2015; 13:102.
4. Brasil P, Pereira JP, Moreira ME, Nogueira RMR, Damasceno L, Wakimoto M, et al. Zika virus infection in pregnant women in Rio de Janeiro. *N Engl J Med* 2016; 375:2321-34.
5. Campos GS, Bandeira AC, Sardi SI. Zika virus outbreak, Bahia, Brazil. *Emerg Infect Dis* 2015; 21:1885-6.
6. Lowe R, Barcellos C, Brasil P, Cruz OG, Honório NA, Kuper H, et al. The Zika virus epidemic in Brazil: from discovery to future implications. *Int J Environ Res Public Health* 2018; 15. pii:E96.
7. França GVA, Pedi VD, Garcia MHO, Carmo GMI, Leal MB, Garcia LP. Síndrome congênita associada à infecção pelo vírus Zika em nascidos vivos no Brasil: descrição da distribuição dos casos notificados e confirmados em 2015-2016. *Epidemiol Serv Saúde* 2018; 27:e2017473.
8. Alves LV, Paredes CE, Silva GC, Mello JG, Alves JG. Neurodevelopment of 24 children born in Brazil with congenital Zika syndrome in 2015: a case series study. *BMJ Open* 2018; 8:e021304.
9. Pengsaa K, Luxemburger C, Sabchareon A, Limkittikul K, Yoksan S, Chambonneau L, et al. Dengue virus infections in the first 2 years of life and the kinetics of transplacentally transferred dengue neutralizing antibodies in Thai children. *J Infect Dis* 2006; 194:1570-6.
10. Chau TNB, Hieu NT, Anders KL, Wolbers M, Le Bich L, Lu Thi Minh H, et al. Dengue virus infections and maternal antibody decay in a prospective birth cohort study of Vietnamese infants. *J Infect Dis* 2009; 200:1893-900.
11. Libraty DH, Acosta LP, Tallo V, Segubre-Mercado E, Bautista A, Potts JA, et al. A prospective nested case-control study of dengue in infants: rethinking and refining the antibody-dependent enhancement dengue hemorrhagic fever model. *PLoS Med* 2009; 6:e1000171.
12. Anders KL, Nguyen NM, Van Thuy NT, Hieu NT, Nguyen HL, Hong Tham NT, et al. A birth cohort study of viral infections in Vietnamese infants and children: study design, methods and characteristics of the cohort. *BMC Public Health* 2013; 13:937.
13. Gordon A, Kuan G, Mercado JC, Gresh L, Avilés W, Balmaseda A, et al. The Nicaraguan pediatric dengue cohort study: incidence of inapparent and symptomatic dengue virus infections, 2004-2010. *PLoS Negl Trop Dis* 2013; 7:e2462.
14. Kuan G, Gordon A, Avilés W, Ortega O, Hammond SN, Elizondo D, et al. The Nicaraguan pediatric dengue cohort study: study design, methods, use of information technology, and extension to other infectious diseases. *Am J Epidemiol* 2009; 170:120-9.
15. Braga C, Albuquerque MFP, Cordeiro MT, Castanha PMS, Ramesh A, Alexander N, et al. Prospective birth cohort in a hyperendemic dengue area in Northeast Brazil: methods and preliminary results. *Cad Saúde Pública* 2016; 32:e00095815.
16. Haug CJ, Kieny MP, Murgue B. The Zika challenge. *N Engl J Med* 2016; 374:1801-3.
17. Maciel-de-Freitas R, Aguiar R, Bruno RV, Guimarães MC, Lourenço-de-Oliveira R, Sorgine MH, et al. Why do we need alternative tools to control mosquito-borne diseases in Latin America? *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2012; 107:828-9.
18. Honório NA, Nogueira RMR, Codeço CT, Carvalho MS, Cruz OG, Magalhães MAFM, et al. Spatial evaluation and modeling of dengue seroprevalence and vector density in Rio de Janeiro, Brazil. *PLoS Negl Trop Dis* 2009; 3:e545.
19. dos Reis IC, Honório NA, Codeço CT, Magalhães MAFM, Lourenço-de-Oliveira R, Barcellos C. Relevance of differentiating between residential and non-residential premises for surveillance and control of *Aedes aegypti* in Rio de Janeiro, Brazil. *Acta Trop* 2010; 114:37-43.
20. Índice de Desenvolvimento Humano Municipal (IDH), por ordem de IDH, segundo os bairros ou grupo de bairros - 2000. <http://portal.geo.rj.gov.br/amdados800.asp?gtema=15> (accessed on 10/Nov/2017).
21. Engstrom E, Fonseca Z, Leimann B. A experiência do território escola Manguinhos na atenção primária de saúde. [http://andromeda.ensp.fiocruz.br/teias/sites/default/files/arquivo\\_nossa\\_producao/A%20Experiencia%20do%20Territorio%20Escola%20Manguinhos%20na%20Atencao%20Primaria%20de%20Saude.pdf](http://andromeda.ensp.fiocruz.br/teias/sites/default/files/arquivo_nossa_producao/A%20Experiencia%20do%20Territorio%20Escola%20Manguinhos%20na%20Atencao%20Primaria%20de%20Saude.pdf) (accessed on 13/Oct/20217).
22. Lwanga S, Lemeshow S. Sample size determination in health studies - a practical manual. [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/40062/1/9241544058\\_\(p1-p22\).pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/40062/1/9241544058_(p1-p22).pdf) (accessed on 20/Oct/2016).
23. Nasci R. A lightweight battery-powered aspirator for collecting resting mosquitoes in the field. *Mosq News* 1981; 41:808-11.



24. Honório NA, Silva WC, Leite PJ, Gonçalves JM, Lounibos LP, Lourenço-de-Oliveira R. Dispersal of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in an urban endemic dengue area in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2003; 98:191-8.
25. Consoli R, Lourenço-de-Oliveira R. Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz; 1994.
26. Ayllón T, Campos RM, Brasil P, Morone FC, Câmara DCP, Meira GLS, et al. Early evidence for Zika virus circulation among *Aedes aegypti* mosquitoes, Rio de Janeiro, Brazil. *Emerg Infect Dis* 2017; 23:1411-2.
27. Rabello RS. Estratégia Saúde da Família: sistema de informações e fatores associados ao cadas-tramento em inquérito de saúde em uma comunidade do Rio de Janeiro [Tese de Doutorado]. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz; 2016.
28. Barcellos C, Zaluar A. Homicídios e disputas territoriais nas favelas do Rio de Janeiro. *Rev Saúde Pública* 2014; 48:94-102.
29. Gama SR, Carvalho MS, Cardoso LO, Chaves CRMM, Engstrom EM. Cohort study for monitoring cardiovascular risk factors in children using a primary health care service: methods and initial results. *Cad Saúde Pública* 2011; 27:510-20.
30. Gibson G, Souza-Santos R, Honório NA, Pacheco AG, Moraes MO, Kubelka C, et al. Conditions of the household and peridomicile and severe dengue: a case-control study in Brazil. *Infect Ecol Epidemiol* 2014; 4:10.3402/iee.v4.22110.
31. Maciel-de-Freitas R, Marques WA, Peres RC, Cunha SP, Lourenço-de-Oliveira R. Variation in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) container productivity in a slum and a suburban district of Rio de Janeiro during dry and wet seasons. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2007; 102:489-96.
32. Ayllón T, Câmara DCP, Morone FC, Gonçalves LS, Saito Monteiro de Barros F, Brasil P, et al. Dispersion and oviposition of *Aedes albopictus* in a Brazilian slum: initial evidence of Asian tiger mosquito domiciliation in urban environments. *PLoS One* 2018; 13:e0195014.

## Resumo

*Estudos de coorte com um componente de vigilância epidemiológica podem contribuir para nosso conhecimento dos aspectos clínicos e dos padrões de transmissão de arboviroses. Este artigo descreve a implementação de um estudo de coorte de nascimento de base populacional que incluiu um componente de vigilância entomológica e desafios relacionados numa comunidade desfavorecida do Rio de Janeiro, Brasil. Os participantes foram recrutados em dois períodos: de 2012-2014 e de 2015-2017. As crianças tiveram consultas pediátricas agendadas e em caso de febre. Dados epidemiológicos, clínicos e amostras biológicas foram coletadas nas visitas pediátricas. A vigilância ativa febril foi realizada por meio de ligações telefônicas, redes sociais, aplicativos de mensagens e visitas domiciliares. Um total de 387 recém-nascidos e 332 novas crianças foram incluídas durante o primeiro e segundo períodos de recrutamento, respectivamente. Em Julho de 2017, havia 451 crianças em seguimento. Durante o estudo, foram realizadas 2.759 visitas pediátricas: 1.783 assintomáticas e 976 consultas por febre/exantema. O número de consultas por febre ou exantema aumentou 3,5 vezes após uso de ferramentas de mídia para vigilância. Nenhum padrão temporal, sazonalidade ou pico de casos de febre foi observado durante o período do estudo. Um total de 10.105 mosquitos adultos (incluindo 3.523 Aedes spp. e 6.582 Culex quinquefasciatus) e 46.047 ovos foram coletados de domicílios, escolas, e pontos estratégicos. Apesar dos desafios, esta coorte de nascimento sentinela de base populacional é relevante para o conhecimento dos riscos e de patógenos emergentes.*

*Infecções por Arbovírus; Estudos de Coortes; Saúde Materno-Infantil; Controle de Vetores*

## Resumen

*Un estudio completo de cohorte que incluya una vigilancia entomológica puede contribuir a nuestro conocimiento de aspectos clínicos y patrones de transmisión de arbovirosis. Este artículo describe la implementación de un estudio poblacional de cohorte de nacimientos que incluyó el componente de vigilancia entomológica y los desafíos asociados en una comunidad desfavorecida de Río de Janeiro, Brasil. Los participantes fueron captados en dos periodos: de 2012 a 2014 y de 2015 a 2017. Los niños tenían fijadas consultas pediátrica regulares y por fiebre. Durante las visitas pediátricas, se recogieron datos epidemiológicos y clínicos, así como muestras biológicas. Se realizó una vigilancia activa de la fiebre mediante llamadas telefónicas, redes sociales, aplicaciones de mensajes, y visitas a domicilio. Un total de 387 recién nacidos y 332 nuevos niños fueron incluidos durante el primer y segundo período de reclutamiento, respectivamente. En julio de 2017 se había realizado un seguimiento a 451 niños. Durante el estudio, se realizaron 2.759 visitas pediátricas: 1.783 asintomáticas y 976 por fiebre/urgencias. El número de consultas por fiebre o urgencias aumentó 3.5-veces tras el uso de herramientas de comunicación para la vigilancia. No se observaron patrones temporales, estacionalidad o casos de picos de fiebre durante el periodo de estudio. Un total of 10.105 mosquitos adultos (incluyendo 3.523 Aedes spp. y 6.582 Culex quinquefasciatus) y 46.047 huevos fueron recogidos de viviendas, escuelas, y lugares estratégicos. A pesar de los retos, esta cohorte de nacimiento estructurada y supervisada, basada en población es relevante para el conocimiento de los riesgos y la concienciación sobre patógenos emergentes.*

*Infecciones por Arbovirus; Estudios de Cohortes; Salud Materno-Infantil; Control de Vectores*

---

Submitted on 20/Feb/2018  
Final version resubmitted on 31/Oct/2018  
Approved on 23/Nov/2018