

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS SOCIAIS APLICADAS
DEPARTAMENTO DE ECONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GESTÃO E ECONOMIA DA SAÚDE

MARIANA SANTA CRUZ SOUZA

INFECÇÃO PELO VÍRUS DA ZIKA E COMPLICAÇÕES NO SISTEMA
REPRODUTOR MASCULINO: uma revisão de literatura

Recife

2018

MARIANA SANTA CRUZ SOUZA

**INFECÇÃO PELO VÍRUS DA ZIKA E COMPLICAÇÕES NO SISTEMA
REPRODUTOR MASCULINO: uma revisão de literatura**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Gestão e Economia da Saúde do Centro de Ciências Sociais Aplicadas, Departamento de Economia da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de mestre em Gestão e Economia da Saúde.

Área de concentração: Gestão e Economia da Saúde

Orientadora: Profa. Dra Tatiane Almeida de Menezes

Coorientadora: Profa. Dra Maira Galdino da Rocha Pitta

Recife

2018

,Catalogação na Fonte
Bibliotecária Ângela de Fátima Correia Simões, CRB4-773

S729i

Souza, Mariana Santa Cruz

Infecção pelo vírus da Zika e complicações no sistema reprodutor masculino: uma revisão de literatura / Mariana Santa Cruz Souza. - 2018.
58 folhas: il. 30 cm.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Tatiane Almeida de Menezes e Coorientadora Prof. ^a Dr.^a Maira Galdino da Rocha Pitta.

Dissertação (Mestrado em Gestão e Economia da Saúde) – Universidade Federal de Pernambuco, CCSA, 2018.

Inclui referências.

1. Vírus da Zika. 2. Sistema reprodutor masculino. 3. Infertilidade. I. Menezes, Tatiane Almeida de (Orientadora). II. Pitta, Maira Galdino da Rocha (Coorientadora). III. Título.

336 CDD (22. ed.)

UFPE (CSA 2018 – 152)

MARIANA SANTA CRUZ SOUZA

**INFECÇÃO PELO VÍRUS DA ZIKA E COMPLICAÇÕES NO SISTEMA
REPRODUTOR MASCULINO:** uma revisão de literatura

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Gestão e Economia da Saúde do Centro de Ciências Sociais Aplicadas, Departamento de Economia da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de mestre em Gestão e Economia da Saúde.

Aprovada em: 14/09/2018.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Tatiane Almeida de Menezes (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. César Augusto Souza de Andrade (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. Mardonny Bruno de Oliveira Chagas (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco

“You can design and create, and build the most wonderful place in the world. But it takes people to make the dream a reality. ” (DISNEY apud WALKER, 1982)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tornar tudo possível.

Aos meus pais e a minha irmã, por serem minha segurança em todos os momentos, por todas as oportunidades que me proporcionaram e pelo amor incondicional.

A Wagner Regueira pelo apoio e por estar comigo ao longo dessa trajetória.

A minha amiga, Allane Melo, por me fazer rir nos momentos difíceis, pela amizade e pela disponibilidade em me ajudar.

Ao doutorando, Felipe de Sá Rocha, por atuar como revisor independente, pelo interesse e dedicação ao projeto e pela disponibilidade.

À minha coorientadora, Profa. Dra. Maíra Pitta, pela colaboração e conhecimento para a efetiva realização deste trabalho.

À minha orientadora, Profa. Dra. Tatiane Almeida, pela disponibilidade e contribuições a mim dedicadas.

À Universidade Federal de Pernambuco pela imensa contribuição na minha formação humana, acadêmica e profissional.

À coordenação, professores e funcionários do Programa de Pós-graduação em Gestão e Economia da Saúde e demais colegas mestrandos, pela solidariedade e pelos momentos compartilhados. Em especial, às amigas Antônia, Luciana, Ana Paula, Arianne, Amanda e Maíria.

A todos que de alguma forma contribuíram para elaboração deste projeto.

RESUMO

O vírus da Zika (ZIKV) é um flavivírus, transmitido predominantemente pela picada do mosquito *Aedes aegypti* infectado. Hoje, sabe-se que também pode ocorrer a transmissão vertical e sexual do vírus, bem como através de transfusão sanguínea. Estudos recentes em roedores machos demonstraram que o vírus afeta gravemente o Sistema reprodutor masculino (SRM) podendo gerar infertilidade. O objetivo do presente estudo é verificar se a infecção causada pelo ZIKV também resulta em complicações no trato reprodutor de seres humanos. Foi realizada uma revisão de literatura que resultou em 103 estudos, dos quais foram selecionados 12 para compor a análise final. Pesquisou-se nas bases de dados MEDLINE (via Pubmed), Center for Reviews and Dissemination (CRD), LILACS e Biblioteca COCHRANE. Foi constatado que o RNA do ZIKV pode ser detectado no sêmen dos homens por até 188 dias após o surgimento dos sintomas e que o vírus possui capacidade de se replicar dentro do SRM, sendo as células de Sertoli um de seus principais alvos. A duração média da persistência do RNA viral no sêmen (34 dias) é bem maior do que no trato genital feminino (12 dias), isso justifica a transmissão sexual de homens para mulheres ser mais comum. Não há evidências de que a transmissão sexual ocorra para os demais flavivírus e ela representa cerca de 4% dos casos de transmissão da doença. Os resultados apresentados demonstraram que o vírus da Zika possui características singulares dentre os demais flavivírus conhecidos por sua persistência e replicação dentro do SRM, no entanto, são necessários mais estudos prospectivos e observacionais avaliar as consequências dessa presença no trato reprodutor dos seres humanos.

Palavras-chave: Vírus da Zika. Sistema reprodutor masculino. Infertilidade.

ABSTRACT

Zika virus (ZIKV) is a flavivirus transmitted predominantly by the bite of the infected *Aedes aegypti* mosquito. Today, it is known that there can also exist vertical and sexual transmission of the virus, as well as through blood transfusion. Recent studies in male rodents have shown that the virus affects the Male reproductive system (SRM), which can lead to infertility. The objective of present study is to verify if the infection caused by ZIKV also results in complications to the reproductive tract of humans. A literature review was conducted which resulted in 103 studies, of which 12 were selected to compose a final analysis. The survey has used the database MEDLINE (via Pubmed), Center for Reviews and Dissemination (CRD), LILACS and COCHRANE Library. Evidence shows that ZIKV RNA can be detected in men's semen for 188 days after the symptoms onset and that the virus has the ability to replicate within the SRM, with Sertoli cells being one of its main targets. The average duration of viral RNA persistence in semen (34 days) is more severe than its persistence in female genital tract (12 days), this justifies why sexual transmission from males to females is more common. There is no evidence that sexual transmission occurs to other flaviviruses and it accounts for about 4% of cases of disease transmission. The results showed that the Zika virus has unique characteristics among the other known flaviviruses for its persistence and replication within the SRM, however, prospective and observational studies are necessary to evaluate the consequences of this presence in the human reproductive tract.

Keywords: Zika virus. ZIKV. Male reproductive system. Infertility.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mapa do mundo de áreas com risco de ZIKV.....	17
Figura 2 - Sistema Reprodutor Masculino (SRM).....	18
Figura 3 - Túbulos seminíferos testiculares.....	19
Figura 4 - Células de Leydig e Sertoli	20
Figura 5 - Fluxograma da seleção de estudos em animais.....	27
Figura 6 - Fluxograma da seleção de estudos em seres humanos.....	28
Figura 7 - Frequência de detecção do RNA viral do Zika vírus em diferentes fluidos de acordo com pontos de tempo após o surgimento dos sintomas em 15 pacientes infectados.....	47
Figura 8 - (A) Sistema reprodutor masculino e potenciais reservatórios para o ZIKV. (B) Corte de uma porção dos túbulos seminíferos dentro dos testículos.....	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais causas as infertilidade masculina	21
Tabela 2 - Estratégias de pesquisa e resultados obtidos de acordo com os bancos de dados usados.....	26
Tabela 3 - Síntese dos experimentos incluídos na revisão de literatura de acordo com as descrições do título, revista, ano de publicação, autores, resultados principais e conclusões.....	29
Tabela 4 - Síntese dos estudos realizados em humanos que foram incluídos na revisão de literatura de acordo com as descrições do título, revista, ano de publicação, autores, resultados principais e conclusões.....	32
Tabela 5 - Avaliação da qualidade metodológica para cada um dos estudos em animais incluídos.....	34
Tabela 6 - Avaliação da qualidade metodológica para a revisão sistemática realizada em humanos.....	35
Tabela 7 - Avaliação da qualidade metodológica para o estudo de coorte realizado em humanos.....	35

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CDC	Centro de Controle e Prevenção de Doenças, do inglês <i>Center for Disease Control</i>
DENV	Vírus da Dengue
ECR	Ensaio Clínico Randomizado
ESPIN	Emergência em Saúde Pública de Importância Nacional
FSH	Hormônio Folículo Estimulante, do inglês <i>Follicle-Stimulating Hormone</i>
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
LH	Hormônio Luteinizante, do inglês <i>Luteinizing Hormone</i>
MS	Ministério da Saúde do Brasil
OMS	Organização Mundial de Saúde
PPTA	Associação Terapêutica de Proteínas Plasmáticas, do inglês <i>Plasma Protein Therapeutics Association</i>
prME	Pré-membrana e envelope
RNA	Ácido Ribonucleico, do inglês <i>RiboNucleic Acid</i>
SGB	Síndrome de Guillain-Barré
SRM	Sistema Reprodutor Masculino
TRM	Trato Reprodutor Masculino
ZIKV	Vírus da Zika

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	15
2.1	OBJETIVO GERAL.....	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3	REVISÃO DA LITERATURA	16
3.1	O VÍRUS DA ZIKA.....	16
3.2	O SISTEMA REPRODUTOR MASCULINO.....	17
3.3	A PRESENÇA DO VÍRUS DA ZIKA NO SISTEMA REPRODUTOR MASCULINO.....	20
3.4	FATORES QUE PODEM LEVAR À INFERTILIDADE MASCULINA.....	21
3.5	TIPOS DE ESTUDOS.....	22
3.6	AValiação DA QUALIDADE DOS ESTUDOS.....	24
4	METODOLOGIA.....	25
4.1	DELINEAMENTO DO ESTUDO.....	25
4.2	PERÍODO DO ESTUDO E CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.....	25
4.3	ESTRATÉGIAS DE BUSCA.....	25
4.4	CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE.....	26
5	RESULTADOS	27
5.1	SELEÇÃO DE ESTUDOS.....	27
5.2	DESCRIÇÃO DOS ESTUDOS SELECIONADOS.....	29
5.3	AValiação DO RISCO DE VIÉS E QUALIDADE METODOLÓGICA DOS ESTUDOS.....	33
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
7	CONCLUSÃO.....	53
	REFERÊNCIAS.....	55

1 INTRODUÇÃO

O vírus da Zika (ZIKV) é transmitido predominantemente por meio da picada do mosquito *Aedes aegypti* infectado, no entanto, há casos isolados de transmissão por meio de outras espécies do gênero *Aedes*, como *Aedes albopictus* e *Aedes africanus* (Calvet et al, 2018). Há também outras formas de transmissão conhecidas da doença: através da mãe para o feto durante a gravidez (transmissão vertical), e por meio de relações sexuais e de transfusões de sangue (CDC, 2017). Estudos revelaram a presença do RNA viral em outros fluidos corporais como, por exemplo, saliva, urina e leite materno, contudo, seu potencial infeccioso precisa ser investigado para avaliar se há outras formas de transmissão da doença ainda não documentadas. (Calvet et al, 2018).

A descoberta do ZIKV ocorreu no ano de 1947 no continente Africano, e, por mais de 50 anos, menos de 20 casos de infecção pelo ZIKV foram reportados. A partir de 2015, uma epidemia do vírus surgiu nas Américas, incluindo o Brasil (Borges et al, 2017). Acredita-se que o vírus tenha chegado ao Brasil durante a realização de grandes eventos esportivos que ocorreram no País em 2014. Os primeiros casos diagnosticados ocorreram na região Nordeste, em bairros pobres com saneamento precário, condição favorável à proliferação da doença (Freitas et al, 2018).

A infecção pelo ZIKV pode ser assintomática ou vir acompanhada de sintomas leves, a saber: febre, dor de cabeça e nas articulações, vermelhidão nos olhos, erupções na pele e dores musculares. Os sintomas podem durar de alguns dias a uma semana. Dificilmente as complicações causadas pelo ZIKV resultam em morte para o doente, todavia, a epidemia de ZIKV no Brasil em 2015 tornou-se um grave problema de saúde pública, principalmente pela possível associação entre a infecção durante a gravidez e má-formação cerebral do feto, entre outros efeitos negativos da doença, como a Síndrome de Guillain-Barré (SGB) nos adultos (CDC, 2017). Além disso, o ZIKV apresenta um amplo tropismo e persistência em tecidos e fluidos corporais, tais como sêmen, muco cervical, saliva e lágrimas, o que explica as demais manifestações clínicas e epidemiológicas observadas durante a atual epidemia do vírus.

Essa associação entre a infecção pelo ZIKV e o surgimento de casos de microcefalia foi fortalecida após o aparecimento de achados necroscópicos com grande concentração do vírus no tecido nervoso de natimortos com microcefalia (Ministério da Saúde, 2016). A possível relação de causalidade já vinha sendo apontada por médicos do Sistema Único de Saúde (SUS) das regiões mais afetadas, no entanto, só houve um maior reconhecimento dessa relação causal

após a chegada de pesquisadores internacionais e a realização de publicações científicas (Freitas et al, 2016).

No Nordeste do Brasil, a epidemia de ZIKV foi concomitante ao surgimento de casos suspeitos de microcefalia. Até maio de 2016, foram notificados mais de sete mil desses casos em todo País. Entretanto, não se pode apontar o ZIKV como fator determinante para explicar o aparecimento desses casos de microcefalia, visto que muitas vezes a doença se apresenta de forma assintomática, tornando difícil identificar a presença do vírus durante a gravidez. Além disso, outras infecções parasitárias, bacterianas e virais também têm potencial para desencadear a microcefalia e há ainda questões importantes a serem respondidas, como a concentração de casos em determinadas regiões do país e a possibilidade de que fatores subsequentes à infecção possam causar microcefalia (Borges et al, 2017; Ministério da Saúde, 2016).

Diante do aumento de casos de microcefalia, da repercussão mundial e da gravidade que esse cenário representa, em 15 de novembro de 2015, o Ministério da Saúde do Brasil (MS) decretou estado de Emergência Nacional em Saúde Pública, utilizando pela primeira vez este mecanismo que fora criado em 2011 (Freitas et al, 2016). A Portaria nº 2.952 de 14 de dezembro de 2011 considera situação de Emergência em Saúde Pública de Importância Nacional (ESPIN) aquela que demande o emprego urgente de medidas de prevenção, controle e contenção de riscos, danos e agravos à saúde pública em caso de situações epidemiológicas específicas, situação de desastre ou situação de desassistência à população. Esse instrumento permite a coordenação de ações especiais em resposta à ESPIN, bem como a disponibilização de insumos, materiais e recursos financeiros complementares (Ministério da Saúde, 2011).

Esta medida emergencial adotada pelo governo permitiu que mais recursos fossem direcionados à pesquisa científica e ao combate ao vírus. Desde o surgimento da primeira epidemia do vírus em 2007 até 2014, eram publicados no máximo quatro artigos por ano. A partir daí, houve um elevado crescimento no número de publicações, culminando em 646 publicações entre janeiro a junho de 2016 (Freitas et al, 2016). Apesar de haver pesquisas em andamento, ainda não há vacina ou tratamento de efeitos comprovados para o vírus da Zika. A prevenção tem se mostrado a melhor forma para combater este vírus que acometeu o Brasil nos últimos anos. Foi através dela que houve um controle no surto da doença no País, com uma queda de cerca de 95% dos casos de ZIKV em 2017 comparando-se ao mesmo período do ano anterior. Por isso, em 11 de maio de 2017, o Ministério da Saúde decretou o fim da Emergência Nacional em Saúde Pública, após dezoito meses de seu decreto (Ministério da Saúde, 2017).

Mesmo com o fim do Estado de Emergência Nacional em Saúde Pública e com o controle dos casos de infecção pelo ZIKV e de microcefalia, o combate à disseminação da doença permanece um grande desafio de saúde pública no Brasil. Recentes estudos apontaram que o vírus da Zika pode não apenas afetar o sistema nervoso central de recém-nascidos, como também afetar o sistema reprodutor e permanecer ativo por vários meses depois de contraída a infecção. Essa descoberta é alarmante, uma vez que o sistema reprodutor está diretamente relacionado à reprodução humana, à transmissão vertical do vírus, como também à fertilidade.

Diante das descobertas recentes, há diversos estudos em andamento que visam investigar a associação entre o ZIKV e a infertilidade masculina. Esse pressuposto surgiu quando pesquisadores identificaram que depois de injetado o vírus da Zika em camundongos machos, houve danos consideráveis a seu sistema reprodutor: seus testículos encolheram demasiadamente, o nível de hormônios sexuais caiu e sua fertilidade foi drasticamente reduzida (Govero et al, 2016). Estudo realizado por Joguet et al (2017) detectou alterações no esperma, função testicular e no epidídimo de homens infectados pelo ZIKV, incluindo uma diminuição na contagem de esperma e aumento em suas anomalias. Tais descobertas reforçam uma possível interferência da infecção por ZIKV na fertilidade humana.

Essa perspectiva de análise do impacto do vírus da Zika sobre sistema reprodutor humano ainda foi pouco explorada e requer a realização de diversos estudos experimentais e prospectivos em homens e mulheres infectados. O presente estudo se propõe a realizar uma revisão sistemática reunindo publicações relevantes sobre a correlação entre o ZIKV e o comprometimento no sistema reprodutor dos homens. O estudo se justifica por se tratar de um viés ainda pouco abordado na literatura e devido à importância e à atualidade do tema. A provável associação entre o vírus e sua permanência no sistema reprodutor, resultando em possível infertilidade, impacta diretamente no planejamento familiar dos brasileiros, nas políticas governamentais de prevenção à disseminação do ZIKV, além de representar um risco à saúde da população.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar uma revisão de literatura para verificar o comprometimento do sistema reprodutor de homens infectados pelo vírus da Zika.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar o levantamento de evidências científicas disponíveis acerca do comprometimento do trato reprodutor de homens, mulheres e animais infectados pelo vírus da Zika.
- Identificar os estudos relevantes e analisar sua qualidade através de ferramentas específicas.
- Resumir as evidências encontradas.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 O VÍRUS DA ZIKA

O ZIKV é um arbovírus do gênero flavivírus, pertencente à família *Flaviviridae*. Os Flavivírus são transmitidos por vetores artrópodes hematófagos e têm como seus principais hospedeiros os animais vertebrados, como os primatas não humanos e o homem. Esse gênero inclui outros flavivírus importantes como o vírus da dengue, da febre amarela e da febre do Vale do Nilo. O ZIKV é transmitido predominantemente pela picada de mosquitos, especialmente os das espécies *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*. Três genótipos do vírus já foram identificados: a linhagem do leste da África, do oeste da África e a asiática.

O vírus foi isolado pela primeira vez em macacos, na Uganda, África, em 1947. O primeiro caso reportado em seres humanos ocorreu em 1952 também na África. Até 2017, apenas quatorze casos da doença em humanos foram notificados, todos com sintomas leves e sem deixar sequelas nos doentes. Entre 50% e 80% das infecções pelo ZIKV se apresentam de forma assintomática (Stassen, 2018). Devido a esse histórico de pouca gravidade, a doença causada pelo ZIKV foi negligenciada por pesquisadores ao longo das primeiras décadas de sua descoberta.

A primeira epidemia da doença ocorreu em 2007 nas ilhas de Yap, no Pacífico. O surto na ilha atingiu cerca de 73% dos residentes acima de três anos de idade. O segundo grande surto da doença ocorreu na Polinésia Francesa, ilha do Pacífico Sul, entre 2013 e 2014, quando a doença foi associada à síndrome de *Guillain-Barré* pela primeira vez. Os primeiros casos no Brasil surgiram em 2015 quando a associação do vírus com a microcefalia e seu possível tropismo pelo Sistema Nervoso Central (SNC) tornou-se o foco de pesquisadores internacionais. Hoje, oitenta e quatro países já foram afetados pelo ZIKV, totalizando cerca de um milhão de casos, e pelo menos vinte e três países já reportaram casos da SGB (OMS, 2017).

A maior taxa de prevalência do vírus ocorre em áreas de baixa altitude (até cerca de 1.980 metros). O mapa (Figura 1) mostra a distribuição de áreas de risco de contaminação pelo ZIKV no mundo. Quanto mais escuro, maior o risco de contaminação pelo ZIKV. Os países na cor cinza não apresentam risco de contaminação através do mosquito, visto que ele não sobrevive acima da altitude citada.

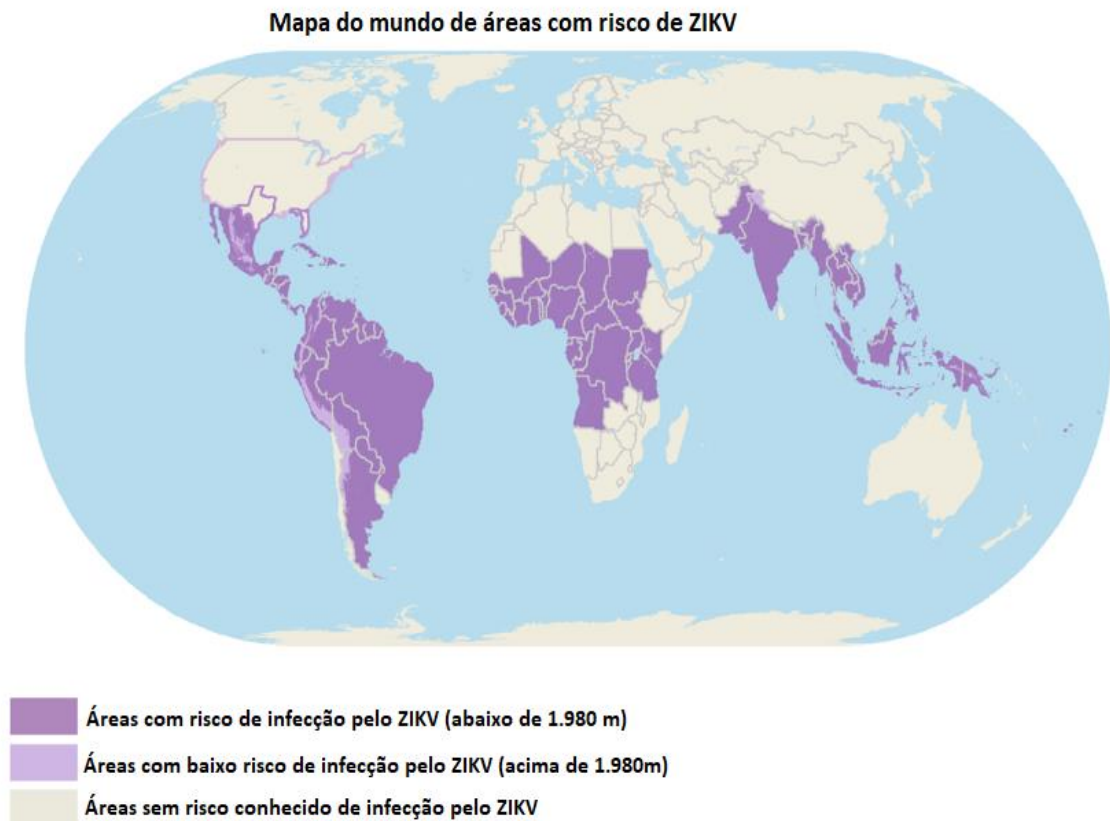


Figura 1. Mapa-múndi de áreas com risco de ZIKV. FONTE: CDC, 2018.

Contudo, parte da disseminação do vírus por diversos países se deve à sua capacidade de ser transmitido sexualmente, o que o difere dos demais arbovírus conhecidos. O primeiro caso documentado de transmissão sexual ocorreu em 2008 e, desde então, quatorze países que estão fora de regiões endêmicas já reportaram casos de transmissão sexual da doença. Modelos matemáticos preveem que a transmissão sexual da doença tem uma participação entre 3 e 4,8% na disseminação dos casos (Stassen, 2018).

Para compreender como se dá essa transmissão é importante entender o funcionamento do Sistema Reprodutor Masculino e o como ZIKV atua neste sistema.

3.2 O SISTEMA REPRODUTOR MASCULINO

O Sistema Reprodutor Masculino (SRM) é um dos alvos do vírus da Zika. Por isso, é imprescindível conhecer os principais órgãos e componentes desse sistema e suas funções para compreender como o ZIKV pode comprometê-los. O testículo é um órgão par, situado numa bolsa músculo-cutânea, denominada escroto, a qual está localizada na região anterior do

períneo, logo por trás do pênis. As células sexuais são fabricadas neste ambiente. Essas células são responsáveis pela produção de espermatozoides, também conhecidos como gametas masculinos, essenciais para que ocorra a reprodução humana (Figura 2).

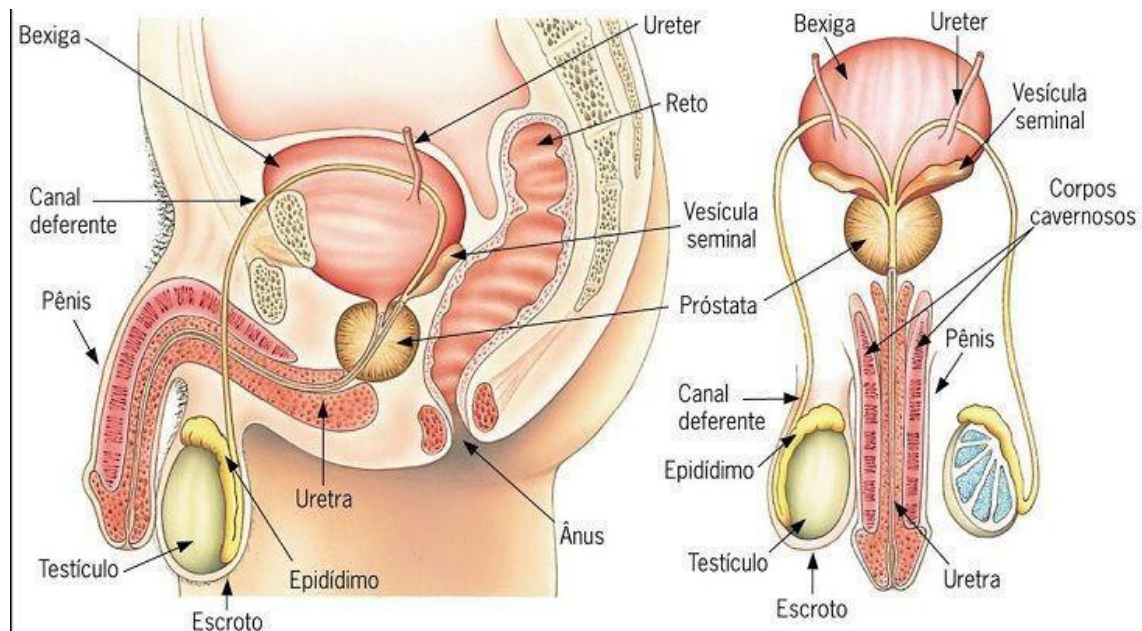


Figura 2. Sistema Reprodutor Masculino (SRM). FONTE:

<http://www.todoestudo.com.br/wp-content/uploads/2016/10/sistema-reprodutor-masculino.jpg>

O epidídimo apresenta uma dilatação superior que ultrapassa o polo superior do testículo, denominada cabeça; um seguimento intermediário que é o corpo e, na parte inferior, uma porção mais estreita, que é a cauda do epidídimo. É justamente nessa curva constituída pela cauda do epidídimo e início do ducto deferente que ficam armazenados os espermatozoides até o momento do ato sexual, em que são levados para o exterior. Sêmen é um fluido orgânico produzido pelos machos de muitas espécies de animais para transportar os espermatozoides até o local de fertilização na fêmea. O sêmen é o resultado de uma mistura de secreções (plasma seminal) e do esperma ou espermatozoides. Este líquido que alimenta e protege o espermatozoide (plasma seminal) é produzido pelo órgão da próstata. As vesículas seminais secretam um líquido que contém frutose (açúcar monossacarídeo), prostaglandinas e proteínas de coagulação (vitamina C). A natureza alcalina do líquido ajuda a neutralizar o ambiente ácido da uretra masculina e trato genital feminino, que, de outra maneira, tornaria inativos e mataria os espermatozoides. A espermatogênese é o processo em que as espermatogônias (células-

tronco masculinas) se desenvolvem em espermatozoides. Este processo ocorre nos túbulos seminíferos testiculares (Figura 3).



Figura 3. Túbulos seminíferos testiculares. FONTE: <http://www.infoescola.com/wp-content/uploads/2010/07/tubulos-seminiferos.jpg>

O processo de espermatogênese é composto de quatro fases: 1) Fase de proliferação ou de multiplicação; 2) Fase de crescimento; 3) Fase de maturação e 4) Espermiogênese. Durante esse período de produção, o controle hormonal da espermatogênese é realizado pelas células de Sertoli e de Leydig, cuja localização é no tecido intersticial, externamente aos túbulos seminíferos. Essas células produzem testosterona em resposta ao estímulo do LH (hormônio luteinizante). Já as células de Sertoli têm a importante função de proteger todos os níveis de desenvolvimento do espermatozoide (dos espermatócitos, espermátides e espermatozoides). Elas também realizam a fagocitose e auxiliam na troca de nutrientes e metabólitos (Figura.5). As células de Leydig e Sertoli são um dos principais alvos de ação do ZIKV (Govero et al, 2016).

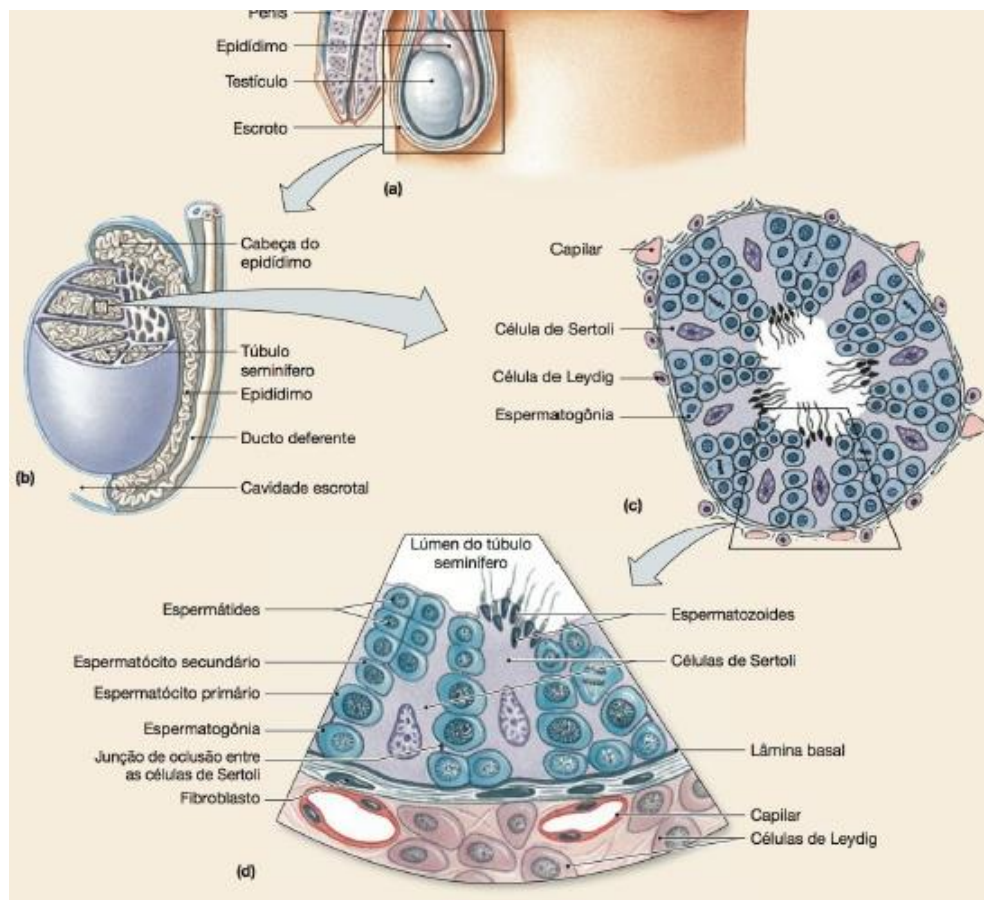


Figura 4. Células de Leydig e Sertoli. FONTE: <http://embriologiaufpe.weebly.com/aula-paacutetica-01.html>

3.3 A PRESENÇA DO VÍRUS DA ZIKA NO SISTEMA REPRODUTOR MASCULINO

Estudos realizados em camundongos mostram que o vírus da Zika, ao entrar no organismo de ratos machos, inicialmente migra para os testículos, onde o quantitativo de espermatogônias, células de Leydig e de Sertoli é bastante reduzido 21 dias após a infecção. Ocorre, portanto, o colapso da estrutura interna dos testículos, apresentando várias células mortas ou em processo de degeneração. Com três semanas de infecção, os testículos dos camundongos apresentam 1/10 do seu tamanho e há a queda do nível de testosterona (Govero et al, 2016). No decorrer da infecção, a quantidade de espermatozoides é drasticamente diminuída, mesmo observando certa regeneração, quando a infecção é combatida pelo organismo. O vírus da Zika infecta preferencialmente as espermatogônias, os espermatócitos primários e as células de Sertoli, portanto, podendo comprometer a fertilidade masculina. Segundo Uraki et al (2017) 21 dias após a infecção os testículos dos ratos estavam

drasticamente menores quando comparados aos não infectados. A infecção também causou diminuição no nível de testosterona sérica, representando um fator gerador de infertilidade.

3.4 FATORES QUE PODEM LEVAR À INFERTILIDADE MASCULINA

Considera-se infertilidade a incapacidade de engravidar após 12 meses seguidos de relações sexuais não protegidas (Roosenblatt, 2010). Ela afeta mais de 8 milhões de casais no Brasil, esse número representa de 15% a 20% dos casais em idade reprodutiva no País. (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2010). As causas da infertilidade são distribuídas da seguinte forma: 35% só por fatores femininos, 30% só por fatores masculinos; 20% por uma combinação entre fatores femininos e masculinos e 15% por fatores não explicados.

As causas da infertilidade masculina podem ser divididas em pré-testiculares, testiculares e pós-testiculares. Causas pré-testiculares compreendem doenças congênitas ou adquiridas no hipotálamo, hipófise ou órgãos periféricos que alterem o eixo hipotálamo-hipófise. As causas testiculares são de natureza cromossômica e não cromossômica. Já as causas pós-testiculares abrangem problemas de transporte de espermatozoides, que podem ser congênitos ou adquiridos (Roosenblatt, 2010). Para entender como a infecção pelo ZIKV pode afetar a fertilidade nos homens, é importante conhecer tais parâmetros (Tabela 1). Percebe-se que, diante das evidências encontradas nos estudos que fazem parte da discussão deste trabalho, o ZIKV atua no SRM com potencial para comprometer os parâmetros que afetam as causas pós-testiculares da infertilidade.

Tabela 1. Principais causas da infertilidade masculina.

Causas da Infertilidade Masculina
1. Causas pré-testiculares da infertilidade
Distúrbios no hipotálamo
Distúrbios na hipófise
Problemas nos órgãos periféricos que afetem o eixo hipotálamo-hipófise
2. Causas testiculares da infertilidade
Anormalidades cromossômicas
Anormalidades não-cromossômicas (por exemplo: varicocele, criptorquidia, causas idiopáticas etc.)
3. Causas pós-testiculares da infertilidade

Problemas que envolvem o transporte do espermatozoide através do sistema ductal. Compreende problemas com volume e qualidade do sêmen, motilidade e morfologia dos espermatozoides etc.

Quando se trata da possibilidade do ZIKV afetar parâmetros que comprometem a fertilidade de homens que contraíram o vírus em idade reprodutiva, é importante também considerar a atual geração de crianças que nasceram com a síndrome congênita do Zika vírus. Já foram reportados casos de criptorquidia, hipospádia e micropênis em recém-nascidos de mães infectadas pela doença (Stassen et al, 2018). Essas crianças são totalmente dependentes, devido a funções motoras e cognitivas comprometidas, e irão constituir um considerável percentual de adultos incapazes de se reproduzir naturalmente, representando um grande impacto socioeconômico para os estados que foram fortemente afetados pela epidemia do vírus no Brasil.

3.5 TIPOS DE ESTUDOS

Conhecer os delineamentos de pesquisa, suas vantagens e limitações, é de grande importância para a elaboração de revisões, tanto a sistemática quanto a revisão de literatura. A pirâmide de hierarquia de evidências estabelece uma classificação de tipos de estudos ordenados de acordo com o nível de evidência científica. No topo da pirâmide da hierarquia de evidências estão as revisões sistemáticas e ensaios clínicos aleatórios, seguidos por estudos de coorte, estudo caso-controle e estudos quase experimentais. Em seguida surgem estudos descritivos, experimentais e, por fim, opiniões de experts e relatos de casos (Nedel et Silveira, 2016).

- Estudos Experimentais

O pesquisador manipula artificialmente uma intervenção através de sua administração e observação do seu desfecho. Eles se dividem em ensaio clínico randomizado (ECR) e ensaio clínico não randomizado (quase experimental), nesse grupo há uma intervenção e grupos de controle, contudo, a escolha não se dá de forma aleatória como ocorre no ECR, essa escolha depende da conveniência do pesquisador (Nedel et Silveira, 2016).

- Estudos de Coorte

São estudos observacionais longitudinais, prospectivos ou retrospectivos. É selecionada uma população e se analisa por um tempo os efeitos da exposição a determinado fator para se avaliar o possível desfecho (Nedel et Silveira, 2016).

- Estudos Caso-controle

São estudos observacionais, longitudinais e retrospectivos. Nesse tipo de estudo se seleciona o grupo com os desfechos desejados e um grupo controle, que não sofre os efeitos do desfecho. A comparação dos grupos permite analisar os fatores que levaram a ocorrência do desfecho (Nedel et Silveira, 2016).

- Série de casos

Esse tipo de estudo não possui comparação. Constitui relato da presença do desfecho em grupo determinado de pacientes. São hipóteses a serem testadas posteriormente (Nedel et Silveira, 2016).

- Revisões Sistemáticas

Revisões sistemáticas permitem resumir e sintetizar evidências sobre a eficácia de determinada intervenção, pois tiram conclusões a partir da análise de diversos estudos que investigam os efeitos dessa intervenção e fornecem dados que suportam tais conclusões. Elas se baseiam em métodos explícitos e sistematizados de busca, avaliação crítica e síntese da informação coletada. Elas constituem um tipo de estudo secundário e retrospectivo que depende da qualidade das fontes primárias selecionadas (Nedel et Silveira, 2016).

A fim de se realizar uma investigação sobre determinada temática pode-se utilizar uma revisão narrativa ou revisão sistemática com ou sem metanálise. Revisões narrativas não possuem critério explícito e sistemático de busca, a interpretação dos dados está sujeita a subjetividade do autor. Já as revisões sistemáticas possuem critérios estabelecidos para cada etapa do processo de busca de evidências e possuem metodologia definida para prevenção de vieses. A revisão sistemática pode vir ou não acompanhada de metanálise que consiste em um procedimento estatístico para obter estimativa global do efeito avaliado.

Para melhor entendimento dos efeitos da infecção pelo ZIKV no sistema reprodutor masculino nos homens, optou-se por realizar uma revisão de literatura ou narrativa, uma vez que, geralmente utiliza-se a revisão sistemática para avaliação dos efeitos de uma intervenção

terapêutica para determinada patologia. Além disso, as revisões sistemáticas demandam a existência de estudos em seres humanos com alto grau de evidência e baixo risco de viés. Apesar de não se configurar uma revisão sistemática, o presente estudo seguiu parâmetros sistemáticos de busca e procurou reunir publicações com alto grau de evidência científica

3.6 AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS ESTUDOS

Revisões sistemáticas são a melhor forma de avaliar os efeitos de intervenções para determinado (s) desfecho (s). Os ensaios clínicos constituem o tipo de estudo com maior nível de evidência para compor uma revisão sistemática. Para avaliar a qualidade desse tipo de estudo utiliza-se a ferramenta *Cochrane Risk of Bias Tool*. Já para avaliar a qualidade de estudos observacionais utilizava-se a *Newcastle-Ottawa Scale*, no entanto, recentemente se utiliza a nova ferramenta da Colaboração Cochrane denominada *A Cochrane Risk Of Bias Assessment Tool for Non-Randomized Studies* que permite avaliar a qualidade metodológica de estudos de coorte e de caso-controle.

Essa ferramenta permite avaliar sete domínios: confundimento, seleção dos participantes, aferição da intervenção (os três primeiros são pré-intervenção), não recebimento da intervenção atribuída, perdas, aferição dos desfechos e relato seletivo dos desfechos (pós-intervenção). Para cada um desses domínios é atribuída uma classificação com relação ao risco de viés que vai desde baixo até crítico (Falavigna, 2018).

4 METODOLOGIA

4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Trata-se de uma revisão de literatura sobre o vírus da Zika e suas possíveis complicações para o trato urogenital. O presente estudo é descritivo baseado em estudos primários, como estudos experimentais, e estudos secundários, como revisões sistemáticas, que abordam os efeitos da infecção pelo vírus da Zika no sistema reprodutor de seres humanos e de animais.

4.2 PERÍODO DE ESTUDO E CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

A coleta de dados foi realizada do período de abril a agosto de 2018. Todos os estudos foram cuidadosamente comparados por meio de dupla checagem independente para evitar a parcialidade e garantir a lisura na isenção dessa triagem. Não foi necessária a autorização prévia de Comitê de Ética, de acordo com a Resolução nº 466/12 - Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde.

4.3 ESTRATÉGIAS DE BUSCA

Esta revisão de literatura é composta pelas seguintes etapas: definição da questão norteadora, definição de critérios de inclusão/exclusão, seleção e obtenção dos artigos, avaliação dos estudos selecionados e discussão dos resultados. Como resultado, ficou definida a seguinte questão norteadora: A infecção pelo vírus da Zika gera comprometimento no sistema reprodutor dos homens?

A estratégia de busca foi elaborada utilizando as ferramentas “Descritores em Saúde” da Biblioteca Virtual em Saúde (DECS - <http://decs.bvs.br/>) e o Medical Subject Headings (MeSH) do Medline via Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/>). A partir daí, buscamos estudos comparando as palavras-chaves, em inglês (Tabela 2), cruzadas em combinação com os operadores booleanos *AND* e *OR*.

Em seguida, entre os meses de abril e agosto de 2018, os seguintes bancos de dados eletrônicos foram utilizados: MEDLINE (via Pubmed - www.pubmed.gov/); BIREME (<http://bvsalud.org/>) especificamente na Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS - <http://lilacs.bvsalud.org/>); Center for Reviews and Dissemination (CRD -

<http://www.crd.york.ac.uk/CRDWeb/>) e Biblioteca COCHRANE ([http://online library.wiley.com/cochranelibrary/search](http://online.library.wiley.com/cochranelibrary/search)).

Tabela 2. Estratégias de pesquisa e resultados obtidos de acordo com os bancos de dados usados.

Banco de dados	Estratégia	Número de estudos
Pubmed	("Zika Virus"[Mesh] OR "Zika Virus Infection"[Mesh] OR "NS1 protein, zika virus"[Supplementary Concept]) AND ("Sperm Motility"[Mesh] OR "Sperm Maturation"[Mesh] OR "Sperm Head"[Mesh] OR "Sperm Capacitation"[Mesh]) AND ("Reproductive Tract Infections"[Mesh] OR "Reproductive and Urinary Physiological Phenomena"[Mesh]) AND ("orchitis"[MeSH Terms] OR "orchitis"[All Fields]) AND ("fertility"[MeSH Terms] OR "fertility"[All Fields]) AND ("testis"[MeSH Terms] OR "testis"[All Fields] OR "testicle"[All Fields]) AND ("epididymitis"[MeSH Terms] OR "epididymitis"[All Fields])	98
CRD	Zika or Zika virus or Zika infection and testis, prostatitis, epididymitis, orchitis, spermatozoa	0
LILACS	Testis AND prostatitis AND epididymitis AND zika virus	0
The Cochrane Library	Zika or Zika virus or Zika infection and, testis, prostatitis, epididymitis, orchitis, spermatozoa	01
TOTAL		99

4.4 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

Com relação aos critérios de elegibilidade, utilizamos como critérios de inclusão: ser artigo original, ter disponibilidade eletrônica na forma de texto completo, estar nos idiomas inglês, português e espanhol. Já como critérios de exclusão, foram utilizados: artigos que estavam em duplicidade das bases de dados pesquisadas e estudos que não responderam à questão norteadora.

5 RESULTADOS

5.1 SELEÇÃO DOS ESTUDOS

A busca de estudos nas fontes de dados pesquisadas gerou um número total de noventa e nove estudos incluindo um estudo em seres humanos, uma revisão sistemática e estudos experimentais em animais. Foram inseridos quatro estudos adicionais que respondiam à pergunta proposta. Destes artigos, foram descartados sessenta e sete após leitura dos títulos e resumos. Foram selecionados trinta e quatro artigos para leitura na íntegra, dos quais, dezoito foram descartados após aplicação dos critérios de exclusão, pois não respondiam à pergunta norteadora ou estavam em duplicidade nas bases de dados. Após essa análise, doze estudos foram elegíveis para compor esta revisão de literatura (sendo dez em animais e dois em humanos). Em seres humanos, um é estudo de coorte (observacional prospectivo) e o outro é uma revisão de sistemática. Os fluxogramas, a seguir, retratam o resultado da triagem dos artigos.

Figura 5 – Fluxograma da seleção de estudos em animais

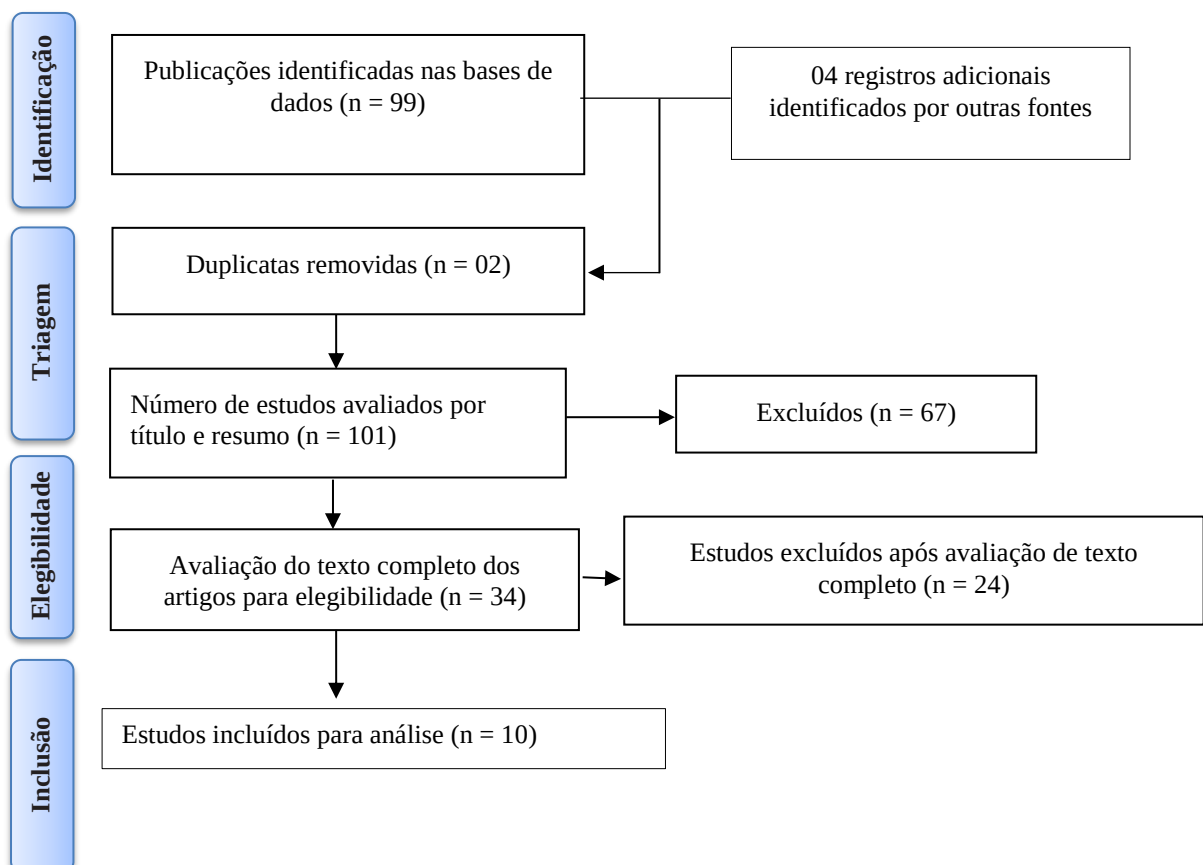
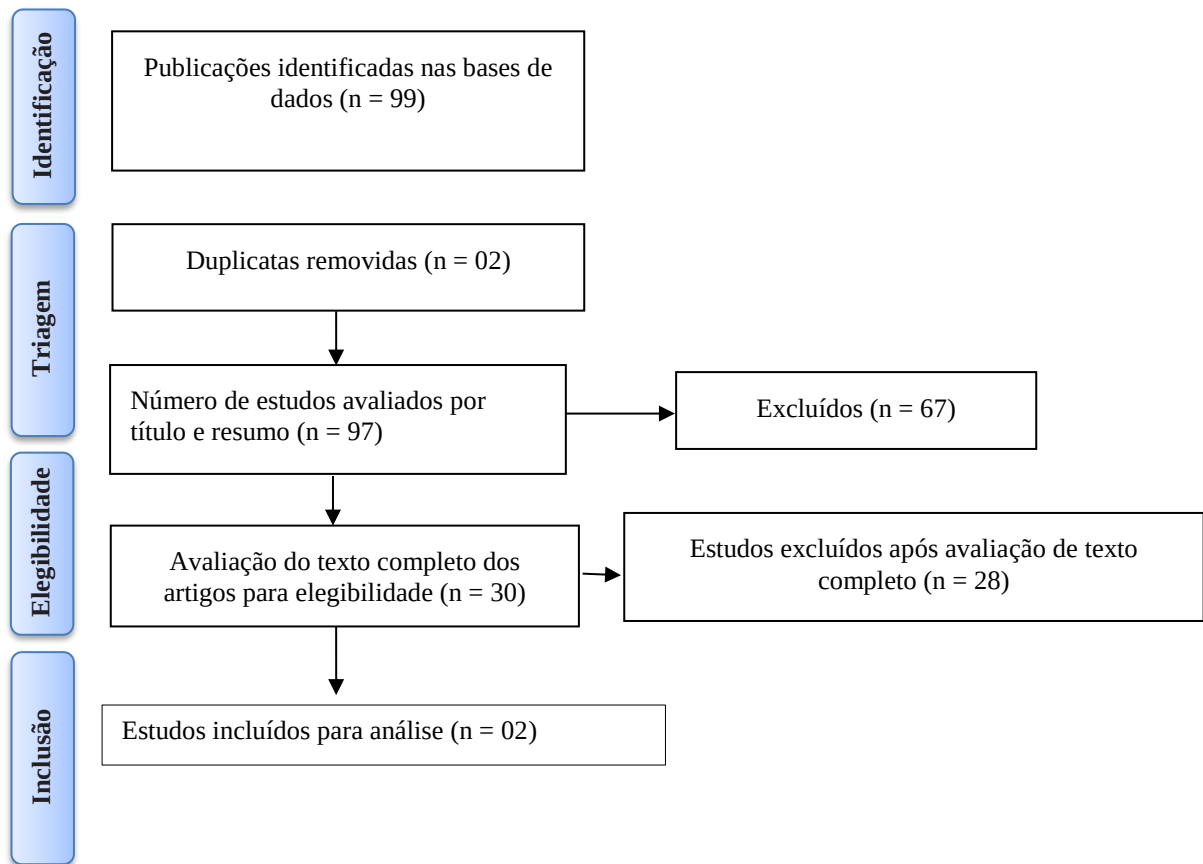


Figura 6 – Fluxograma da seleção de estudos em seres humanos



5.2 DESCRIÇÃO DOS ESTUDOS SELECIONADOS

A seguir, serão apresentadas tabelas que resumem a caracterização de cada estudo selecionado para compor esta revisão sistemática.

Tabela 3 - Síntese dos experimentos incluídos na revisão sistemática de acordo com as descrições do título, revista, ano de publicação, autores, resultados principais e conclusões.

Título do artigo	Autor/ Revista - Ano	Tipo de estudo/ N amostral	Resultados	Conclusões
Zika Virus Causes Testis Damage and Leads to Male Infertility in Mice	Ma et al/ Cell 2016	Estudo experimental N = 10 por grupo	ZIKV infecta testículo e epidídimo, mas não a próstata e a vesícula seminal, o que condiz com a hipótese da proteína AXL funcionar como fator de entrada para o vírus. ZIKV infecta células estaminais do testículo (célula peritubular mióide e espermatogonia). O ZIKV pode causar orquite/epididimite em camundongos, levando à infertilidade.	Há uma forte recomendação para que seja realizada investigação de longo prazo de acompanhamento clínico em relação a homens infectados pelo ZIKV. O estudo demonstra preocupação com a transmissão via banco de esperma em casos de reprodução assistida em países endêmicos e sugere a urgente necessidade de mais pesquisas e ações nesta área.
Zika virus infection of adult and fetal STAT2 knock-out hamsters	Siddharthan et al/ Virology 2017	Estudo experimental N = 4 por grupo	A infecção pelo ZIKV foi investigada em hamsters adultos e fetais tipo STAT2 knockout (KO). A infecção nos adultos resultou em morbidade, mortalidade e infecção do útero, placenta, cérebro, medula espinhal e testículos. Células infectadas pelo ZIKV com morfologias de células de Sertoli e espermatogônias foram observadas nos testículos, o que pode ter implicações para a transmissão sexual e esterilidade masculina.	Para o autor os hamsters STAT2 KO podem ser úteis para tratar da transmissão sexual, patogênese, vias de infecção fetal e desfechos de doenças neurológicas, e também podem ser usados em estudos antivirais ou vacinais para identificar estratégias de intervenção.
DNA vaccination protects mice against Zika virus-induced damage to the testes	Griffin et al /Nature Communications 2017	Estudo experimental N = 4 a 6 por grupo	O estudo relata que a administração de uma vacina de DNA sintética protege completamente os camundongos contra os danos aos testículos e espermatozoides associados ao ZIKV e previne a persistência viral nos testículos.	Estes dados sugerem que a vacinação de DNA merece mais investigação como um meio potencial para reduzir a persistência do ZIKV no trato reprodutivo masculino e para limitar a potencial transmissão sexual do vírus em humanos.

Human polyclonal antibodies produced in trans chromosomal cattle prevent lethal Zika virus infection and testicular atrophy in mice	Stein et al/ Antiviral Research	Estudo experimental N = 3 por grupo	O estudo demonstra que tratamento com anticorpos policlonais humanos produzidos em bovinos transcromossômicos prevenir a infecção letal pelo vírus zika e a atrofia testicular em camundongos. O tratamento elimina os danos causado pelo ZIKV em área com privilégio imunológico como cérebro e testículos e previne atrofia testicular.	Mais estudos com anticorpos transcromossômicos em camundongos e primatas fêmeas gestantes deverão ser realizados para avaliar seu potencial preventivo de transmissão vertical em humanos.
A single-dose live-attenuated vaccine prevents Zika virus pregnancy transmission and testis damage	Shan et al/ Nature Communications 2017	Estudo experimental N= 3 a 6 por grupo	O estudo demonstra que vacinas em potencial com ZIKV atenuado contendo deleções na região 3' não traduzida do genoma do vírus Zika (ZIKV-3'UTR-LAV) previnem a transmissão viral durante a gravidez e os danos testiculares em camundongos, bem como a infecção de primatas não humanos.	O estudo sugere que a vacina ZIKV-3'UTR-LAV precisa ser avaliada em seres humanos.
Recombinant Chimpanzee Adenovirus Vaccine AdC7-M/E Protects against Zika Virus Infection and Testis Damage	Xu et al/ Journal of Virology 2018	Estudo experimental N= 4 a 8	Desenvolveu-se vacina contra o ZIKV baseada em adenovírus recombinantes do chimpanzé tipo 7 (AdC7) expressando glicoproteínas ZIKV M / E. Uma dose única de AdC7-M / E foi suficiente para induzir anticorpos neutralizantes potentes e imunidade protetora contra o ZIKV em camundongos imunocompetentes e imunodeficientes.	A vacina AdC7-M/E mostrou-se muito efetiva e surge como candidata promissora para o controle global contra o ZIKV
Zika virus causes testicular atrophy	Uraki et al/ Science Advances 2017	Estudo experimental N = 3 por grupo	Foram infectados camundongos com o ZIKV, obtendo-se os seguintes resultados: A replicação do ZIKV persiste dentro dos testículos, mesmo após seu desaparecimento no sangue, com as células Leydig, produtoras de testosterona, auxiliando a replicação do vírus. Foram encontrados níveis elevados de RNA viral e antígeno dentro do lúmen epididimal, onde o esperma é armazenado, e dentro das células epiteliais circundantes. 21 dias pós-infecção, os testículos dos camundongos infectados pelo ZIKV estavam significativamente menores, indicando atrofia testicular progressiva. A infecção por ZIKV causou uma redução na testosterona sérica, sugerindo	As descobertas têm importantes implicações para a transmissão vertical do vírus, assim como para possíveis deficiências reprodutivas a longo prazo, em homens infectados pelo ZIKV.

			que a fertilidade masculina pode ser afetada.	
Zika Virus Infection in Dexamethason e-immunosuppressed Mice Demonstrating Disseminated Infection with Multi-organ Involvement Including Orchitis Effectively Treated by Recombinant Type I Interferons	Chan et al/ EBio Medicine 2016	Estudo experimental N = 3 a 8 para 11 grupos controle	O estudo parte de um cenário onde a infecção por ZIKV em pacientes imunossuprimidos resultou em disseminação do vírus ou morte. O estudo desenvolveu um novo modelo com ratos imunossuprimidos por dexametasona. Os resultados sugerem que a deterioração clínica ocorreu durante o desaparecimento viral pela resposta imune do hospedeiro. Os tratamentos com interferon tipo I melhoraram o resultado clínico de camundongos.	Além da disseminação do vírus e da inflamação de vários tecidos, especialmente a orquite, pode haver várias complicações, com implicações significativas na transmissão da doença e na fertilidade masculina. O tratamento com interferon deve ser considerado em pacientes com alto risco de complicações associadas ao ZIKV, quando os benefícios potenciais superam os efeitos colaterais do tratamento.
Zika virus infection damages the testes in mice	Govero et al /Nature 2016	Estudo experimental N = 1 a 4	Foram avaliadas as consequências da infecção por ZIKV no TRM de camundongos. Observou-se a persistência do vírus ZIKV, mas não do vírus da dengue (DENV), nos testículos e epidídimos de camundongos machos, e isso foi associado à lesão tecidual que causou oligospermia e diminuição dos níveis de testosterona e inibina B. ZIKV infectou preferencialmente espermatogônias, espermatócitos primários e células de Sertoli no testículo, resultando na morte celular e destruição dos túbulos seminíferos	Para o autor, estudos longitudinais em seres humanos infectados são imprescindíveis para analisar a função do esperma e o nível de comprometimento em seres humanos.
Sertoli Cells Are Susceptible to ZIKV Infection in Mouse Testis	Sheng et al/ Frontiers in Cellular and Infection Microbiology 2017	Estudo experimental N = 3 a 6	Para a realização do estudo, foram infectados camundongos AG6 deficientes de interferon α/β e γ . Os ratos apresentaram desordens no sistema reprodutor e alta carga viral no semen e testículos. Foram detectados antígenos do ZIKV nas células de Sertoli. A suscetibilidade das células de sertoli também foi validada através de estudos in vitro	Os resultados implicam impacto de longo prazo no sistema reprodutor humano e indicam a importância de monitoramento.

Tabela 4 - Síntese dos estudos realizados em humanos que foram incluídos na revisão sistemática de acordo com as descrições do título, revista, ano de publicação, autores, resultados principais e conclusões.

Título do artigo	Autor/ Revista - Ano	N amostral / Tipo de estudo	Resultados	Conclusões
Effect of acute Zika virus infection on sperm and virus clearance in body fluids: a prospective observational study	Joguet et al/ Lancet 2017	Estudo observacional prospectivo/ N=15	Foi realizado um estudo observacional com 15 homens infectados pelo ZIKV. Foi constatado que alterações do sêmen, logo após a infecção aguda pelo ZIKV, podem afetar a fertilidade e podem ser explicadas pelos efeitos do vírus no testículo e no epidídimo. A alta carga viral no sêmen, juntamente com a presença de vírus replicativo em uma fração de espermatozoides móveis, pode levar à transmissão sexual do vírus e durante à reprodução assistida. O sangue total parece ser a melhor forma de detecção, diagnóstico e acompanhamento de RNA do ZIKV.	Este estudo prospectivo é pioneiro por realizar uma avaliação longitudinal de diferentes amostras (sangue total, soro, urina e sêmen) de homens infectados conjuntamente. Ele analisa o surgimento e a remoção do ZIKV em diferentes partes do corpo. O estudo serve para auxiliar na formação de diagnósticos mais precisos sobre a doença e auxilia a construção de políticas públicas de prevenção à transmissão sexual do vírus. É sugerida a elaboração de novos estudos com grupo-controle (homens não infectados).
Sexual transmission of Zika virus and other flaviviruses: a living systematic review	Counotte et al/ Plos Medicine 2018	Revisão Sistemática	O estudo constatou que a transmissão sexual do ZIKV é muito mais comum entre homens e mulheres do que entre mulheres e homens. Para a transmissão sexual do ZIKV, o intervalo serial mediano - o tempo entre o início dos sintomas em dois parceiros sexuais - é de 12 dias. A duração média da persistência do RNA do ZIKV no sêmen é mais longa (34 dias) do que no trato genital feminino (12 dias). Não se encontrou evidências de transmissão sexual para quaisquer outros flavivírus transmitidos por artrópodes.	O estudo indica que a relação entre a detecção de RNA no sêmen e seu potencial infeccioso precisa ser mais estudada, tanto em laboratório, quanto em estudos epidemiológicos. A disponibilização de mais estudos, irá viabilizar informações mais precisas sobre o risco de transmissão sexual do ZIKV.

5.3 AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS E QUALIDADE METODOLÓGICA DOS ESTUDOS

A avaliação de risco de viés foi realizada por dois revisores independentes. O risco de viés para estudos em animais selecionados foi considerado "acima da média". A Tabela 5 apresenta a avaliação do risco de viés para cada um dos estudos incluídos em animais.

A análise da qualidade metodológica mostrou que há variações no rigor após o uso de SYRICLE - Higgins JP, Altman DG, Gotzsche PC, Juni P, Moher D, Oxman AD, Savovic J, Schulz KF, semanas L, Sterne JA, Cochrane Bias Métodos Group, Cochrane Statistical Methods Group: Ferramenta da Cochrane Collaboration para avaliar o risco de viés em ensaios randomizados (BMJ, 2011, 343: d5928-10.1136 / bmj.d5928); AMSTAR (Shea BJ, Reeves BC, Wells G, Thuku M, Hamel C, Moran J, D Moher, Tugwell P, Welch V, Kristjansson E, Henry DA AMSTAR 2: uma ferramenta de avaliação crítica para revisões sistemáticas que inclui estudos randomizados ou não randomizados de intervenções de saúde, ou ambos (BMJ. 2017 Sep 21; 358: j4008) e NICE (Instituto Nacional do Coração, Pulmão e Sangue; ferramentas de avaliação da qualidade do estudo: Ferramenta de avaliação da qualidade para estudos de séries de casos Bethesda, Instituto Nacional do Coração, Pulmão e Sangue, 2014 [citado em 1 de novembro de 2017]. Disponível em: https://www.nhlbi.nih.gov/health-pro/guidelines/indevelop/cardiovascular/riskreduction/tools/case_series.)

As avaliações foram realizadas, como mostrado nas tabelas a seguir, cujo rigor metodológico variou de média pontuação (05/10) a pontuação alta (10/10).

Tabela 5 - Avaliação da qualidade metodológica para cada um dos estudos em animais incluídos.

Autor	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Score
Shan et al.2017	✓	✓	✓	✓	✗	✓	✗	✗	✓	✓	7/10
Stein et al. 2017	✓	✓	✓	✗	✗	✓	✗	✗	✓	✗	5/10
Xu et al. 2017	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✗	✗	✗	✗	7/10
Sheng et al. 2017	✓	✓	✓	✓	✗	✗	✗	✗	✓	✓	6/10
Siddharthan et al. 2017	✓	✓	✓	✗	✗	✗	✗	✗	✓	✓	5/10
Matusali et al. 2018	✓	✓	✓	✓	✗	✗	✗	✓	✓	✓	7/10
Ma et al. 2016	✓	✓	✓	✓	✗	✗	✗	✗	✓	✓	6/10
Griffin et al. 2017	✓	✓	✓	✓	✗	✗	✗	✗	✓	✓	6/10
Uraki et al. 2017	✓	✓	✓	✗	✗	✗	✗	✓	✓	✓	6/10
Chan et al. 2016	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	10/10

1 = A sequência de alocação foi gerada e aplicada adequadamente?

2 = Os grupos foram semelhantes no início ou foram ajustados para fatores de confusão na análise?

3 = A alocação foi adequadamente ocultada?

4 = Os animais foram alojados aleatoriamente durante o experimento?

5 = Os cuidadores e / ou investigadores foram cegos do conhecimento que intervenção cada animal recebeu durante a experiência?

6 = Os animais foram selecionados aleatoriamente para avaliação do resultado?

7 = O avaliador do resultado foi cego?

8 = Os dados de resultados incompletos foram adequadamente abordados?

9 = Os relatórios do estudo estão livres de relatos de resultados seletivos?

10 = O estudo estava aparentemente livre de outros problemas que poderiam resultar em alto risco de viés?

Tabela 6 - Avaliação da qualidade metodológica para a revisão sistemática realizada em humanos.

Autor	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	Score
Counette et al. 2018	✓	✓	✓	✗	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	10/11

1 = Um projeto anterior foi fornecido?

2 = A seleção de estudos e extração de dados foi realizada por dois revisores independentes?

3 = Foi realizada uma pesquisa bibliográfica abrangente?

4 = O status da publicação foi utilizado como critério de inclusão?

5 = Uma lista de estudos (incluídos e excluídos) foi fornecida?

6 = As características dos estudos incluídos foram fornecidas?

7 = A qualidade científica dos estudos incluídos foi avaliada e documentada?

8 = A qualidade científica dos estudos incluídos foi adequadamente utilizada na formulação das conclusões?

9 = Os métodos usados para combinar os resultados de estudos foram apropriados?

10 = A probabilidade de viés de publicação foi avaliada?

11 = O conflito de interesses foi informado?

Tabela 7 - Avaliação da qualidade metodológica para o estudo de coorte realizado em humanos.

Autor	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Score
Joguet et al. 2017	✓	✓	✓	✓	NR	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✗	✓	✓	12/14

1. A questão de pesquisa ou objetivo deste estudo foi claramente declarada?

2. A população do estudo foi claramente especificada e definida?

3. A taxa de participação de pessoas elegíveis era de pelo menos 50%?

4. Todos os indivíduos foram selecionados ou recrutados da mesma população ou de populações semelhantes (incluindo o mesmo período de tempo)? Os critérios de inclusão e exclusão para o estudo foram pré-especificados e aplicados uniformemente a todos os participantes?

5. Foi fornecida uma justificativa do tamanho da amostra, descrição da potência ou estimativas de variância e efeito?

6. Para as análises deste artigo, a (s) exposição (ões) de interesse foi medida antes do (s) resultado (s) ser (em) medido (s)?
7. O prazo foi suficiente para que se pudesse razoavelmente esperar uma associação entre exposição e resultado, se existisse?
8. Para exposições que podem variar em quantidade ou nível, o estudo examinou diferentes níveis da exposição em relação ao resultado (por exemplo, categorias de exposição ou exposição medida como variável contínua)?
9. As medidas de exposição (variáveis independentes) foram claramente definidas, válidas, confiáveis e implementadas consistentemente em todos os participantes do estudo?
10. A exposição foi avaliada mais de uma vez ao longo do tempo?
11. As medidas de resultado (variáveis dependentes) foram claramente definidas, válidas, confiáveis e implementadas consistentemente em todos os participantes do estudo?
12. Os avaliadores dos resultados foram cegos quanto ao status de exposição dos participantes?
13. A perda de acompanhamento após a linha de base foi de 20% ou menos?
14. As principais variáveis potenciais de confusão foram medidas e ajustadas estatisticamente para seu impacto na relação entre exposição (s) e desfecho (s)?

* NR = Não respondido; descrito.

Ressaltamos que outras revisões não sistemáticas entraram para complementar os resultados apresentados na discussão e pela relevância dos dados apresentados, não sendo possível avaliar sua qualidade uma vez que não há checklist disponível para tal.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram selecionados doze estudos após a aplicação de critérios de inclusão e de exclusão. Dez desses estudos foram experimentais, utilizando-se roedores. Apenas o estudo de Joguet (2017) foi de coorte (prospectivo observacional) analisando os efeitos da infecção em quinze homens. Também foi incluída uma revisão sistemática na análise.

A partir de 2016, surgiram os primeiros estudos realizados em animais, que apontavam para uma possível relação causal entre o vírus da Zika e o comprometimento do sistema reprodutor masculino. Govero et al (2016) constatou a persistência do ZIKV no testículo e epidídimo de camundongos machos infectados com uma linhagem africana adaptada do vírus da Zika. Essa persistência estaria associada à lesão tecidual que causa a diminuição nos níveis de testosterona e inibina B, bem como oligoespermia (secreção insuficiente de esperma). Danos menores foram observados em ratos infectados pela linhagem asiática do vírus. Este foi um estudo longitudinal do tipo quantitativo, com pesquisa aplicada, cujo objetivo foi avaliar a evolução da infecção nos ratos machos durante aproximadamente 40 dias.

Durante o experimento, foram mensurados os níveis dos hormônios testosterona e inibina B, essenciais à espermatogênese, para determinar as consequências funcionais da infecção. No sétimo dia, os níveis de testosterona estavam mais altos. No décimo quarto dia, o nível de testosterona diminuiu e se manteve mais baixo até o vigésimo primeiro dia. Os níveis de inibina B também se mantiveram baixos entre o 14º e 21º dias. Também se observou diminuição na contagem de espermatozoides totais e móveis e danos aos tubos seminíferos. O estudo também realizou o cruzamento de fêmeas em idade reprodutiva com machos infectados e não infectados e os resultados apontaram redução no número de gravidezes e de fetos viáveis das fêmeas que cruzaram com machos infectados. Por fim, a pesquisa conclui que a infecção causou danos aos testículos e epidídimo, podendo progredir para redução de hormônios sexuais, destruição de células somáticas e germinativas, perda de esperma e infertilidade. Para o autor, é preciso que seja identificado em seres humanos o padrão dos danos causados ao trato reprodutivo, a fim de facilitar a realização de novos testes para tratamentos e vacinas para prevenir esta patologia, para isso, estudos longitudinais em seres humanos precisam ser realizados.

O estudo realizado por Ma et al (2016) corrobora algumas das descobertas de Govero. Ele se propõe a demonstrar que o ZIKV pode induzir processos inflamatórios nos testículos e

no epidídimo, mas que não afeta a próstata ou a vesícula seminal, e que o vírus pode gerar danos para os testículos até 60 dias após a infecção nos ratos.

Para verificar o efeito da infecção nos ratos, foi realizada análise histopatológica nos testículos, epidídimo, próstata e vesícula seminal. O estudo foi realizado com grupo controle de ratos não infectados de mesma idade dos ratos infectados (de dois tipos distintos). Não foram identificadas anomalias nos tecidos dos ratos não infectados. No grupo de ratos infectados, observou-se degeneração em células germinativas dos túbulos seminíferos, células de Leydig necróticas, congestão venosa intratesticular, macrófagos e leucócitos (caracterizando processos inflamatórios) em 100% do grupo. Surpreendentemente, não foram identificadas anomalias na próstata e na vesícula seminais deste grupo. Esses resultados se devem ao fato de que foi identificada a presença do ZIKV nos testículos e epidídimo dos ratos infectados, mas não na próstata e vesícula seminal.

Outra interessante análise foi executada: como vem sendo especulado em outros estudos que a proteína AXL funciona como receptora do ZIKV, foi realizada uma análise de tecidos do trato genital de homens e ratos. A proteína AXL foi encontrada em testículos e epidídimos, mas não na próstata e vesícula seminais, de ambos os grupos analisados. O próximo passo foi delimitar que tipos celulares atuam na resposta imune inata à infecção pelo ZIKV nos testículos. Observaram-se altos níveis de produção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias em células epiteliais do epidídimo e células do testículo. Também se realizou uma análise temporal até 60 dias após a infecção e verificaram-se danos irreversíveis: 100% dos ratos apresentaram orquite (inflamação) e atrofia nos testículos, rompimento nos túbulos seminíferos e perda de sua estrutura.

O estudo ainda realiza uma comparação dos danos causados pelo ZIKV e pelo vírus da Dengue (DENV), também um flavivírus. Nos animais infectados pelo ZIKV a inflamação levou a perda morfológica total dos testículos e destruição da estrutura dos túbulos seminíferos 30 dias após a infecção. Já para os ratos infectados pelo DENV, 1 a cada 10 apresentaram atrofia testicular, mas com capacidade de recuperação. Os resultados sugerem um maior tropismo por células testiculares do ZIKV em relação ao DENV. Tal tropismo pode ser explicado pela estrutura compacta do ZIKV que comparado a outros flavivírus possui uma maior estabilidade em fluidos corporais, bem como sua capacidade de induzir a autoimunidade em alguns casos, através de mecanismos ainda desconhecidos (Miner et Diamond, 2017).

Diante das evidências constatadas nos estudos, o Ma e al recomenda que clínicas de fertilização que possuam banco de espermatozoides devam adotar medidas para prevenir novas infecções por inseminação artificial em países endêmicos. Ele também reforça a necessidade de novas pesquisas e de ações imediatas.

Nesse contexto, diante da declaração de Emergência de Saúde Internacional em realizada em fevereiro de 2016 pela Organização Mundial de Saúde (OMS) ficou recomendado que mulheres que moram em áreas de transmissão do vírus da Zika devem adiar suas gravidezes por tempo indeterminado. A resolução 72/2016 da Agência Nacional De Vigilância Sanitária (ANVISA), que dispõe sobre o regulamento técnico para o funcionamento dos Bancos de Células e Tecidos Germinativos, trouxe a exigência da realização do teste de ZIKV para todas as pessoas a realizarem procedimentos de fertilidade (ANVISA, 2016). Essas ações demonstram a preocupação do poder público em conter esta epidemia e combater a proliferação do vírus e suas consequências associadas.

Uraki e colaboradores (2017) realiza um estudo experimental em ratos machos infectados via injeção subcutânea por linhagem não letal do ZIKV. O presente experimento utilizou uma linhagem do vírus que pela primeira vez não resultou em morte para os ratos, o que permitiu analisar os efeitos da infecção por mais tempo. Mesmo após o desaparecimento do vírus no sangue, ele persiste no testículo através das células intersticiais de Leydig, produtoras de testosterona, que apoiam a replicação do vírus. Foram detectados altos níveis de RNA (ácido ribonucleico) e antígenos virais no lúmen do epidídimo, onde o espermatozoide é armazenado, e ao redor de células epiteliais. 21 dias pós a infecção, os testículos dos ratos estavam demasiadamente menores em comparação ao grupo controle, indicando progressiva atrofia testicular. Também se identificou diminuição no nível de testosterona, o que sugere possíveis problemas de infertilidade. Em estudos semelhantes, outros grupos celulares (como espermatogônias, espermatozócitos primários, células de Sertoli etc) do TRM foram afetados pelo vírus, o que reforça para Govero et al (2016) a importância de que mais estudos analisem em detalhes o tropismo molecular e temporal do vírus no trato genital. Mais estudos também poderão apontar a contribuição relativa da resposta imune inata e/ou redução nos níveis de testosterona na atrofia testicular (Miner et Diamond, 2017).

Siddharthan et al (2017) realiza estudo em hamsters tipo STAT2 knock-out, cujos resultados detectaram a presença do vírus nos testículos, rins e baço. O resultado positivo para

o ZIKV surgiu em células com morfologia de espermatogônias e células de Sertoli. O ZIKV foi observado apenas em placentas de hamsters injetados pelo ZIKV, e não em hamsters com injeção simulada.

Diante de tantas evidências que o ZIKV é capaz de infectar e causar danos aos testículos em modelos desenvolvidos em roedores, Sheng et al (2017) desenvolveu um modelo para investigar os impactos do vírus na função espermática e em grupos celulares específicos. Para investigar estas questões, foram infectados camundongos AG6 deficientes de interferon α e γ com ZIKV e foram examinados os resultados da infecção usando uma variedade de técnicas fisiológicas, histopatológicas, imunológicas e virológicas. O estudo concluiu que o testículo é um órgão alvo importante para o ZIKV em camundongos AG6 deficientes para interferon α / β e γ e que as células de Sertoli são suscetíveis ao ZIKV. Além disso, a infecção por ZIKV das células de Sertoli danificou as junções da barreira de sangue dos testículos e a espermatogênese em camundongos. Esses resultados fornecem base biológica para explicar as observações clínicas apresentadas por alguns humanos infectados pelo ZIKV, como hematospermia, disúria e dor perineal.

Chan et al (2016) realizou em outro estudo em ratos imunossuprimidos com dexametasona para avaliar os efeitos da infecção com o ZIKV e posterior tratamento com interferon I recombinante. Interferons são proteínas produzidas por leucócitos que induzem a própria célula infectada e células próximas a produzirem proteínas que impedem a replicação do vírus. O estudo foi motivado pelo fato que pacientes imunossuprimidos (por exemplo, com lúpus ou artrite reumatoide) infectados pelo ZIKV apresentaram quadro de disseminação do vírus em vários órgãos ou morte.

A metodologia utilizada no experimento consistiu em dividir aleatoriamente os ratos em 11 grupos distintos com diferentes níveis do ZIKV, dexametasona e tratamento com interferon. Os ratos foram sacrificados 5 e 14 dias após a infecção e foram analisados parâmetros clínicos, histopatológicos e virológicos de ratos machos e fêmeas infectados e imunossuprimidos comparando-os aos grupos-controle.

Os resultados clínicos do grupo experimental foram mais significativos que do grupo controle, com quadro de perda de peso dos ratos. Os achados, 5 dias após a infecção, apontaram para disseminação do vírus em vários órgãos (sem letalidade) com baixa resposta imune, tendo

em vista a imunossupressão graças a dexametasona. A fim de investigar os efeitos da reconstituição da imunidade, dexametasona foi retirada no grupo experimento 9 dias após a infecção, gerando deterioração e inflamação em diversos órgãos. Os sintomas clínicos apresentados foram respiração acelerada, letargia e pelagem disforme. Após a retirada da dexametasona, foi aplicado o tratamento com interferon que apontou que, o quanto antes iniciado o tratamento, melhores serão os parâmetros clínicos, histológicos e virológicos dos ratos com infecção disseminada. Assim, a conclusão deste novo modelo demonstrou que a inflamação de diversos órgãos é uma das complicações geradas pela infecção pelo ZIKV que deve ser também monitorada em estudos com seres humanos. O autor também sugere a realização de ensaios clínicos para avaliar o uso de interferon no tratamento de pacientes mais passíveis a apresentar complicações severas resultantes da infecção pelo ZIKV.

Depois de analisados os resultados de três experimentos com animais infectados pelo ZIKV é importante entender como o vírus afeta o ser humano. Em *Zika virus: A new threat to human reproduction*, Baud et al (2016) trata do histórico, das formas de transmissão do ZIKV e de como ele afeta o organismo humano. O vírus da Zika se torna único entre os flavivírus por possuir diversas formas de transmissão, o que explica sua rápida expansão e sua grande abrangência territorial. Sua transmissão ocorre predominantemente por vetores, contudo, já foram reportadas transmissões sexuais (de homem para mulher, homem para homem e mulher para homem), pós-transfusão sanguínea e durante a gestação entre a mãe e o feto. Existem outras formas potenciais de transmissão (onde foi detectado RNA viral), como fluidos corporais que precisam ter seu potencial infeccioso investigado por pesquisadores. No entanto, é válido ressaltar que a presença do RNA viral em um específico fluido ou tecido do corpo não implica em potencial infeccioso do vírus.

A infecção pelo ZIKV se manifesta de várias formas. O mais comum é se apresentar como uma infecção com sintomas leves ou até assintomática, entretanto, em pacientes com baixa imunidade ou com doenças crônicas a infecção pode resultar em morte. O estudo ainda aponta que foi reportada hematospérnia (sangue no esperma) em três casos de pacientes infectados pelo ZIKV, e fala das manifestações que vem sendo amplamente estudadas: síndrome de Guillain-Barré e microcefalia. Hoje, diante de relatos de estudos e casos clínicos, já se pode dizer que a ZIKV causa a síndrome congênita do Zika vírus que não se restringe apenas a microcefalia, mas inclui outros sintomas, como crânio e face desproporcionais, disfunções cerebrais e anomalias oculares e auditivas.

O estudo também faz um levantamento do que foi publicado sobre o impacto do ZIKV na fertilidade masculina e feminina. Apesar de constatado no modelo com ratos de Uraki et al, ainda é desconhecido se a presença duradoura do ZIKV no TRM pode gerar efeito nocivo à função sexual ou a reprodução em seres humanos. Em estudo realizado em macacos tipo rhesus, verificou-se que o RNA viral persistiu nos tecidos neuronais, linfóides e articulares / musculares e nos tecidos reprodutores masculinos e femininos até 35 dias após a infecção. O tropismo e a persistência do ZIKV nos nervos periféricos e no trato reprodutivo podem indicar um mecanismo de neuropatogênese e transmissão sexual subsequentes (Hirsch et al, 2017).

É enfatizada a importância de se desvendar qual grupo celular é prioritariamente afetado no SRM, ou seja, quais células são os principais alvos da ZIKV. Com essa informação, pode-se inferir, por exemplo, se o vírus interfere na espermatogênese e, conseqüentemente, na fertilidade. Segundo Miner et Diamond (2017) estudos incluindo humanos já demonstraram que o ZIKV possui tropismo por células neurais, tecidos oculares, trato reprodutivo (esperma e fibroblastos uterinos) e fluidos corporais, como lágrimas, saliva, sêmen, muco cervical e urina.

É essencial também investigar se o vírus pode ser encontrado nos testículos de fetos com Síndrome Congênita do Zika, o que reforçaria o tropismo do vírus pelo trato reprodutor. Vale-se ressaltar que criptorquidia (quando os testículos não nascem dentro da bolsa escrotal), hipospádia (malformação genética na uretra) e micropênis já foram observadas em recém-nascidos infectados pelo ZIKV. Segundo o autor, já foram registradas evidências do ZIKV no muco cervical feminino, podendo indicar também um possível tropismo do vírus pelo trato reprodutor feminino assim como demonstra estudo Prisant et al (2016), onde foi identificada a presença de RNA viral no muco cervical de uma mulher mesmo após seu desaparecimento do sangue e urina. Todos esses achados demandam mais pesquisas e estudos experimentais para que essas evidências sejam investigadas, visto que uma possível atração do ZIKV pelo trato reprodutor de homens e mulheres resulta em significativos impactos para reprodução humana e transmissão do vírus.

Além disso, é realizado um levantamento de todas as recomendações com relação ao adiamento de gravidezes e medidas preventivas até 2016 da OMS e do Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) pra residentes e viajantes em países endêmicos e fala-se do papel importante dos centros de reprodução assistida com relação à potencial transmissão sexual do vírus. Nos Estados Unidos, ainda não há a obrigatoriedade do teste para ZIKV para os doadores

de espermatozoides como já é regulamentado no Brasil. Por fim, diante de tantos questionamentos que seguem em aberto (como, por exemplo, o efeito a longo prazo do vírus para a fertilidade masculina e feminina), o autor recomenda a colaboração internacional nas pesquisas e enfatiza a relevância das notificações e registro sobre a doença.

Acerca de experimentos realizados *in vitro*, foram apontadas evidências muito importantes: as células de Sertoli, que possuem papel importante na espermatogênese, têm elevada quantidade da proteína AXL que é uma forte candidata a funcionar como porta de entrada para o ZIKV. A proteína AXL também é encontrada em células progenitoras neurais, o que reforça o argumento de que a AXL é um provável fator de entrada para o ZIKV. Contudo, modelos desenvolvidos em ratos com deficiência de AXL apresentaram níveis equivalentes do ZIKV no soro, baço, cérebro, testículos e olhos (Govero et al, 2016). Assim, embora alguns estudos sugiram que a AXL funcione como uma importante porta de entrada ao ZIKV, múltiplos estudos *in vivo* e *in vitro* demonstraram que a AXL não é necessária para que tecidos e grupos celulares sejam infectados. Determinar o mecanismo de entrada do vírus servirá como foco para elaboração de terapias e vacinas que bloqueiem os efeitos da infecção (Miner et Diamond, 2017).

Nesse sentido, estudo recente de Strange et al (2018) buscou investigar os efeitos da infecção pelo ZIKV nas células de Sertoli. O autor concluiu que o ZIKV suprimiu as assinaturas associadas ao crescimento e proliferação celular durante o estágio inicial da infecção (12 horas após a infecção), enquanto nos últimos estágios da infecção (de 48 a 72 horas pós-infecção), o ZIKV induziu assinaturas predominantemente associadas à defesa antiviral inata. Assim, o vírus de aproveita da imunossupressão natural das células de Sertoli para demonstrar modulação à resposta antiviral do hospedeiro e caminhos de proliferação celular para estabelecer a infecção.

O estudo de Matusali et al (2018), ao infectar com ZIKV explantes de tecido testicular de doadores saudáveis, demonstrou que o ZIKV replica e produz partículas virais infecciosas em testículos humanos. Evidenciou-se a infecção de uma ampla gama de tipos de células testiculares, incluindo os macrófagos residentes e a linhagem de células germinativas, e foi confirmada sua presença no sêmen dos pacientes. A infecção não teve efeito na produção basal de testosterona e inibina B ou na viabilidade celular total *ex vivo*. O ZIKV desencadeou uma ampla gama de genes antivirais em testículos humanos, mas não se observou regulação positiva

dos IFN tipos I, II e III e a resposta pró-inflamatória foi mínima. Os dados sobre camundongos IFNAR - / - apontam similaridades e diferenças entre os testículos de camundongos e humanos para a infecção por ZIKV.

Counotte et al (2018) realiza uma revisão sistemática que fornece uma síntese atualizada de informações sobre a transmissão sexual do ZIKV com uma estrutura sistematizada. Levando em consideração os dados disponíveis sobre a duração da detecção do ZIKV em cultura e de intervalo serial, os achados sugerem que o período infeccioso para a transmissão sexual do ZIKV é mais curto do que as estimativas dos primeiros estudos pós-surto, baseadas apenas em RT –PCR. O estudo também conclui que a duração média da persistência do RNA do ZIKV no sêmen é mais longa (34 dias) do que no trato genital feminino (12 dias), por isso a transmissão sexual é mais provável de homem para mulher do que de mulher para homem. Não foram encontradas evidências de transmissão sexual para quaisquer outros flavivírus transmitidos por artrópodes.

Kwak-kim (2016) et al realiza uma revisão de literatura para os profissionais de saúde que trabalham com pacientes que planejam engravidar ou que passam por tratamento de fertilidade. A revisão aborda a prevenção à transmissão sexual do ZIVK, os testes disponíveis para o ZIKV e o uso de tecidos e sangue. Esta revisão tem como base os casos reportados nos Estados Unidos, geralmente infecções transmitidas por viajantes, e as recomendações do Centro de Controle e Prevenção de Doenças (órgão americano).

Destaca-se as principais rotas de infecção do vírus. Seu principal vetor, o *Aedes aegypti*, é uma espécie invasiva de mosquito, predominante no hemisfério oeste, que se adapta bem a ambientes urbanos densamente povoados. À medida que a população de mosquitos infectados cresce em determinada região, cresce exponencialmente o número de pessoas infectadas neste local. Outra forma de infecção destacada no texto é entre o homem e seu parceiro sexual, podendo ocorrer antes, durante e após o surgimento dos sintomas. Inclusive casos de transmissão assintomática já foram reportados. Os dados apresentados confirmam as estatísticas de outros estudos: o vírus persiste mais tempo no sêmen do que no sangue, já tendo sido encontrado RNA viral no sêmen cerca de seis meses depois de contraída a infecção. Diante das possibilidades de transmissão sexual e via transfusão sanguínea, aumenta-se a preocupação com relação aos tratamentos para reprodução assistida, como inseminação intrauterina, programa de doação de óvulos e adoção de embrião.

São apresentadas as principais orientações constantes nos guias da OMS e CDC com relação à prevenção do vírus e ao aconselhamento aos casais que desejam ter filhos. Destaca-se que a OMS recomenda seis meses de sexo seguro (com uso de preservativo) para homens e mulheres retornando de áreas com surto do vírus, independentemente à apresentação de sintomas. Portanto, o aconselhamento é essencial para lidar com os desafios em confiar nos resultados dos testes, riscos de infecções subsequentes, bem como com a possibilidade que o feto apresente os efeitos do vírus mesmo quando a gravidez ocorre após um resultado negativo para o ZIKV.

Com relação à transferência biológica de tecidos ou doação de gametas, o teste para ZIKV é de extrema importância. Procedimentos de preparação do esperma que demonstraram reduzir o risco de transmissão para HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana) ainda não mostraram ser eficientes para prevenir a transmissão do ZIKV. Tão pouco a criopreservação (processo onde células ou tecidos biológicos são preservados através do congelamento a temperaturas muito baixas) mostrou ser incapaz de destruir o ZIKV. Nos Estados Unidos, são estabelecidos critérios objetivos de inexigibilidade para doadores de gametas e embriões no que tange à infecção pelo ZIKV, assim como é estabelecido pela ANVISA no Brasil. Com relação a tratamentos com plasma, por ser um vírus de tamanho intermediário e envolvido por gordura, sua remoção torna-se mais fácil em processos como fracionamento e pasteurização. Esses métodos poderão ser eficientes contra o ZIKV de acordo com a PPTA (Associação Terapêutica de Proteínas Plasmáticas). A autora conclui que há experimentos em andamento para elaboração de vacinas contra a infecção, mas até lá os estudos sobre o potencial infeccioso do vírus devem ser prioridade.

Joguet e colaboradores (2017) realizou um estudo prospectivo e observacional em quinze homens (voluntários com média de 35 anos de idade) com infecção aguda pelo ZIKV na Polinésia Francesa, onde ocorreu o surto, entre abril e novembro de 2016. O objetivo do estudo foi coletar sangue, urina e sêmen e monitorar seus parâmetros nos dias 7, 11, 20, 30, 60, 90 e 120 após o surgimento dos sintomas. Com isso, pretendeu-se identificar o vírus no sêmen e em seus componentes (plasma, células do sêmen e espermatozoides) e determinar suas características, bem como as concentrações de hormônios reprodutivos, logo após a infecção nos homens. Quando o presente estudo foi realizado, havia poucas evidências e nenhum estudo prospectivo em humanos acerca da presença do ZIKV no sêmen e em seus componentes, o que denota o pioneirismo e importância da pesquisa.

Os resultados apresentados pelo experimento detectaram a presença de vírus capazes de replicação em espermatozoides isolados e que o sangue total foi o fluido com mais resultados positivos para o RNA viral, sendo a amostra mais sensível para o diagnóstico molecular do vírus. A contagem total de esperma e de espermatozoides móveis caiu significativamente no dia 60 comparando-se ao dia 7. As menores taxas de contagem total de esperma ocorreram no dia 30, com recuperação identificada a partir do dia 90. Logo após a infecção, os níveis de hormônio folículo-estimulante (FSH) subiram e os níveis de inibida B (hormônio produzido pelas células de Sertoli, cuja função principal é a inibição da produção de FSH pela hipófise) caíram, podendo indicar algum efeito direto ou indireto na função das células de Sertoli. Todos os pacientes infectados desenvolveram resposta imune contra o ZIKV, visto que foram identificados anticorpos IgM nos dias 7 e 20. Amostras de soro e urina testaram positivo para RNA viral em todos os pacientes no dia 7, caindo bastante até o dia 30, com maior incidência no soro do que na urina.

A presença do ZIKV no sêmen apresentou padrões distintos, que podem ser explicados por diversos fatores: diferenças na carga viral e na capacidade de replicação nos diferentes órgãos e células genitais, diferenças no sistema de imunidade inato e adaptativo do infectado, além da diferença no tropismo da linhagem do vírus. Os resultados comprovaram que a carga viral seminal pode ser muito maior que a carga viral no sangue e urina. O local exato de replicação do vírus no sêmen ainda é desconhecido nos homens. O fato de que um homem com vasectomia apresentou carga viral no sêmen sugere que órgãos que estejam distantes do testículo podem contribuir com a replicação viral.

É interessante apresentar a figura abaixo que mostra a frequência identificada do RNA viral nos diferentes fluidos analisados ao longo de quatro meses após o surgimento dos sintomas.

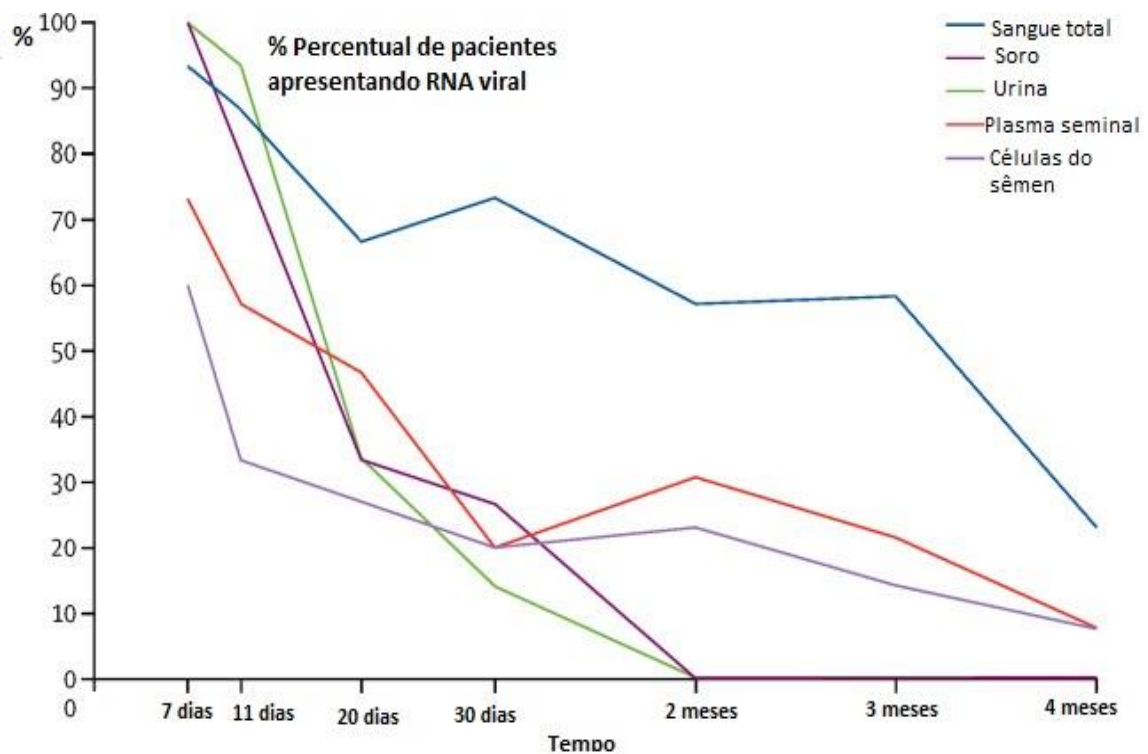


Figura 7. Frequência de detecção do RNA viral do Zika vírus em diferentes fluidos de acordo com pontos de tempo após o surgimento dos sintomas em 15 pacientes infectados. FONTE: JOGUET et al., 2017.

Percebe-se que o RNA viral no soro e urina foram os primeiros a desaparecer do organismo, que ocorreu dois meses após a infecção. O plasma seminal e as células do sêmen mantiveram o mesmo padrão: cerca de 10% dos infectados ainda apresentavam o RNA viral até quatro meses após a infecção. Já no sangue total, cerca de 25% ainda apresentavam o RNA viral quatro meses após o surgimento dos sintomas.

Os resultados apresentados mostram que a infecção pelo ZIKV pode ser responsável diretamente por alterações apresentadas no esperma, afetando consequentemente a fertilidade nos homens. Contudo, mais estudos com um número maior de participantes são necessários para confirmar esses resultados. De maneira geral, as evidências alcançadas têm grande valia para políticas públicas de saúde, uma vez que contribuíram para a identificação mais eficiente do diagnóstico do vírus, bem como somam conhecimento para a construção de medidas preventivas à transmissão sexual do ZIKV.

Griffin et al (2017) realiza mais um estudo em ratos com o objetivo de avaliar a eficácia de uma vacina de DNA. O experimento apontou que a administração de uma vacina sintética

de DNA que codifica a pré-membrana e envelope (prME) do ZIKV é capaz de proteger completamente os ratos infectados por linhagem contemporânea do vírus contra os danos causados pelo aos testículos e esperma, e previne a persistência do vírus nos testículos.

O estudo contou com grupos-controle de ratos não infectados e de ratos infectados e não vacinados, onde cerca de 40% dos ratos morreram oito dias após a infecção; também foram identificadas perda de peso, diminuição no tamanho do testículo, manifestações neurológicas e alta carga viral foi detectada nos testículos entre os dias 7 e 21 após a infecção. A arquitetura normal dos túbulos seminíferos praticamente inexistia 21 dias pós-infecção, sendo substituída por tecido fibroso e células inflamatórias, como linfócitos e macrófagos. Houve uma redução significativa nos parâmetros de do esperma (por exemplo, queda da contagem total de esperma) de ratos infectados e não vacinados, comparando-se aos não infectados.

Uma vez aplicadas duas doses da vacina prMe de DNA, comparando-se aos grupos-controle de ratos não vacinados e ratos com vacina falsa, observou-se que, contradizendo resultados dos grupos-controle, os ratos vacinados não apresentaram sinais de morbididades ou mortalidade, bem como não foi detectada presença do ZIKV nos testículos desses ratos e o lúmen do epidídimo desses ratos permaneceu praticamente intacto. Além de proteger de danos contra os testículos, a vacina também se mostrou eficiente na proteção do esperma: As células do esperma de ratos com infecção falsa e dos vacinados foi toda negativa para o antígeno viral. A vacina protegeu completamente contra a redução na contagem total de esperma e de espermatozoides móveis e progressivamente móveis. 77 dias pós-infecção, os parâmetros dos ratos não vacinados e com vacina falsa ainda não tinham retornado aos parâmetros iniciais, enquanto os parâmetros dos ratos vacinados permaneciam normais.

A realização do presente estudo é de grande importância científica visto que foram utilizados vários grupos-controle e que a descoberta da eficiência da vacina em ratos abre precedentes para que futuros estudos realizem testes em humanos. Atualmente, apesar de já comprovada a persistência do ZIKV no TRM, os efeitos danosos para o esperma e a fertilidade humana ainda não foram comprovados. Novas pesquisas em humanos com essa abordagem são imprescindíveis para identificar a fisiopatologia do vírus em humanos e a utilidade dos modelos que já foram aplicados em ratos. Griffin et al ainda afirma que a transmissão sexual já foi comprovada em humanos e sugere a realização de estudos em ratos para avaliar possibilidades de tratamentos e vacinas para prevenir esse tipo de infecção.

Shan et al (2018) desenvolve estudo para avaliar a eficácia de uma vacina com base no próprio ZIKV atenuado em camundongos e macacos reshus. Os resultados demonstraram que a vacina protege órgãos maternos em camundongos contra a infecção, previne a transmissão do vírus para o feto durante os primeiros estágios da gravidez e limita a replicação viral nos fetos. Em camundongos machos, a protege os testículos e o trato reprodutor da infecção pelo ZIKV. Nos macacos tipo reshus, uma única imunização provocou uma resposta de anticorpos rápida e robusta, conferindo completa proteção.

O estudo de Stein et al (2017) avalia o tratamento com anticorpos policlonais humanos produzidos em bovinos transgênicos em ratos. O tratamento foi capaz de proteger ratos dos danos teciduais do cérebro, testículos, baço e fígado. Também não foi encontrado vírus com potencial infeccioso nesses tecidos, o que faz dessa vacina uma alternativa terapêutica promissora para combater o ZIKV. Uma vacina com base em adenovírus recombinantes do chimpanzé tipo 7 (AdC7) expressando glicoproteínas ZIKV M/E desenvolvida em estudo de Xu et al (2017) também surge como potencial candidata no combate ao ZIKV. Uma inoculação de dose única de AdC7-M / E conferiu imunidade aos ratos para eliminar a viremia e a carga viral do ZIKV nos tecidos. A vacina protegeu os ratos completamente contra danos testiculares induzidos pelo ZIKV.

O estudo mais recente *Zika Virus in the Male Reproductive Tract* de Stassen et al (2018) resume todo conhecimento atual acerca da patologia do ZIKV no trato reprodutor masculino, trata dos modelos já apresentados em animais para estudar a presença da infecção neste local e apresenta as perspectivas de novas vacinas e tratamentos que combatam a persistência do vírus.

São apresentados o histórico do surgimento e as principais características do vírus, com alguns dados relevantes: Até o momento, 84 países já foram afetados pelo ZIKV, com cerca de um milhão de casos e pelo menos 23 países já reportaram casos da Síndrome de Guillain-Barré (OMS, 2017). O estudo ainda trata especificamente da reprodução sexual do vírus e alerta para os achados que confirmam a persistência de alta carga viral no sêmen e no espermatozoide. A capacidade de infecção e longevidade do vírus no ZIKV no sêmen pode variar, o que diverge quando comparado aos fluidos vaginais, indicando que a replicação viral ocorre predominantemente nos órgãos genitais e células do TRM.

O autor traz uma seção onde ele explica o mecanismo de funcionamento do trato reprodutor masculino e porque ele representa uma área com privilégio imunológico. Basicamente, os espermatozoides em desenvolvimento são protegidos do ataque autoimune através da barreira de sangue dos testículos, formada pela junção de células de Sertoli que previnem a entrada de imunoglobulina no lúmen. Os espermatozoides dentro dos testículos e regiões do epidídimo ficam isolados do sistema imune adaptativo que previnem a formação de linfócitos e anticorpos anti-espermatozoides. A possível destruição de células ligadas a espermatogênese, como células de Sertoli e células de Leydig, através da infecção pelo ZIKV e perda do privilégio autoimune, pode gerar um ataque autoimune ao espermatozoide e desenvolvimento de anticorpos, comprometendo, assim, a fertilidade. Esse processo está ilustrado na figura 9.

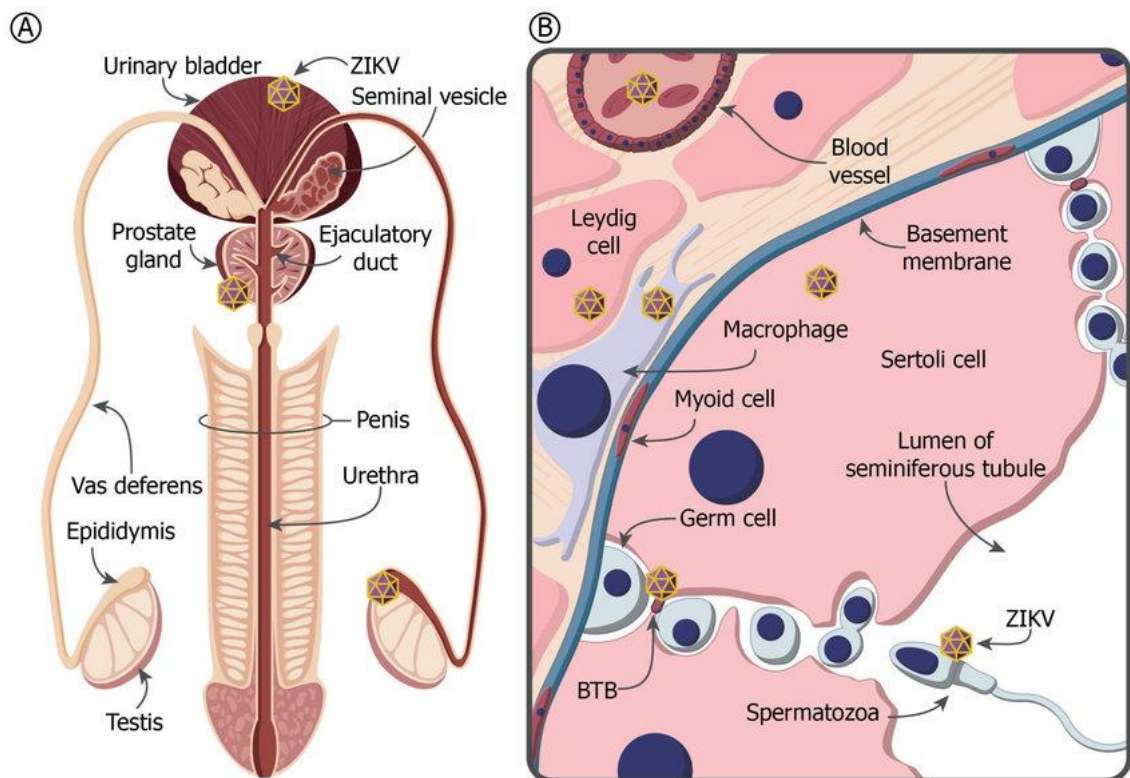


Figura 8. (A) Sistema reprodutor masculino e potenciais reservatórios para o ZIKV. (B) Corte de uma porção dos túbulos seminíferos dentro dos testículos. FONTE: STASSEN et al., 2018.

Prostatite (inflamação da próstata) e hematospermia já foram identificadas em pacientes infectados com ZIKV, além da presença de leucócitos no sêmen, que é sugestivo de inflamação no TRM. O ZIKV pode estar violando a barreira de sangue dos testículos, rompendo o privilégio imune dos testículos e se replicando neste local. Também foram reportados casos de

baixa contagem de esperma, indicando que o vírus pode estar prejudicando sua produção. Os receptores utilizados como porta de entrada do vírus no TRM ainda precisam ser investigados, porém, a AXL é uma forte candidata. A presença do vírus no sêmen também pode ser explicada pela replicação viral nas glândulas acessórias, como a próstata. A transmissão sexual do ZIKV de um homem com vasectomia (método contraceptivo através da ligadura dos canais deferentes no homem) é um forte indício de que próstata e vesículas seminais funcionam como potenciais reservatórios do vírus.

Stassen et al também resumiu os achados apresentados por modelos desenvolvidos em ratos e constantes no presente trabalho. Os modelos de transmissão sexual indicaram a presença do vírus em aproximadamente 65% das ejaculações, enquanto a transmissão sexual entre macho e fêmea ocorreu em 50% dos casos. Um estudo com rato vasectomizado mostrou que é possível a transmissão sexual do vírus, no entanto, o nível do ZIKV presente no sêmen é bem mais baixo. De maneira geral, todos os estudos detectaram a presença do ZIKV nos testículos e epidídimo dos animais no experimento. O vírus também foi encontrado dentro do lúmen dos vasos deferentes e das vesículas seminais de alguns animais infectados. A presença do vírus na próstata apresentou contradição entre alguns estudos realizados. As diferenças nos resultados dos experimentos com ratos podem ser explicadas pelo uso de distintas linhagens do vírus, idades dos animais, dose do vírus e rota de inoculação, entre outros. De maneira geral, comparando-se os resultados com os apresentados em humanos, se percebe que os danos para os ratos são mais severos e a espermatogênese bem mais comprometida.

Também são apresentados os resultados de estudos com macacos dos tipos rhesus, cynomolgus e cauda de porco, que não constam na presente discussão. A escolha desses primatas se justifica por uma semelhança maior com características humanas, como sintomas clínicos e padrão de resposta imune. Disseminação do vírus em vários tecidos foi observada, incluindo o trato urogenital e secreções de mucosas. A presença do ZIKV também persistiu nos testículos, sêmen, células de Sertoli, vesícula seminal e próstata. Supreendentemente, o vírus também foi detectado nos rins, bexiga e urina. Os impactos do ZIKV são menos danosos nos modelos com macacos do que em modelos com ratos.

Com relação à disponibilidade de vacinas e tratamentos contra o ZIKV, o antibiótico azitromicina mostrou reduzir a proliferação do vírus e teve efeitos in vitro em alguns grupos celulares, incluindo as células de Sertoli. Anticorpos humanos contra o vírus da dengue

mostram-se eficazes no combate à infecção com ZIKV, contudo, o tratamento só surtiu efeitos desejados até três dias após a infecção. Outros modelos de vacinas com base em DNA também se mostraram eficazes, mas ainda não foram desenvolvidas vacinas de efeitos comprovados.

Todos os estudos apresentados nesta discussão parecem convergir para o fato que mais estudos epidemiológicos de longo prazo e estudos prospectivos em homens infectados precisam ser realizados visando responder questionamentos que seguem em aberto acerca da correlação entre o ZIKV e o TRM: Quais os mecanismos celulares e moleculares que garantem a persistência do vírus no TRM? Qual a origem do vírus no sêmen? Qual o receptor de entrada do vírus no TRM? Que fatores influenciam o potencial infeccioso do vírus do ZIKV e sua longevidade no sêmen? Só depois de esclarecidos esses questionamentos poderá se afirmar com clareza se o vírus resulta em infertilidade masculina, bem como desenvolver vacinas e tratamentos eficazes contra este vírus que resulta em diversos efeitos danosos para os seres humanos.

Os resultados do nosso estudo mostraram que ainda não se pode afirmar que a infecção pelo ZIKV em homens resulta em comprometimento do sistema reprodutor, tampouco infertilidade. Contudo, estudos realizados em seres humanos e em animais apontam que há fortes indícios desse possível comprometimento, visto que ficou comprovado que o RNA viral pode ser encontrado no sêmen humano por vários meses após contraída a infecção.

7 CONCLUSÃO

Apesar dos avanços terapêuticos na busca por uma vacina e tratamentos eficientes contra o vírus da Zika, a infecção representa uma doença cujo principal tratamento é a prevenção, tanto para evitar o contágio, quanto para evitar sua transmissão também que pode ocorrer sexualmente.

Estudos experimentais em roedores demonstraram que há diversas vacinas (por exemplo, vacina com base em DNA, vacina com anticorpos policlonais humanos, vacina em adenovírus recombinantes do chimpanzé tipo 7 e vacina com o próprio ZIKV atenuado) em desenvolvimento que se mostraram muito efetivas para inibir a infecção em animais e prevenir danos associados ao trato reprodutor. Os autores sugerem que seja viabilizada investigação sobre a eficácia na aplicação dessas vacinas em seres humanos.

Os resultados da presente revisão sistemática mostraram que o RNA do ZIKV pode ser detectado no sêmen dos homens por até 188 dias após o surgimento dos sintomas, contudo, a essa presença no sêmen não necessariamente reflete infectividade (potencial de gerar infecção) ou resulta em infertilidade nos homens. Foi detectado que a transmissão sexual do vírus pode ocorrer, mesmo após o desaparecimento dos sintomas, devido a sua persistência no sêmen humano (já foi documentado caso de transmissão ocorrido 44 dias após o surgimento dos sintomas). Os estudos também mostraram o comprometimento de órgãos do sistema reprodutor em animais machos, contudo, não foram encontrados estudos em humanos que comprovassem a deterioração de parte do sistema reprodutor e seus efeitos na função reprodutiva. Alguns estudos reportaram que pacientes com ZIKV apresentaram quadro de prostatite (inflamação na próstata), hematoespermia (sangue no esperma) e a presença de leucócitos no sêmen, indicando processo inflamatório no TRM.

A persistência do RNA do ZIKV no sêmen é mais longa (34 dias em média) do que no trato genital feminino (12 dias em média), isso justifica a transmissão sexual do vírus ser mais comum do homem para a mulher. Não foram encontradas evidências de transmissão sexual para quaisquer outros flavivírus transmitidos por artrópodes. Usando a infecção ex vivo de culturas organotípicas, estudos demonstraram que o ZIKV se replica no tecido testicular humano e

infecta uma ampla gama de células, incluindo células germinativas, identificadas no sêmen de doadores infectados pelo ZIKV.

Considera-se que mais pesquisas observacionais e prospectivas em seres humanos devem ser realizadas para detectar os mecanismos de adaptação, replicação e persistência do vírus no TRM, o comprometimento de cada órgão do sistema reprodutor masculino após infecção pelo ZIKV, como também estudos que visem mensurar a fertilidade de homens após detectada a doença, comparando, por exemplo, os níveis de produção de esperma em pacientes infectados com pacientes não infectados pelo vírus.

REFERÊNCIAS

- Aiken ARA, Scott JG, Gomperts R, et al. Requests for abortion in Latin America related to concern about Zika virus exposure. *N Engl J Med* 2016. doi:10.1056/NEJMc1605389.
- Barzon L, Lavezzo E, Palù G. Zika virus infection in semen: effect on human reproduction. *Lancet Infect Dis*. 2017 Nov; 17(11):1107-1109. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30495-4.
- Baud D, Musso D, Vouga M, Alves MP, Vulliemoz N. Zika Virus: a new threat to human reproduction. *Am J Reprod Immunol*. 2017; 77:e12614. doi:10.1111/aji.12614.
- Borges E, et al. Zika virus outbreak- should assisted reproduction patients avoid pregnancy? *JBRA Assisted Reproduction*, 2017; 21: 208-211.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Diretrizes metodológicas: elaboração de revisão e metanálise de estudos observacionais comparativos sobre fatores de risco e prognóstico, 2014
- Calvet GA, Kara EO, Giozza SP, Bôtto-Menezes CHA, Gaillard P, de Oliveira Franca RF, de Lacerda MVG, da Costa Castilho M, Brasil P, de Sequeira PC, de Mello MB, Bermudez XPD, Modjarrad K, Meurant R, Landoulsi S, Benzaken AS, de Filippis AMB, Broutet NJN; ZIKABRA Study Team. Study on the persistence of Zika virus (ZIKV) in body fluids of patients with ZIKV infection in Brazil. *BMC Infect Dis*. 2018 Jan 22; 18(1):49. doi: 10.1186/s12879-018-2965-4
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Zika virus. 2017. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/zika/index.html>>. Acesso em 22/05/2018.
- Chan JF-W, Zhang AJ, Chan CC-S, et al. Zika Virus Infection in Dexamethasone-immunosuppressed Mice Demonstrating Disseminated Infection with Multi-organ Involvement Including Orchitis Effectively Treated by Recombinant Type I Interferons. *EBioMedicine*. 2016;14:112-122. doi:10.1016/j.ebiom.2016.11.017.
- Counotte MJ, Kim CR, Wang J, Bernstein K, Deal CD, et al. Sexual transmission of Zika virus and other flaviviruses: A living systematic review. *PLOS Medicine*. 2018. 15(7): e1002611. doi:10.1371/journal.pmed.1002611
- Falavigna, M. Cochrane ACROBAT-NRSI: avaliando a qualidade de estudos observacionais, 2018.

Freitas P, et al. O surto de Zika vírus: produção científica após Declaração de Emergência Nacional em Saúde Pública. *Archives of Health Investigation*. 2018. doi: 10.21270/archi.v7i1.2285.

Govero J, Esakky P, Scheaffer SM, Fernandez E, Drury A, Platt DJ, Gorman MJ, Richner JM, Caine EA, Salazar V, Moley KH, Diamond MS. Zika virus infection damages testes in mice. *Nature*. 2016 December 15; 540 (7633): 438-442. doi: 10.1038/nature20556.

Griffin, B. D, et al. DNA vaccination protects mice against Zika vírus-induced damage to the testes. *Nat. Commun*. 2017. doi: 10.1038/ncomms15743.

Hirsch AJ, Smith JL, Haese NN, Broeckel RM, Parkins CJ, Kreklywich C, et al. Zika Virus infection of rhesus macaques leads to viral persistence in multiple tissues. *PLoS Pathog*. 2017. 13(3): e1006219. doi: 10.1371/journal.ppat.1006219

Joguet G, Mansuy JM, Matusali G, Hamdi S, Walschaerts M, Pavili L, Guyomard S, Prisant N, Lamarre P, Dejucq-Rainsford N, Pasquier C, Bujan L. Effect of acute Zika virus infection on sperm and virus clearance in body fluids: a prospective observational study. *Lancet Infect Dis*. 2017 Nov; 17(11):1200-1208. doi: 10.1016/S1473-3099(17)30444-9.

Khan KS, Kunz R, Kleijnen J, Antes G. Five steps to conducting a systematic review. *Journal of the Royal Society of Medicine*. 2003; 96: 118-121.

Kim CR, Counotte M, Bernstein K, Deal C, Mayaud P, Low N, Broutet N; Sexual Transmission of Zika virus Expert Meeting participants. Investigating the sexual transmission of Zika virus. *Lancet Glob Health*. 2018 Jan;6(1):e24-e25. doi: 10.1016/S2214-109X(17)30419-9.

Kwak-Kim J, Song J, Kim MW-i, Gilman-Sachs A. Zika vírus infection and biological treatment for reproductive medicine. *Am J Reprod Immunol*. doi: 10.1111/aji.12606.

Ma W, et al. Zika Virus Causes Testis Damage and Leads to Male Infertility in Mice. *Cell*. 2016 Dec 1;167(6):1511-1524.e10. doi: 10.1016/j.cell.2016.11.016.

Matusali G. et al. Zika virus infects human testicular tissue and germ cells. *The Journal of Clinical Investigations*. 2018. doi: 10.1172/JCI121735

Miner JJ, Diamond MS. Zika virus pathogenesis and tissue tropism. *Cell host & microbe*. 2017;21(2):134-142. doi: 10.1016/j.chom.2017.01.004.

Ministério da Saúde do Brasil. Vírus Zika. Resposta do Ministério da Saúde. 2016. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/virus_zika_brasil_resposta_sus.pdf>. Acesso em 23/05/2018.

Moreira J, Peixoto TM, Siqueira AM, Lamas CC. Sexually acquired Zika virus: a systematic review. *Clin Microbiol Infect*. 2017 May; 23(5):296-305. doi: 10.1016/j.cmi.2016.12.027

Musso D, Richard V, Teissier A, Stone M, Lanteri MC, Latoni G, Alsina J, Reik R, Busch MP; Recipient Epidemiology and Donor Evaluation Study (REDS-III) ZIKV Study Group. Detection of Zika virus RNA in semen of asymptomatic blood donors. *Clin Microbiol Infect*. 2017 Dec; 23(12):1001.e1-1001.e3. doi: 10.1016/j.cmi.2017.07.006

Nedel, W. L.; Silveira, F. Os diferentes delineamentos de pesquisa e suas particularidades na terapia intensiva, 2016.

Paz-Bailey G, Rosenberg ES, Doyle K, Munoz-Jordan J, Santiago GA, Klein L, Perez-Padilla J, Medina FA, Waterman SH, Gubern CG, Alvarado LI, Sharp TM. Persistence of Zika Virus in Body Fluids - Preliminary Report. *N Engl J Med*. 2017 Feb 14. doi: 10.1056/NEJMoa1613108.

Public Health England (PHE). Zika virus infection: guidance for primary health care. Disponível em: <https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/635931/Zika_virus_guidance_for_primary_care.pdf>. Acesso em 10/06/2018.

Rosenblatt C, Delegado Filho MA, Delegado DR, Delegado FR. Infertilidade masculina: novos conceitos. *Prát Hosp*. 2010; 7(71):85-92.

Shan, C. et al. A single-dose live-attenuated vaccine prevents Zika virus pregnancy transmission and testis damage. *Nature Communications*. 676 (2017). doi:10.1038/s41467-017-00737-8

Sheng, Z., Gao, N., Wang, Z., Cui, X., Zhou, D., Fan, D., Chen, H., Wang, P., et An, J. Sertoli Cells Are Susceptible to ZIKV Infection in Mouse Testis. *Frontiers in Cell. Infect. Microbiol*. 2017.

Siddharthan V, Van Wettere AJ, Li R, Miao J, Wang Z, Morrey JD, Julander JG. Zika virus infection of adult and fetal STAT2 knock-out hamsters. *Virology* 507 (2017):89-95.

Stassen L.; Armitage C.W.; van der Heide, D.J.; Beagley, K.W.; Frentiu, F.D. Zika Virus in the Male Reproductive Tract. *Viruses* 2018, 10, 198. doi: 10.3390/v10040198.

Stein, D.R.; Golden, J.W.; Griffin, B.D.; Warner, B.M.; Ranadheera, C.; Scharikow, L.; Sloan, A.; Frost, K.L.; Kobasa, D.; Booth, S.A. Human polyclonal antibodies produced in transchromosomal cattle prevent lethal Zika virus infection and testicular atrophy in mice. *Antivir. Res.* 2017, 146, 164–173.

Strange, D. et al. Immunoprofiles of human Sertoli cells infected with Zika virus reveals unique insights into host-pathogen crosstalk. *Scientific Reports*. (2018) 8:8702. doi: 10.1038/s41598-018-27027-7

Uraki R, Hwang J, Jurado KA, et al. Zika virus causes testicular atrophy. *Science Advances*. 2017; 3(2):e1602899. doi:10.1126/sciadv.1602899.

Vélez A; Diniz S. Inequality, Zika epidemics and the lack of reproductive rights in Latin America. *Reproductive Health Matters*. 2016, 24:48, 57-61. doi: 10.1016/j.rhm.2016.11.008.

Walker D. Animated architecture (Architectural design profile). Estados Unidos: St. Martin's Press: v.52, p.10, 1982.

World Health Organization (WHO). Zika virus. 2018. Disponível em: < <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/zika-virus>>. Acesso em 28/06/2018.

Xu K, Song Y, Dai L, et al. Recombinant chimpanzee adenovirus vaccine AdC7-M/E protects against Zika virus infection and testis damage. *Journal of Virology*. 2018; 92: doi: 10.1128/JVI.01722-17.